



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO AGROTÓXICO
PERMETRINA ATRAVÉS DE ENSAIOS DE TOXICIDADE
COM INVERTEBRADOS AQUÁTICOS**

ANGELICA MEGDA DA SILVA

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Materiais.

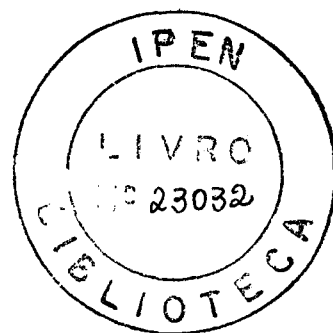
Orientadora:
Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel

**São Paulo
2005**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO AGROTÓXICO PERMETRINA ATRAVÉS
DE ENSAIOS DE TOXICIDADE COM INVERTEBRADOS AQUÁTICOS.**

ANGELICA MEGDA DA SILVA



São Paulo
2005

*Dedico esse trabalho a minha avó
Lourdes Aires Aguirre da Silva (in
memorian), a Bia e a Letícia.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada.

À minha querida orientadora, Dra. Maria Beatriz, pela orientação, amizade, carinho, preocupação... não há palavras para expressar minha gratidão a esta oportunidade.

Ao Prof. Dr. Abílio L. Oliveira Neto, por me apresentar a Ecotoxicologia.

Ao Dr. Pierre Morel, pela ajuda, preocupação e apoio.

A Regina Sawadi, por todo o apoio, ajuda e incentivo.

A Dra. Marycel, pelo amparo e pelas análises de granulometria e teor de metais do sedimento.

A Dra. Maria Aparecida Faustino Pires pelo amparo e oportunidade.

Ao Prof. Dr. Jorge Vaz, pela disposição, ensinamentos e paciência.

Ao Prof. Dr. A. A. Mozeto, pelo auxílio e apoio.

Ao Dr. Flávio Leite e ao Laboratório de Análises Químicas, T&E.

Ao meu Tio Geraldo, pelo apoio e incentivo a minha carreira, desde o início.

Ao pessoal do Centro de Química e Meio Ambiente – CQMA, pela ajuda, apoio e descontração: Maria Nogueira, Cidinha, Hélio, Elias, Jorge e Cleide.

A Patricia, pelas baladas e apoio nos momentos difíceis.

A Vanessa, pela ajuda incondicional.

A minha prima Fátima, pelos momentos de descontração com a Leticia, pelo carinho, amizade e amor, sem palavras.

Ao Bruno, que me proporcionou bons momentos na reta final desse trabalho.

Ao Luiz Botelho Pires, pelo amigo inseparável que foi.

A Carla Capoleti, por me agüentar *todos os dias*, dividir as horas de angústia, ansiedade e alegria, pelo estímulo, apoio, amizade e sua companhia.

A FAPESP, pelo apoio.

Espero poder contar com todos na próxima etapa que se inicia.

*“Tudo o que sabemos hoje, aprendemos com os acertos
e erros do passado, e cada vez que desistimos
de alguma coisa por medo de errar estamos nos
privando da possibilidade de descobrir e aprender.”*

HAMMED

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de conhecer a toxicidade do agrotóxico permetrina para organismos aquáticos através de ensaios de toxicidade agudos com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) e *Chironomus xanthus* (Díptera) e com sedimento enriquecido - “*spiked sediment*”. Com o objetivo de conhecer a biologia de *C. xanthus*, uma das espécies mais importantes para avaliação da toxicidade em sedimentos, sob condições ótimas de cultivo para, num segundo momento, realizar os testes de toxicidade, parâmetros biológicos foram investigados a 24°C. A partir da determinação das faixas de sensibilidade para Cloreto de Sódio e Dicromato de Potássio foram estabelecidas cartas-controle para avaliar a qualidade dos cultivos. Os resultados obtidos puderam estabelecer a média das faixas de toxicidade aguda da Permetrina para as três espécies testadas: CE50;24h de 0,0011 (0,0003-0,0014) ppm e a CE50;48h de 0,0003 (0,0002-0,0004) ppm para *D. similis*; CL50;24h de 0,0002 (0,0001-0,0002) ppm e CL50;48h de 0,0001 (0,0001-0,0001) ppm para *C. dubia*; CL50;96h de 0,0004 (0,00031-0,00044) ppm para *C. xanthus*. Os testes com sedimento enriquecido foram realizados nas concentrações de 0,06, 0,12, 0,25, 0,50 e 1,00 ppm de Permetrina. O valor de CEO (Concentração de Efeito Observado) esteve entre 0,06 a 0,12 ppm e o valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) entre 0,06 a 0,25 ppm. As faixas de sensibilidade médias estabelecidas para *C. xanthus* às substâncias de referências testadas foram: CL50;96h de 0,019 (0,010-0,027) g L⁻¹ para Dicromato de Potássio e CL50;96h de 6,26 (2,85-8,69) g L⁻¹ de Cloreto de Sódio.

"Ecotoxicologic evaluation of Permethrin pesticide through toxicity assay with invertebrate organisms!"
(título informado pela orientadora
20/08/08)

ABSTRACT

This work was developed to evaluate the toxicity of Permethrin pesticide to aquatic organisms. Acute toxicity tests were performed with *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* and *Chironomus xanthus*. The sediment-water toxicity tests with *C. xanthus* were carried out with spiked sediment. *C. xanthus* can be considered one of the most important species for sediment toxicity evaluation. Therefore, aiming to understand its biology under optimal culture conditions for subsequently performing the toxicity tests, biological parameters were studied at 24°C. The ranges of sensitivity for Sodium Chloride and Potassium Dichromate were established and control-charts were generated to assess culture quality. The Permethrin measured acute toxicity results for the three species tested were: EC50;24h of 0.0011 (0,0003-0,0014) ppm and EC50;48h of 0.003 (0,0002-0,0004) ppm for *D. similis*; LC50;24h of 0.0002 (0,0001-0,0002) ppm and LC50;48h of 0.0001 (0,0001-0,0001) ppm for *C. dubia*; and LC50;96h of 0.0004 (0,00031-0,00044) ppm for *C. xanthus*. The sediment-water *C. xanthus* toxicity test using spiked sediment were performed with 0.06, 0.12, 0.25, 0.50 and 1.00 Permethrin concentrations (ppm). The LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) recorded for Permethrin ranged from 0.06 to 0.12 ppm, and the NOEC (No Observed Effect Concentration) ranged from 0.06 to 0.25 ppm. The *C. xanthus* sensitivity measured to reference substances were: 0.019 (0,010-0,027) g L⁻¹ for Potassium Dichromate (LC50;96h) and 6.26 (2,85-8,69) g L⁻¹ for Sodium Chloride (LC50;96h).

"Ecotoxicologic evaluation of Permethrin pesticide through toxicity assay with invertebrate organisms!"
(título informado pela orientadora
20/08/08)

ABSTRACT

This work was developed to evaluate the toxicity of Permethrin pesticide to aquatic organisms. Acute toxicity tests were performed with *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* and *Chironomus xanthus*. The sediment-water toxicity tests with *C. xanthus* were carried out with spiked sediment. *C. xanthus* can be considered one of the most important species for sediment toxicity evaluation. Therefore, aiming to understand its biology under optimal culture conditions for subsequently performing the toxicity tests, biological parameters were studied at 24°C. The ranges of sensitivity for Sodium Chloride and Potassium Dichromate were established and control-charts were generated to assess culture quality. The Permethrin measured acute toxicity results for the three species tested were: EC50;24h of 0.0011 (0,0003-0,0014) ppm and EC50;48h of 0.003 (0,0002-0,0004) ppm for *D. similis*; LC50;24h of 0.0002 (0,0001-0,0002) ppm and LC50;48h of 0.0001 (0,0001-0,0001) ppm for *C. dubia*; and LC50;96h of 0.0004 (0,00031-0,00044) ppm for *C. xanthus*. The sediment-water *C. xanthus* toxicity test using spiked sediment were performed with 0.06, 0.12, 0.25, 0.50 and 1.00 Permethrin concentrations (ppm). The LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) recorded for Permethrin ranged from 0.06 to 0.12 ppm, and the NOEC (No Observed Effect Concentration) ranged from 0.06 to 0.25 ppm. The *C. xanthus* sensitivity measured to reference substances were: 0.019 (0,010-0,027) g L⁻¹ for Potassium Dichromate (LC50;96h) and 6.26 (2,85-8,69) g L⁻¹ for Sodium Chloride (LC50;96h).

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1. Ensaios Ecotoxicológicos	19
3.2. Resíduos de Agrotóxicos nos Ecossistemas Aquáticos	21
3.3. Interação Sedimento – Água	23
3.4. Teste com Sedimento Enriquecido – “<i>spiked-sediment</i>”	26
3.5. Características dos Piretróides	28
3.5.1. Avaliação ambiental para piretróides sintéticos	30
3.5.2. Toxicidade dos Piretróides	32
3.6. Legislação	34
3.7. <i>Chironomus xanthus</i> (Diptera: Chironomidae)	36
3.8. <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i>	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1. Avaliação da toxicidade do agrotóxico permetrina	39
4.2. Substância-teste: permetrina	39
4.3. Avaliação da toxicidade aguda para <i>Daphnia similis</i>	41
4.4. Avaliação da toxicidade aguda para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	41
4.5. Avaliação da toxicidade aguda para <i>Chironomus xanthus</i>	42
4.6. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Chironomus xanthus</i> – Teste com sedimento enriquecido – “ <i>Spiked-sediment</i> ”	43
4.6.1. Caracterização do sedimento-teste	43
4.6.2. Otimização da metodologia	44
4.6.3. Preparo do sedimento-teste	45
4.6.4. Concentração-teste	46
4.6.5. Organismo-teste	46

4.6.6. Alimentação	47
4.6.7. Duração da exposição	47
4.6.8. Parâmetros biológicos	47
4.6.9. Manutenção do teste	48
4.6.10. Critérios de aceitabilidade do teste	48
4.6.11. Determinação da concentração da permetrina na água	48
4.7. Avaliação dos resultados	49
4.8. Organismo-teste	49
4.8.1. <i>Chironomus xanthus</i>	49
4.8.1.1. Cultivo	49
4.8.1.2. Alimentação	50
4.8.1.3. Determinação dos ínstares	50
4.8.1.4. Controle da qualidade das culturas de <i>Chironomus xanthus</i>	51
4.8.1.4.1. Determinação da faixa de sensibilidade	51
4.8.1.4.2. Carta-controle	52
4.8.1.4.3. Fecundidade	52
4.8.2. <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia dubia</i>	53
5. RESULTADOS	54
5.1. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para <i>Daphnia similis</i>	54
5.2. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	55
5.3. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para <i>Chironomus xanthus</i>	55
5.4. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Chironomus xanthus</i> – Teste com sedimento enriquecido – “ <i>Spiked-sediment</i> ”	56
5.4.1. Implementação do Teste	56
5.4.2. Caracterização do sedimento padrão	57
5.4.3. Alimentação	58
5.4.4. Avaliação da toxicidade crônica	59
5.4.5. Critérios para aceitabilidade do teste	62

5.4.6. Observações	63
5.4.7. Determinação da permetrina na água	63
5.5. Cultivo de <i>Chironomus xanthus</i>	63
5.5.1. Determinação dos ínstaes	63
5.6. Controle da qualidade dos cultivos de <i>Chironomus xanthus</i>	64
5.6.1. Sensibilidade de <i>Chironomus xanthus</i> para Dicromato de Potássio	64
5.6.2. Sensibilidade de <i>Chironomus xanthus</i> para Cloreto de Sódio	65
5.6.3. Fecundidade	65
6. DISCUSSÃO	67
6.1. Avaliação da toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para <i>Daphnia similis</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Chironomus xanthus</i>	68
6.2. Avaliação da toxicidade de permetrina para <i>Chironomus xanthus</i> – teste com sedimento enriquecido – “ <i>Spiked-sediment</i> ”	70
6.2.1. Otimização das condições de teste	70
6.2.2. Avaliação da toxicidade da permetrina	73
6.3. <i>Chironomus xanthus</i> como organismo-teste	77
6.3.1. Controle da qualidade dos cultivos de <i>Chironomus xanthus</i>	78
7. CONCLUSÕES	82
ANEXO 1 - Testes de Toxicidade Aguda	84
ANEXO 2 - Testes de Toxicidade Crônica	106
ANEXO 3 - Cultivo de <i>Chironomus xanthus</i>	120
ANEXO 4 - Crescimento de <i>Chironomus xanthus</i>	137
ANEXO 5 - Testes de Sensibilidade	141
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Agrotóxicos em linha de comercialização com a permetrina como Princípio Ativo (SINDAG, 2003)	29
Tabela 2 – Toxicidade de permetrina (CAS#:52645531) para organismos aquáticos	34
Tabela 3 – Informações disponíveis da formulação	40
Tabela 4 – Propriedades da permetrina (EUSES, 2004)	40
Tabela 5 – Teste de toxicidade aguda com <i>Chironomus xanthus</i> (Adaptado de EPA, 2000)	43
Tabela 6 – Condições de ensaios realizados de sedimento enriquecido com <i>Chironomus xanthus</i> (Adaptação de procedimento da OECD, 2004)	45
Tabela 7 – Valores de CE50;24h e 48h (ppm) do agrotóxico permetrina para <i>Daphnia similis</i> .	54
Tabela 8 – Valores de CL50;24 e 48h (ppm) do agrotóxico permetrina para <i>Ceriodaphnia dubia</i> .	55
Tabela 9 – Valores de CL50;96 (ppm) do agrotóxico permetrina para <i>Chironomus xanthus</i> .	56
Tabela 10 – Ensaios realizados com <i>Chironomus xanthus</i> com sedimento enriquecido com permetrina	57
Tabela 11 – Condições dos ensaios realizados de sedimento maçado com <i>Chironomus xanthus</i> a partir de OECD (2004)	59

Tabela 12 – Emergência de <i>Chironomus xanthus</i> obtidas nos testes com sedimento enriquecido com diferentes concentrações de permetrina (Teste 1 e 2)	60
Tabela 13 – Resultados do teste de Steel para os dados de emergência de <i>Chironomus xanthus</i> obtidos no teste com sedimento enriquecido com diferentes concentrações de permetrina (Teste 1)	60
Tabela 14 – Resultados do teste de Steel para os dados de emergência de <i>Chironomus xanthus</i> obtidos no teste com sedimento enriquecido com diferentes concentrações de permetrina (Teste 2)	61
Tabela 15 – Tempo de desenvolvimento de <i>Chironomus</i> sp.	62
Tabela 16 – Duração dos instares de <i>Chironomus xanthus</i>	64
Tabela 17 – Valores de CL50;96h (g.L ⁻¹) de Dicromato de Potássio para <i>Chironomus xanthus</i>	64
Tabela 18 – Valores de CL50;96h (g.L ⁻¹) de Cloreto de Sódio para <i>Chironomus xanthus</i>	66
Tabela 19 – Toxicidade de permetrina para organismo de ambientes temperados e no presente trabalho.	68
Tabela 20 – Composição de sedimentos sintéticos utilizados em ensaios com sedimento marcado.	72
Tabela 21 – Tempo de desenvolvimento de <i>Chironomus xanthus</i> .	78
Tabela 22 – Valores de CL50;96h (g.L ⁻¹) de <i>Chironomus xanthus</i> .para substâncias de referência.	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Dinâmica de pesticidas no ambiente aquático	22
Figura 2 – Carta-controle <i>Chironomus xanthus</i> para Dicromato de Potássio.	65
Figura 3 – Carta-controle <i>Chironomus xanthus</i> para Cloreto de Sódio.	66

1. INTRODUÇÃO

A contaminação pode permanecer no ambiente por um longo período, causando efeitos na biota por várias gerações ou impedindo a recuperação ambiental, sendo necessários meios de remediação muitas vezes inviáveis pelo alto custo.

Atualmente a contaminação de sedimentos vem sendo foco da atenção dos países desenvolvidos, dada a importância deste compartimento nos ambientes aquáticos (CHAPMAN, 1990). Contaminantes persistentes, muitos com efeitos letais imediatos, como metais e clorofenóis, ou que possuem um longo tempo de efeitos deletérios, incluindo prejuízos na reprodução e deformidades congênitas (ex.: PCBs, PAH, dioxinas), são carregados para os sedimentos dos ambientes aquáticos, onde permanecem por um longo período, podendo afetar os organismos que vivem ou que possuem algum tipo de contato com os sedimentos.

Os organismos bentônicos são uma importante fonte de alimento para outros animais da cadeia trófica, como peixes, que possuem importância tanto ecológica quanto comercial, tornando-se necessária uma atenção especial com os organismos que vivem associados a possíveis contaminantes acumulados nos sedimentos.

O uso indiscriminado de agrotóxicos é um dos principais fatores que afetam os corpos d'água, não só rios, reservatórios e lagos, mas também lençóis freáticos, causando eutrofização e contaminação desses ambientes, estuários e águas costeiras. A irrigação agrícola, responsável pela demanda de 70% da água consumida mundialmente incluindo a desviada dos rios e a bombeada do subsolo, se torna uma das fontes de contaminação e poluição mais agressiva aos corpos d'água (TUNDISI & BARBOSA, 1995).

Estes produtos, entre as substâncias químicas que são introduzidas no meio ambiente por fontes antrópicas, têm recebido especial atenção, pois são adicionados intencionalmente ao ambiente para destruir ou controlar algumas formas de vida que são consideradas indesejáveis, as chamadas pestes ou pragas que representam um problema para a agropecuária tradicional e para a saúde pública. Muitos são os argumentos usados em favor do uso de agrotóxicos, entretanto, muitas são as conseqüências indesejáveis que advêm do uso desses produtos, relacionadas à contaminação ambiental ou à saúde ocupacional e potencializados pela falta de fiscalização para utilização e venda dos produtos, incluindo o destino das embalagens (CHAPMAN, 1990).

Os compostos químicos encontrados nos corpos d'água podem afetar os organismos aquáticos, dependendo do grau de acumulação, pelo tipo de cadeia trófica, persistência e disponibilidade na água devido a suas características físicas e químicas. Nos peixes e invertebrados aquáticos podem ser encontrados em concentrações muito acima daquelas encontradas na água onde vivem, sendo ingeridos ou absorvidos pelos organismos.

A Ecotoxicologia estuda as rotas dos contaminantes no ambiente e os efeitos ecológicos que causam nos indivíduos, populações, comunidades e ecossistemas. Para minimizar os problemas ecotoxicológicos que os agrotóxicos causam, é importante o conhecimento sobre utilização adequada e medidas de controle da contaminação ambiental, avaliando-se os níveis de resíduos e a biomagnificação nos componentes dos ecossistemas (MACHADO NETO, 1991). A biomagnificação significa o acúmulo progressivo dos agrotóxicos nos diversos níveis tróficos das cadeias alimentares dos ecossistemas. O homem, por estar no topo de diversas dessas cadeias, assim como os pássaros, mamíferos, répteis e peixes predadores, é um dos organismos que mais concentram os compostos e,

conseqüentemente, sofre maiores riscos de intoxicação. Deste modo, pode-se relacionar a qualidade ambiental diretamente com a saúde humana.

A Ecotoxicologia tem a função de prever os caminhos dos compostos químicos sintéticos no ambiente e quais os efeitos ecológicos causados quando incorporados nos ecossistemas (CALOW, 1998). Várias metodologias, de campo e/ou laboratório, que contemplam uma dimensão ecológica, são utilizadas para investigar os efeitos físicos e químicos dos agentes tóxicos no ambiente, como para onde e como ele são carreados e permanecem.

A ação inespecífica dos piretróides pode levar a desequilíbrios como a eliminação de predadores naturais. Por outro lado, a contaminação das cadeias alimentares, através do acúmulo de agrotóxicos nos organismos, pode atingir espécies comercialmente relevantes ocasionando a intoxicação no homem. Espécies resistentes a concentrações maiores de piretróides encontram-se normalmente no topo da cadeia alimentar, onde os processos de biomagnificação são evidenciados, favorecendo com que o alimento seja uma possível fonte de câncer. A Ecotoxicologia estuda os efeitos causados por agentes tóxicos nas espécies presentes nos ecossistemas, não tendo objetivo estudar efeitos em humanos, mas fornece informações extremamente importantes para a qualidade da vida.

De acordo com CHAPMAN (1990), uma atenção especial deve ser dada para alimentos consumidos pelo homem que sejam provenientes de águas contaminadas ou de atividades de contato, como recreação e esportes aquáticos em águas de sedimentos contaminados, pelos efeitos tóxicos que podem causar.

Comprovando essa afirmação, a contaminação das águas e dos alimentos tem acarretado efeitos sobre a saúde humana, como o aparecimento de alterações endócrinas tanto no homem como nos animais, tais como perda progressiva de espermatozóides e cânceres,

sobretudo na próstata, que foram reconhecidos como decorrentes da exposição humana a agrotóxicos (NUNES & RIBEIRO, 1999). Dentre os problemas ambientais, podemos citar mortalidade e problemas na reprodução em peixes e aves que se alimentam de peixes relacionados a altas concentrações de DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) (SPACIE & HAMELINK, 1985). Muitos compostos são utilizados próximos aos corpos d'água sendo encontrados em águas superficiais, alcançando águas subterrâneas e águas de abastecimento. YOUNES & GALAL-GORCHEV (2000), ressaltam que a capacidade dos agrotóxicos persistirem e produzirem efeitos tóxicos sobre a saúde humana e sobre o meio ambiente é muito variada em função das classes químicas existentes, podendo ser encontrados em águas de abastecimento.

Os parâmetros para controle e vigilância da qualidade da água e seu padrão de potabilidade para consumo humano, foram inicialmente estabelecidos pela Portaria N.º 36 do Ministério da Saúde de 1990. Neste documento, os agrotóxicos estavam agrupados junto com os compostos orgânicos. Na revisão posterior da Portaria (N.º 1469/MS/00), estes compostos foram organizados separadamente e mais 14 produtos foram incluídos, dentre eles a permetrina, escolhida para esta pesquisa, com o objetivo de contribuir para o conhecimento do impacto causado, a partir da simulação de um ambiente natural contaminado. Na última revisão da Portaria (N.º 518/MS/2004) os parâmetros foram mantidos, como também o monitoramento dos agrotóxicos e dos mananciais, imprescindível para a proteção e qualidade da vida aquática e saúde humana.

Dentre os testes utilizados para se conhecer a toxicidade de produtos químicos, incluiu-se o teste com sedimento enriquecido, ferramenta importante para se monitorar os efeitos tóxicos causados por contaminantes no ambiente. A utilização dessa metodologia permite estimar em laboratório um valor de concentração do agente tóxico que causa efeitos

adversos para os organismos aquáticos. Este teste é recomendado pela OECD (*Organization for Development and Economic Cooperation*), que conta com a participação da EPA (*Agency of Ambient Protection of the United States*) e um grande número de outras organizações internacionais envolvidas para a padronização e homogeneização de ensaios ecotoxicológicos, como por exemplo ASTM (*American Society for tests of Materials*) e ISO (*International Organization of Criteria*) (OECD, 2004).

Mostrar a necessidade da inclusão de novos parâmetros que hoje não são contemplados em nossa legislação e que são prioritários na legislação internacional, como também de novos métodos, é muito importante para a qualidade ambiental do país. No Brasil, os testes ecotoxicológicos exigidos para fins de registro de produtos são realizados em água doce, não contemplando a avaliação da toxicidade no sedimento. A inclusão desta nova abordagem certamente irá permitir um melhor entendimento dos efeitos ecotoxicológicos nos ecossistemas aquáticos tropicais e subtropicais do país, fornecendo subsídios para estudos de avaliação de risco.

2. OBJETIVOS

- Determinar a toxicidade aguda do agrotóxico permetrina na água, através de testes de com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*;
- Implantação do ensaio ecotoxicológico com sedimento enriquecido - “*spiked sediment*”, a partir da norma internacional da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD), de modo a ampliar o conhecimento sobre os efeitos dos agrotóxicos no ambiente aquático e de novos métodos de testes toxicológicos para avaliação da qualidade de sedimentos e da água;
- Estudar e comparar a toxicidade da permetrina em sedimento e na água;
- Fornecer subsídios aos órgãos de proteção ambiental para medidas pró-ativas no que se refere ao uso de agrotóxicos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Ensaios Ecotoxicológicos

O termo Ecotoxicologia foi cunhado pelo professor e pesquisador francês René Truhaut, em 1969, reunindo a designação *eco* (do grego *oikos*, elementos de composição com o significado de casa, domicílio, habitat, meio ambiente: ecologia) e a palavra *toxicologia* (ciência dos agentes tóxicos, dos venenos e da intoxicação). Naquela época já se demonstrava a crescente preocupação de cientistas e autoridades em estudar e compreender os efeitos deletérios promovidos pelas substâncias químicas, mormente as de origem antrópica, sobre os ecossistemas (seus bioconstituintes e suas inter-relações) (AZEVEDO & CHASIN, 2003).

A Ecotoxicologia tem a função de antecipar os caminhos dos compostos químicos sintéticos no ambiente e quais seus efeitos ecológicos (CALOW, 1998). Isto pode ser feito através de várias metodologias em campo ou laboratório, enfatizando uma dimensão ecológica. É relevante investigar os efeitos físicos e químicos dos agentes tóxicos no ambiente, como para onde e como são carregados e quanto tempo permanecem, sendo extremamente importantes para estudos de monitoramento ambiental.

Ensaios de toxicidade consistem em expor um organismo-teste a várias concentrações de um agente tóxico durante um determinado intervalo de tempo, podendo-se avaliar os efeitos sobre as funções biológicas fundamentais como crescimento, reprodução e morte. Na descrição dos efeitos de um agente tóxico são considerados, entre outros efeitos, os agudos e crônicos. Esta classificação relaciona-se ao ciclo de vida do organismo que está sendo testado e com o tempo de exposição dos mesmos à amostra durante o teste (RAND & PETROCELLI, 1985).

- **Efeito agudo**

É uma resposta rápida e severa dos organismos aquáticos a um estímulo que se manifesta, geralmente, num intervalo de 0 a 96 horas. O efeito poderá ser a letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede como, por exemplo, o estado de imobilidade. Os efeitos agudos em testes de toxicidade são avaliados usando-se, geralmente, a concentração letal (CL50) ou a concentração efetiva (CE50), ou seja, que causa mortalidade ou imobilidade a 50% dos organismos em teste respectivamente, sendo essa a resposta considerada mais significativa para ser extrapolada em uma população (CETESB, 1992).

Os efeitos agudos de agentes tóxicos em organismos aquáticos são observados no ambiente geralmente em acidentes ou situações anormais em indústrias, onde efluentes não tratados são lançados diretamente no corpo receptor, ou por carreamento e lixiviação de agrotóxicos ocasionados pelas chuvas, por exemplo.

Em ensaios de toxicidade agudos realizados com microcrustáceos (duração de 48 horas), a espécie *Daphnia similis* é recomendada. Esta espécie apresenta um ciclo de vida em torno de 45 dias na temperatura de 20°C. Sabendo-se que os estágios iniciais do ciclo de vida geralmente são os mais sensíveis aos efeitos agudos, as primeiras 48 horas de vida conferem a esta espécie uma maior sensibilidade para os agentes tóxicos testados.

- **Efeito crônico**

Traduz-se pela resposta a um estímulo que continua por períodos que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo. Esses efeitos são observáveis em casos onde as concentrações de agentes tóxicos permitem a sobrevivência do organismo, mas afetam uma ou mais funções biológicas como reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento, etc. Nos testes de toxicidade crônica determina-se a concentração do agente tóxico que não causa o

efeito observado (CENO - Concentração de Efeito Não Observado) e a concentração que causa o efeito tóxico (CEO - Concentração de Efeito Observado) (CETESB, 1992).

3.2. Resíduos de Agrotóxicos nos Ecossistemas Aquáticos

Os agrotóxicos podem atingir o ambiente aquático de diversas formas, sendo que as fontes principais são provavelmente seu uso na agropecuária, esgoto industrial e municipal e o controle de ervas aquáticas e insetos. Enquanto o esgoto e controle de ervas aquáticas envolvem aplicação direta no meio aquático, os agrotóxicos usados na agropecuária geralmente seguem rotas indiretas. A FIG.1 ilustra as rotas de entrada dos agrotóxicos no meio aquático por aplicação direta ou por mobilização a partir de seu uso na agropecuária (CARVALHO DORES & LAMONICA-FREIRE, 1999).

A lixiviação dos agrotóxicos através do perfil dos solos pode ocasionar a contaminação de lençóis freáticos, afetando além dos cursos de águas superficiais, as águas subterrâneas cuja descontaminação não é fácil. Certas práticas agrícolas ligadas ao modelo de produção agrícola predominante, como o uso excessivo e inadequado de agrotóxicos, a destruição da cobertura vegetal dos solos para plantio, a não preservação das matas ciliares e das vegetações protetoras de nascentes, dentre outros fatores, são responsáveis por grande parte dos problemas com os recursos hídricos (ROSA, 1998).

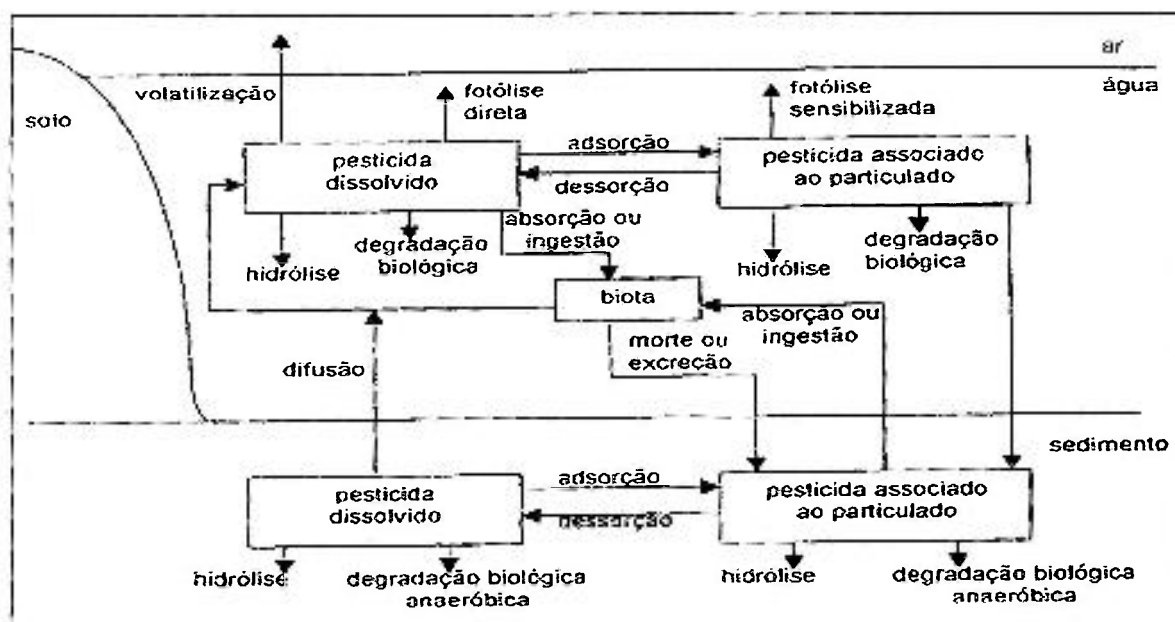


FIGURA 1 - Dinâmica de pesticidas no ambiente aquático (Fonte: CARVALHO DORES & LAMONICA-FREIRE, 1999).

Havendo contaminação aquática por agrotóxicos, pode-se considerar que todos os demais elementos bióticos e abióticos do ecossistema também estarão comprometidos. A contaminação das águas pode ocorrer, por exemplo, pela aplicação direta de agrotóxicos nos corpos d'água para o controle de larvas de insetos vetores de doenças e também para controle de parasitas em peixes. Os resíduos de agrotóxicos, dependendo de suas propriedades físicas e químicas, podem se ligar ao material orgânico particulado em suspensão na coluna d'água, se precipitar nos sedimentos ou diluir na água. Em todos os casos, poderão ser absorvidos pelos organismos aquáticos, sendo detoxicados ou acumulados. Poderão ser transportados no sistema aquático por difusão nas correntes de água ou pelos próprios organismos.

Nos últimos anos é crescente o interesse sobre a reutilização e lavagem das embalagens de agrotóxicos, principalmente no que se refere ao destino destes resíduos na natureza. Neste sentido, destaca-se a contaminação e destino das águas de lavagens de

materiais usados na aplicação de agrotóxicos e também o destino final das embalagens desses produtos.

A água utilizada para lavagem desses materiais acaba afetando outros organismos que não estão envolvidos diretamente em problemas agrícolas ou com infestações, como vetores de doenças. Exterminando todas as larvas de insetos presentes em um local, por exemplo, além de deixar em déficit a alimentação de peixes que utilizariam as larvas como fonte de energia, causaria um grave desequilíbrio ecológico.

Certos contaminantes não possuem um efeito letal imediato, podendo se acumular no ambiente e nos organismos por um longo período. Dessa forma, a contaminação passa de um nível trófico para outro, acumulando-se na cadeia alimentar, o que é chamado de biomagnificação.

Independente da forma da contaminação no ambiente aquático, esta é transmitida para os outros compartimentos do meio, sejam aquáticos ou não, e para todos os organismos que se beneficiem da água para sobreviver.

3.3. Interação Sedimento – Água

Os sedimentos são semi-sólidos comprimidos de minerais, material orgânico, água intersticial e uma gama de componentes físicos, químicos e biológicos estruturados juntamente com micro e macronutrientes interligados (HOFFMAN *et al.*, 1995). Calcula-se aproximadamente um milhão de bactérias por grama de sedimento que, através de um espaço de milímetros, ocupam um nicho crítico para ciclagem e metabolismo de compostos orgânicos específicos, ácidos orgânicos, nitrogênio, sulfetos, metano e hidrogênio. Estas populações vivem a diferentes profundidades do sedimento, em camadas estreitas oxigenadas na superfície onde o potencial redox é alto até níveis de profundidade onde não há oxigênio.

O ácido húmico é parte da matéria orgânica que após várias transformações permanece no sedimento. Consiste em uma mistura heterogênea solúvel, fonte de nutrientes. Nos processos geoquímicos do sedimento, o ácido húmico promove a troca iônica e a fixação de cátions pesados. Possui influência nas atividades enzimáticas; absorção de oxigênio, capacidade de complexar íons metálicos e aumento da permeabilidade celular (TOLEDO, 1973). As substâncias húmicas, são abundantes nos ambientes aquáticos (SCHNITZER, 1972). Provenientes da decomposição da matéria orgânica alóctone e do próprio ecossistema, como restos de organismos, constituem de 10 a 30% do carbono orgânico dissolvido na água e 70 a 90% em áreas alagadas (THURMAN, 1985).

Um grande número de dados na literatura relacionada ao meio ambiente demonstram que a biodisponibilidade ou a toxicidade de metais está diretamente correlacionada a concentrações de íons de metais livres verso íons complexados por substâncias húmicas.

Grande parte das substâncias químicas de origem antropogênica tende a se agregar na matéria orgânica do sedimento aquático. Isso é explicado pela teoria do equilíbrio de partição, onde os contaminantes se agregam à matéria orgânica que precipita, estabelecendo um equilíbrio com o contaminante dissolvido na água intersticial e sedimento (SILVERIO, 2003). Os contaminantes presentes na água intersticial são absorvidos pela fauna de invertebrados bentônicos. A EPA utiliza esses dados (coeficiente de partição e bioacumulação) para monitoramento da qualidade de sedimentos, como um método de fiscalização, onde usa os efeitos causados nessas espécies determinados por comparação da concentração de carbono orgânico com os níveis estabelecidos nos critérios para a qualidade da água, onde tem mostrado sensibilidades similares entre espécies de bentos e não bentos sensíveis (HOFFMAN *et al.*, 1995).

A partir das características físicas e químicas dos agrotóxicos, sabe-se que estes podem se ligar ao material particulado em suspensão na coluna d'água, se precipitar no sedimento ou serem absorvidos pelos organismos. A biodisponibilidade do contaminante é determinada pelo equilíbrio químico entre a água, o sedimento e os organismos, sendo sua biodisponibilidade melhor prognosticada a partir da concentração do químico na fase aquática (MAUND *et al.*, 2002).

Mesmo sendo baixa a concentração de contaminantes na água intersticial, os organismos bentônicos ingerem essa fase solúvel onde se encontram os contaminantes dissolvidos que vão sendo depurados do sedimento. Em decorrência, um novo equilíbrio é então estabelecido e mais contaminantes passam para a água intersticial, repondo aqueles que foram consumidos pelos organismos. Assim, mesmo que em baixos níveis de concentração, a água intersticial pode ser um vetor de acumulação desses elementos para a biota. Outro fator a ser salientado, a partir do hábito alimentar dos organismos bentônicos, como os quironomídeos, é a bioacumulação que pode ser viabilizada mesmo a partir da fase sólida uma vez que esses organismos ingerem os particulados promovendo uma verdadeira extração desses elementos ligados (por processos de adsorção e complexação) às partículas de sedimento (MAUND *et al.*, 2002).

A contaminação do sedimento aquático pode ter inúmeros efeitos nocivos nesses ecossistemas, alguns bastante evidentes outros não (HOFFMAN *et al.*, 1995). A comunidade bentônica pode ser completamente extinta, ou então prevalecer apenas espécies tolerantes à poluição. Esta mudança acarreta transformações no metabolismo dos ecossistemas, alterando o processo de decomposição significativamente, sendo que os organismos bentônicos estão ligados diretamente ao processo de ciclagem de nutrientes e à decomposição da matéria orgânica. O desaparecimento de uma comunidade biológica afetará diretamente outros

componentes do ambiente. Por exemplo, se a comunidade bentônica for significativamente afetada, o ciclo de nitrogênio será alterado e espécies do fitoplâncton desaparecerão e darão lugar a uma outra espécie capaz de fixar nitrogênio, como as cianobactérias. A produção de toxinas por essas espécies pode afetar peixes herbívoros e outros consumidores, tais como o homem. Outros efeitos da contaminação de sedimento são diretos, como os observados nos Grandes Lagos dos Estados Unidos, onde o peixe predador do topo da cadeia é contaminado através do consumo de peixes e invertebrados bentônicos que estão associados com poluentes do sedimento, tais como PAHs, PCBs, mercúrio e agrotóxicos (HOFFMAN *et al.*, 1995).

3.4. Teste com Sedimento Enriquecido – *spiked-sediment*

A maioria dos estudos ecotoxicológicos que é realizada com substâncias químicas, estimam os efeitos para organismos na água. Como boa parte das substâncias que são lançadas no ambiente são carregadas para os rios, estas podem ou não dissolver na água, precipitando no fundo desses ambientes. Portanto, o estudo desses contaminantes no sedimento é muito importante. No sedimento está o destino de todo material natural e antrópico do ambiente, servindo como depósito e fonte de contaminantes para os organismos e para a água.

Entre os métodos para estudo de impacto de substâncias tóxicas no ambiente, a *United States Environmental Protection Agency* - USEPA (EPA, 1992), aponta para importância dos testes com sedimento e as vantagens de se utilizar sedimento enriquecido – “*spiked-sediment*”. Esta metodologia consiste em contaminar amostras de sedimento com diferentes concentrações do composto tóxico a ser avaliado e expor organismos-teste a essas amostras. A comparação estatística dos resultados obtidos com as amostras de sedimento contaminado e do controle ou referência permite estabelecer uma relação de causa/efeito entre o composto químico e as respostas biológicas adversas.

A série da OECD de “*Guidelines for Testing of Chemicals*”, inclui 106 testes com o objetivo de avaliar as propriedades físicas e químicas (21 testes), efeitos nos sistemas bióticos (22 testes), degradação e acumulação (12 testes), efeitos na saúde (35 testes). Recentemente, foi incluída a série de testes referentes à toxicologia genética (16 testes).

Os testes com sedimento enriquecido OECD 218 - “*Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment*” e com água marcada OECD 219 - “*Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water*”, foram aprovados em Abril de 2004. No entanto, desde 1998 os procedimentos vêm sendo discutidos.

O cenário para a exposição irá depender do objetivo do teste (OECD, 2004). O cenário do sedimento enriquecido tem como princípio simular níveis de acumulação de químicos persistentes no sedimento.

A utilização do sedimento natural nem sempre reproduz facilmente a especificidade do local. Portanto, é recomendado, para estudos que avaliam a toxicidade com sedimentos naturais, que sejam realizados em paralelo testes com sedimentos artificiais ou padronizados.

A utilização de sedimentos formulados é recomendada, pois apresenta diversas vantagens, como: redução da variabilidade do experimento, permite a reprodução de uma matriz padronizada e a necessidade de encontrar fontes não contaminadas é eliminada; os testes podem ser iniciados em qualquer momento sem sofrer variações sazonais, sem a necessidade de um pré-tratamento para remoção de fauna; permite a comparação da toxicidade das substâncias.

No entanto, testes com sedimentos naturais vem sendo recomendados. De acordo com BURTON (2002, Comunicação Pessoal), os ensaios com sedimentos naturais podem ser utilizados para avaliar a toxicidade de produtos químicos quando o objetivo é conhecer os

efeitos agudos e ou crônicos nos organismos de um ecossistema em particular, quando se sabe que estes estão sendo disponibilizados para o ambiente em questão.

Os efeitos toxicológicos sobre a comunidade bentônica são determinados a partir da exposição de um número conhecido de organismos. As respostas biológicas a serem observadas podem ser mortalidade, mudanças na reprodução e/ou alterações fisiológicas ou de comportamento dos organismos expostos ao sedimento controle e ao sedimento enriquecido.

A contaminação do sedimento pode ser feita por adição direta do tóxico ao sedimento, ou por adição na coluna d'água, com um intervalo de tempo para se atingir o equilíbrio água/sedimento. A concentração do contaminante deve ser tal, que permita determinar a CL50 ou a concentração mínima que causa efeitos biológicos adversos.

No Brasil são poucos os trabalhos realizados que utilizaram esta metodologia para teste. Recentemente foi defendida uma Tese de doutorado (SILVÉRIO, 2003) que utilizou essa metodologia para observar efeitos sinérgicos dos metais no sedimento, mostrando quanto importante é este teste. No entanto, para agrotóxicos não se conhece nenhum trabalho com tal abordagem.

3.5. Características dos Piretróides

Atualmente os inseticidas mais utilizados são os piretróides (DEV & KOUL, 1997). Piretróides são substâncias que apresentam estruturas semelhantes às Piretrinas I e II que são naturais nas flores de *Chrysanthemum cinerariifolium*. Essas plantas são cultivadas em larga escala em vários países incluindo Kenya, Tanzânia, Equador, Japão, Índia e Brasil.

O primeiro composto sintético desse inseticida comercializado para aplicações internas (“indoor”) foi o Alletrin na década de cinquenta. Após o decorrer de vinte e cinco anos, observou-se uma grande produção de compostos sintéticos depois das piretrinas, como

resposta ao grande desenvolvimento de compostos para aplicação na agricultura. Até 1990, existiam oito piretróides sendo comercializados ou desenvolvidos. Atualmente, eles ocupam de 30 a 35% da demanda mundial total de inseticidas. Os principais compostos piretróides utilizados como inseticidas são: aletrina, esbiotrina, permetrina, fenotrina, vipermetrina, deltametrina, fenpropanato, cialotrina, flumetrina, resmetrina, bifentrina, transflutrina (DEV & KOUL, 1997).

São disponíveis em formulações do tipo concentrado emulsionável, aerossóis, pós, loções e xampus (LARINI, 1999). A TAB.1 apresenta alguns dos produtos comercializados no Brasil de acordo com o SINDAG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (2003).

TABELA 1 –Agrotóxicos em linha de comercialização com a Permetrina como Princípio Ativo (SINDAG, 2003).

EMPRESA	NOME COMERCIAL	CLASSE TOXICOL	APLICAÇÃO	TIPO	GRUPO QUÍMICO
Syngenta	Ambush	II	Culturas de algodão, Soja, Café, Milho, Tomate, Crucíferas (couve, couve-flor e repolho) Fumo, Trigo, Arroz irrigado, grãos armazenados no combate as pragas como: lagartas, curuquerê, percevejos, bicho mineiro, brocas, gorgulho, tripés, traças e pulgões.	Inseticida	Piretróides sintéticos
Milenia	Galgoper	I			
FMC	Gemini	III			
Uniroyal	Gemini	I			
Du Pont	Piredan	II			
FMC	Pounce 250 SC	IV			
FMC	Pounce 384 CE*	III			
Monsanto	Pounce 384 CE	III			
Basf	Talcord 250 CE	III			
Uniroyal	Talcord 250 CE	II			
Basf	Talcord 250 SC	III			
Bayer CropScience	Tifon 250 SC	III			
Dow AgroSciences	Valon 384 CE	II			

* Sinonímia com o produto estudado nesse trabalho.

A Permetrina é um inseticida pertencente ao grupo químico dos piretróides que age primeiro por contato e secundariamente por ingestão contra diversos insetos (LARINI,

1999). Sua nomenclatura segundo a IUPAC é 3-fenoxibenzil (1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato (TOMLIN, 1994). A nomenclatura da *cis*-Permetrina, referente ao número CAS 54774-45-7 é (1*R-cis*)-(2,2-dicloroetenil)-2,2-ácido dimetilciclopropanocarboxílico (3-fenoxifenil) metil éster. A nomenclatura da *trans*-Permetrina, referente ao número CAS 51877-74-8 é (1*R-trans*)-3-(2,2-dicloroetenil)-2,2-ácido dimetilciclopropanocarboxílico (3-fenoxifenil) metil éster. (GELMINI, 1994).

Os compostos piretróides são utilizados na agricultura, em cultivo de algodão, arroz, café, soja, milho, trigo, tomate, couve, couve-flor, repolho e fumo, e na medicina veterinária na eliminação de ectoparasitas de animais de pequeno porte e bovinos. São empregados em campanhas de saúde pública na erradicação de mosquitos, no armazenamento de grãos (arroz, milho e trigo) e em uso doméstico para a eliminação de insetos em geral. Também são aplicados na desinfecção de armazéns de fumo e no controle de formigas (TOMLIN, 1994; LARINI, 1999; ANVISA, 2004). Atualmente, também são utilizados como quimioterapia para o controle de infestações de copépodos parasitas em fazendas de salmão no Chile (MEDINA *et al.*, 2002) e também em pesqueiros conhecidos no Município de São Paulo (UNISA, 2004. Comunicação Pessoal).

3.5.1. Avaliação ambiental para piretróides sintéticos

Os piretróides são praticamente insolúveis na água (cipermetrina= 10µg/L; permetrina= 1µg/L) e bastante solúveis em solventes orgânicos (LARINI, 1999). Os compostos piretróides são pouco persistentes no meio ambiente terrestre, podendo ser classificados, de uma maneira geral, como não persistentes. São mais resistentes ao meio ácido do que no meio alcalino, com uma estabilidade ótima a pH 4. Em meio alcalino são decompostos por hidrólise. São degradados no ambiente através de hidrólise e oxidação.

Assim, a permetrina [3-fenoxifenilmetil-3-(2,2-dicloroetenil)-2,2-dimetil-ciclopropano carboxilato] sofre degradação no solo com produção de ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil-ciclopropano carboxílico, de álcool fenoxibenzílico, de ácido 3-fenoxibutílico e do 3-fenoxibenzaldeído.

A maioria dos piretróides sintéticos apresenta estabilidade à transformação abiótica, exceto em meios alcalinos, onde sofrem hidrólise (pH 9). Nestas circunstâncias, a permetrina mostra uma estabilidade moderada, com meia-vida que varia de 14 a 60 dias (EUSES, 2004).

Geralmente, os piretróides sintéticos apresentam uma reação baixa a moderada para fotodecomposição aquosa, onde se observa a escala de meia-vida de fotólise aquática variando de 5 dias para estável.

Os piretróides apresentam valores de baixa pressão de vapor e valores muito baixos de solubilidade em água, a elevada partição de solo/água indica um potencial relativamente baixo para a volatilização.

Os estudos de campo, terrestres, de dissipação dos piretróides sintéticos apresentam uma larga escala de meia-vida (3 dias a 228 dias). Em geral, a meia-vida observada no campo é da mesma ordem de valor do que as observadas em estudos em laboratório.

Pode-se observar nos estudos em solo de campo, que a maioria dos piretróides possui uma persistência altamente variável. Esta variação pode ser devido às circunstâncias ambientais diferentes, que afetam os mecanismos de dissipação ou da degradação (tais como: temperatura, intensidade luminosa, aeração do solo, intensidade da chuva, umidade do solo, pH, etc.) (EUSES, 2004).

A persistência média a elevada dos piretróides sintéticos indica que os produtos químicos estão disponíveis no ambiente por um período de tempo relativamente longo (semanas a meses após a aplicação). A baixa solubilidade na água, a baixa mobilidade observada para todos os piretróides e o coeficiente de adsorção elevado de solo/água observado para a maioria deles indica que os produtos químicos tendem a permanecer adsorvidos nos solos e seriam liberados durante as eventuais chuvas que causam a erosão do solo (EUSES, 2004).

3.5.2. Toxicidade dos Piretróides

As principais vias de absorção em mamíferos dos compostos piretróides são a oral, a dérmica e a inalatória. Para entendimento de sua ação tóxica, os inseticidas piretróides são divididos em duas classes distintas, segundo LARINI (1999):

CLASSE I: Estão incluídos nesta classe os inseticidas: aletrina, permetrina, resmetrina, fenotrina e outros. Estes compostos determinam, experimentalmente em ratos, efeitos neurológicos provavelmente de origem periférica, provocando um quadro de agressividade, tremores, espasmos convulsivos, incoordenação e prostração, que, em conjunto, é conhecido por “Síndrome T”, pela prevalência dos espasmos convulsivos e tremores.

CLASSE II: Estão incluídos nesta classe os compostos: fenpropanato, cipermetrina, deltametrina, cialotrina, flumetrina e fenvalerato. Estes compostos determinam efeitos de origem do sistema nervoso central, produzindo salivação excessiva, movimentos irregulares dos membros, convulsões tônicas e clônicas e sensibilidade aumentada aos estímulos externos. A intoxicação provocada por eles é conhecida como “Síndrome CS” (coreoatetose e salivação).

Os estudos sobre o mecanismo de ação tóxica dos inseticidas piretróides não são conclusivos (LARINI, 1999). Alguns compostos como a cipermetrina e a permetrina, promovem um aumento de cálcio livre na terminação nervosa através da inibição de proteínas responsáveis pelas ligações intracelulares, tendo um aumento na liberação dos neurotransmissores.

Os estudos em toxicologia aquática, em relação aos efeitos tóxicos que causam, são quantitativos e qualitativos. Na TAB.2 apresenta-se alguns resultados de toxicidade encontrados na literatura. Estes incluem a mortalidade/imobilidade, efeitos agudos ou desenvolvimento, crescimento, reprodução, fisiologia, comportamento, efeitos crônicos.

A exposição é o contato entre o organismo e o composto químico que envolve o tipo, duração e frequência de exposição e a concentração do agente químico. Dependendo do tipo de exposição, os compostos hidrossolúveis estarão mais prontamente disponíveis aos organismos aquáticos de que aqueles mais lipofílicos, que estarão mais adsorvidos ou ligados às partículas em suspensão, matéria orgânica ou sistemas biológicos. Assim, os agentes químicos mais hidrossolúveis penetram nos organismos através de contato direto, pela epiderme, guelras e boca, e os mais lipofílicos precisam ser ingeridos e absorvidos através do trato gastrointestinal, apresentando diferentes respostas de toxicidade (RAND & PETROCELLI, 1985). Todos os piretróides sintéticos apresentam um elevado potencial a bioacumulação. Estudos em peixes, mostraram que a permetrina acumulou 950 - 1000x nas vísceras, 570 - 610x no peixe inteiro e 180 - 230x no músculo.

TABELA 2 – Toxicidade de permetrina (CAS #: 52645531) para organismos aquáticos.

	Espécie	Parâmetro utilizado	DURAÇÃO TESTE - Horas	CONCENTRAÇÃO µg/L	Referências
Protozoa	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	CP	24 – 120	1000 - 10000	KUMAR, 1994
Alga	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	CP	3 – 72	3910 - 391000	*GANGHI, 1988
Inseto	<i>Anopheles stephensi</i>	CE50 IM	3 – 24	6,20 – 110,70	*MALCOLM, 1988
Crustácea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CL50	48	0,55	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
	<i>Daphnia magna</i>	CE50	48	1,06 – 0,43	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
	<i>Daphnia magna</i>	CL50	48	1,25	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
Peixe	<i>Bluegill sunfish</i>	CL50	48	1,8	TOMLIN, 1994
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL50	48	5,4	TOMLIN, 1994
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL50	96	2,5	TOMLIN, 1994
	<i>Salvelinus fontinalis</i>	C	> 90dias	< 1 - 12	*STRATTON & GILES, 1990

CL: Concentração letal; CE: Concentração efetiva; C: Crescimento;

CP: crescimento populacional; C: crescimento; IM: imobilidade.

* apud SHEEDY, 1991.

3.6. Legislação

A legislação de agrotóxicos no Brasil é muito complexa, principalmente pelo fato que os produtos são avaliados pelos órgãos Ministério do Meio Ambiente, Ministério da Saúde e IBAMA.

Cada órgão do governo tem uma legislação específica, que exige determinados estudos para serem aprovados. Atualmente, a legislação federal de agrotóxicos é regida pela LEI 7802 de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 98.816, de 11 de janeiro de 1990, modificado pelo Decreto nº 991, de 24 de novembro de 1993, bem como a Portaria nº 333 do Ministério do Meio Ambiente, dos recursos Hídricos e da Amazônia Legal, de 11 de outubro de 1996, publicada no Diário Oficial da União de 14 de outubro de 1996. Segundo esta Legislação, os agrotóxicos são classificados, no que se refere à toxicidade humana e ambiental, em extremamente tóxico - Classe I; altamente tóxico - Classe II; mediantemente tóxico - Classe III e pouco tóxico - Classe IV.

O Ministério da Saúde tem algumas portarias, as quais são específicas para avaliação toxicológica. Cabe a esse avaliar e classificar toxicologicamente os agrotóxicos seus componentes e afins quanto ao aspecto de saúde humana e conceder o RET (Registro Especial Temporário), quando se tratar de uso em ambientes urbanos, industriais e domiciliares ou que impliquem questões de saúde pública.

O Ministério da Agricultura estabelece as diretrizes referentes à concessão e reavaliação de registros de agrotóxicos e seus componentes, além de fiscalizar e controlar a produção, importação e exportação e a qualidade dos agrotóxicos.

A fiscalização do cumprimento da legislação estadual e federal referente à agrotóxicos deve ser exercida pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

A Portaria Normativa nº 84, de 15 de Outubro de 1996 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, fica responsável em estabelecer procedimentos a serem adotados para efeito de registro e avaliação do potencial de periculosidade ambiental (ppa) de agrotóxicos, seus componentes e afins, segundo definições do Decreto nº 98.816. Nesta Portaria, estabelece-se que a avaliação dos riscos ambientais tem que ser feita continuamente e não apenas para fins de registro de produto. A classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental baseia-se nos parâmetros de bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico, carcinogênico, obedecendo a seguinte graduação: Classe I - Produto Altamente Perigoso; Classe II - Produto Muito Perigoso; Classe III - Produto Perigoso; Classe IV - Produto Pouco Perigoso.

O CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, em sua Resolução Nº 20/1986, que trata sobre classificação e enquadramento de corpos d'água, atualmente em revisão, não contempla o limite máximo permissível da concentração de permetrina na água,

considerado como importante para o monitoramento e classificação dos corpos de água, visto que a Constituição Federal proíbe o lançamento no meio ambiente de poluentes, em índices nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras fontes de vida.

A Portaria 518/MS/04 estabelece para limite máximo permissível de permetrina na água para consumo humano 20 µg/L, semelhante à Organização Mundial da Saúde.

3.7. *Chironomus xanthus* (Diptera: Chironomidae)

A ordem Diptera inclui os insetos nematócera holometábolos, cujos representantes apresentam, na fase adulta, hábito postural de manter levantadas as pernas anteriores, como se fossem braços estendidos.

A quase totalidade do ciclo de vida transcorre na água: após a deposição dos ovos, reunidos numa massa gelatinosa, inicia-se o período larval, com quatro instares, seguido por um curto período de pupa que termina na emergência do imago. O adulto, terrestre, vive poucos dias e desempenha exclusivamente funções reprodutivas. Como regra geral, os adultos não se alimentam. A duração do ciclo de vida é variável conforme a temperatura do ambiente, mas dura em média, aproximadamente, 17 dias (entre 19°C – 26°C) (STRIXINO & STRIXINO, 1995).

Esses organismos em sua fase larval vivem no fundo de lagos ou associados à vegetação costeira, presa aos caules e folhas de plantas ou no interior de tubos que eles constroem fixando partículas do fundo à seda secretada por suas glândulas salivares. Por meio de ondulações do corpo a água flui através do tubo, permitindo a passagem de partículas orgânicas e algas que constituem seu principal alimento.

As larvas de Chironomidae desempenham um importante papel no metabolismo intermediário de um lago, pois o lodo do fundo passa através de seu trato digestivo. Desta maneira, grande parte da matéria orgânica é extraída do fundo. Portanto, essas larvas tornam os detritos orgânicos disponíveis para outras formas de vida maiores que as utilizam como alimento (STRIXINO, 1973). Deste modo, se o sedimento se encontra contaminado com algum composto químico, será diretamente transferido para os outros animais da cadeia trófica, mesmo que estes não estejam em contato direto com o sedimento. Possuem uma ampla distribuição e freqüentemente são os mais abundantes insetos de água doce (ARMITAGE *et al.*, 1995). Em certas condições, tais como baixo nível de oxigênio dissolvido, as larvas de *Chironomus* podem ser os únicos insetos bentônicos presentes no sedimento. Condições extremas de temperatura, pH, salinidade, profundidade, velocidade da corrente, tem sido habitadas por larvas de algumas espécies de *Chironomus*. Algumas espécies vivem em áreas glaciais de grandes montanhas, incluindo alturas de mais de 5600m e são ativos a temperaturas de -16°C .

Nos ambientes dulciaquícolas (rios, riachos, corredeiras, nascentes, lagos, lagoas, reservatórios, brejos, alagados permanentes e temporários), as larvas colonizam, basicamente, o sedimento e a vegetação aquática, mostrando ampla faixa de condições nas quais podem viver, o que reflete a elevada capacidade adaptativa do grupo. Entre os habitantes do fundo de lagos, as larvas de quironomídeos ocupam lugar de destaque (STRIXINO, 1973).

Por estas características, são considerados bioindicadores e utilizados para testes de toxicidade do sedimento, depósito final dos contaminantes nos ambientes aquáticos.

3.8. *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Cladocera: Crustácea)

Os organismos da Ordem Cladocera são na maioria planctônicos, havendo espécies bentônicas e também relacionadas à zona litorâneas, apresentando tamanho reduzido e capacidade de locomoção limitada. Vivem quase que exclusivamente em água doce e constituem, juntamente com outros microorganismos, a unidade básica da produção secundária dos ecossistemas aquáticos, formando um importante elo entre o fitoplâncton e os consumidores secundários e carnívoros, apresentando grande impacto sobre a produtividade aquática.

Estes organismos são componentes importantes da cadeia alimentar, servindo de alimento para larvas e crustáceos bentônicos e peixes planctófagos. Devido alimentarem-se de fitoplâncton, podem indicar a produção primária numa área em função de sua densidade, isto é, se encontramos muitos Cladoceros no ambiente, isto significa que há alimento disponível para o aumento dessa população.

Algumas espécies são bioindicadoras de qualidade das águas, de fácil cultivo em laboratório, com ciclo de vida curto, facilitando a utilização como organismos-teste em testes toxicológicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Avaliação da toxicidade do agrotóxico permetrina

A avaliação da toxicidade da permetrina formulada na água foi efetuada através de ensaios de toxicidade aguda para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus* e no sedimento através de ensaios de toxicidade crônica para *Chironomus xanthus* através do teste com sedimento enriquecido, utilizando o produto formulado e o padrão de permetrina.

4.2. Substância-teste: permetrina

As informações encontradas na ficha técnica da formulação fornecida pelo comerciante encontram-se na TAB.3. As concentrações-teste foram preparadas considerando a quantidade de permetrina existente na formulação, proporcionalmente.

O padrão utilizado foi a cis-permetrina, fabricado pelo Laboratory of the Government Chemistry - LGC, Queens Road, Teddington, Inglaterra, comercializado pela Supelco. Na TAB.4 estão apresentadas as características da permetrina segundo estudo realizado pela *European Union System for the Evaluation of Substances* (EUSES, 2004).

TABELA 3 - Informações disponíveis da formulação.

Informações da Formulação	
<i>Composição do Produto</i>	Permetrina, 38,4%; Inertes, Q.S.P.
<i>Número de Registro</i>	3.0750.0014.001-5
<i>Tipo de Formulação</i>	Concentrado Emulsionável
<i>Grupo Químico</i>	Éster do ácido crisantêmico
<i>Ação Toxicológica</i>	Hipersensibilizante, irritante das mucosas.
<i>Tratamento</i>	Anti-histamínico e tratamento sintomático.
<i>Nome Técnico ou Comum</i>	PERMETRINA (Permethrin)
<i>Sinonímia</i>	FMC 33297, NRDC 143, Pounce.
<i>Nome Químico</i>	3-fenoxibenzil (+) cis, trans-3-(2,2-diclorovinil)2,2-dimetilciclopropano carboxilato.
<i>Fórmula Bruta</i>	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$
<i>Classificação toxicológica</i>	Classe III *
<i>Densidade</i>	1,190 a 1,272 a 20° C
<i>Peso molecular</i>	391,3

* De acordo com a Legislação: Moderadamente tóxico.

TABELA 4 – Propriedades da permetrina (EUSES, 2004).

PROPRIEDADE	PERMETRINA
Solubilidade (ppm)	0,07
Pressão de vapor (mm Hg)	$2,15 \times 10^{-8}$
Constante Henry's (Atm·m ³ /mol)	$1,6 \times 10^{-7}$
Hidrólise	
pH 5	Estável
pH 7	Estável
pH 9	40 – 60 dias
Fotólise em água	80 dias
Fotodegradação em solo	> 30 dias
Metabolismo em solo aeróbio	37 dias
Metabolismo em solo anaeróbio	204 dias
Mobilidade	Imóvel
Solos testados	5
Bioacumulação - comestível	230 x
Vísceras (não comestível)	1000 x
Peixe inteiro	610 x
Volatilização	17 dias
Dissipação em campo terrestre	43 dias

4.3. Avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

A metodologia adotada para os testes agudos seguiu os procedimentos descritos nas normas da ABNT (1993), EPA (1993).

Foram expostas cinco jovens com menos de 24 horas e mais de 6 horas de vida nas concentrações-teste com quatro réplicas cada, em tubos de ensaios, aferidos para 10 mL. A água de diluição utilizada foi destilada e reconstituída para dureza 44 mg L⁻¹ CaCO₃.

Os valores de concentrações inicialmente escolhidos para os testes preliminares foram em concentrações de: 0,01; 0,10; 1,00; 10,0 e 100 ppm. Posteriormente, as concentrações foram refinadas para: 0,0001; 0,0010; 0,0100 e 0,1000 ppm, sendo determinadas para os testes definitivos as concentrações: 0,001; 0,004; 0,016; 0,063 e 0,100 ppm. Foram realizados cinco testes, número mínimo recomendado pela EPA (2000) para obtenção da faixa de toxicidade.

Os parâmetros químicos e físicos da água, pH, OD, condutividade foram determinados no início e ao final dos ensaios.

4.4. Avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

A metodologia adotada fundamentou-se nas normas da EPA (1993) e ABNT (1995). Foram expostas 5 jovens em quatro réplicas por concentração em tubos de ensaio com 10 mL. A água utilizada foi destilada com dureza reconstituída para 44 mg L⁻¹ CaCO₃.

As primeiras concentrações utilizadas para o teste preliminar foram 0,1; 0,01; 0,001 e 0,0001 ppm. Seguiu-se a realização de mais um teste preliminar, com as seguintes concentrações: 0,005; 0,0025; 0,001; 0,0005 e 0,00025 ppm, a partir das quais foram determinadas as concentrações para os testes definitivos: 0,001; 0,00125; 0,00156; 0,002 e 0,0025.

Os parâmetros químicos e físicos da água, pH, OD, condutividade foram determinados no início e ao final dos ensaios.

4.5. Avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

A metodologia adotada foi adaptada da norma da EPA (2000), que utiliza como organismos-teste outras espécies de *Chironomus*, endêmicos de ambientes temperados, cultivados a uma temperatura de 23°C e com um ciclo de vida maior, em torno de 60 dias. A TAB.5 apresenta um resumo da metodologia do teste.

Os testes preliminares foram realizados com as seguintes concentrações (ppm):

1º teste: 0,001; 0,010; 0,100; 1,000; 10,00 e 100,0;

2º teste: 0,0001; 0,0010; 0,0100 e 0,1000;

3º teste: 0,00005; 0,00010; 0,00025; 0,00050; 0,00100; 0,00250 e 0,00500;

Para os testes definitivos, foram escolhidas as seguintes concentrações: 0,00025; 0,00035; 0,00048; 0,00067 e 0,00093 ppm.

Os parâmetros químicos e físicos da água, pH, OD, condutividade foram determinados no início e ao final dos ensaios.

**Tabela 5 - Teste de toxicidade aguda com *Chironomus xanthus*
(Adaptado de EPA, 2000).**

Parâmetros	Condições
1. Tipo de teste	agudo em água
2. Diluições	controle e 5 concentrações
3. Substância de referência	Dicromato de Potássio e Cloreto de Sódio
4. Temperatura	24 ± 1° C
5. Fotoperíodo	16 h luz
6. Renovação de água	sem renovação; estático
7. Idade do organismo	2-3° instar
8. Câmara teste	béquero de 30 mL cobertos com papel filme
9. Volume de água	20 mL
10. Número de organismos/câmara	1
11. Número de réplicas por tratamento	10
12. Alimentação	0,10 mL (50 g/L TetraFin®) no dia 0 e 2
13. Substrato	sedimento suficiente para cobrir o fundo do béquer
14. Aeração	sem
15. Água de diluição	água reconstituída com dureza 10 mg L ⁻¹ CaCO ₃
16. Parâmetros da água monitorados:	
- diários	temperatura
- início e final do teste	dureza, condutividade, O. D. e pH
17. Duração do teste	96h
18. Efeito	letalidade (CL50)
19. Aceitabilidade do teste	10% letalidade no controle

4.6. Avaliação da toxicidade crônica para *Chironomus xanthus* - Teste com sedimento enriquecido - “Spiked-sediment”

A metodologia adotada seguiu os procedimentos descritos na OECD G 218 “*Sediment-Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment*” (2004), utilizado para avaliar os efeitos de exposição prolongada por substâncias químicas para larvas de *Chironomus* sp.

4.6.1. Caracterização do sedimento-teste

O sedimento padrão utilizado neste trabalho, foi coletado próximo à Represa do Broa, em São Carlos, S.P., utilizando pás de plástico. Em laboratório, o sedimento foi peneirado com peneira de 2 mm, lavado com água corrente e calcinado a 500 °C por duas horas para a eliminação da matéria orgânica. As coletas foram orientadas pela Universidade

Federal de São Carlos - UFSCAR e pela Escola de Engenharia de São Carlos - USP, que utilizam o mesmo sedimento para cultivo.

As análises da distribuição granulométrica de massa, segundo intervalos definidos na escala de Wentworth, a partir da norma CETESB L6.160 (1995), e as análises químicas de metais, segundo metodologia EPA - SW846-351A, do sedimento utilizado no trabalho foram realizadas pelo Laboratório de Análises Químicas e Ambiental no Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN.

4.6.2. Otimização da metodologia

Na TAB.6, encontram-se os procedimentos adotados na otimização da metodologia adotada para os ensaios com sedimento enriquecido a partir da norma da OECD (2004).

Modificações foram feitas quanto ao fornecimento e quantidade de alimento (TertraFin® 50 g L⁻¹). A espécie utilizada, *Chironomus xanthus*, possui o ciclo de vida mais curto por ser de ambiente tropical, diferentemente das espécies citadas pela norma, de ambientes temperados. Quanto a temperatura, a norma recomenda 23°C. No que se refere a alimentação, que seja diária.

TABELA 6 - Condições dos ensaios realizados de sedimento enriquecido com *Chironomus xanthus* (adaptação de procedimento da OECD, 2004).

Testes	Origem do sedimento	Tratamento do sedimento	Preparo do sedimento	Preparo da água	Sedimento-água	Recipiente-teste	Metodologia para marcar o sedimento	Fase de equilíbrio	Condições de incubação	Alimentação
1º teste preliminar	Broa	Calcinação 500° por 2 horas	-	Destilada reconstituída, dureza 10; pH7,0; OD8,0; Cond. 36	1:4	Béquer de vidro de 600 mL com 15 cm de diâmetro	100,0; 10,0; 1,00; 0,10 ; e 0,01 mg/Kg adicionado no sedimento seco/rapidamente	7 dias	25 (± 1) aeração constante	Diária
2º teste preliminar	Broa	Calcinação 500°/ 2 h	Adição de 1% de ác. húmico	idem	idem	idem	Mistura de 30% do sedimento com a concentração do agrotóxico com 30 mL de água. Restante do sedimento por 1 h.	idem	idem	Dias alternados Com aumento gradativo
3º teste preliminar	Broa	Calc. 500°/ 2h	1% ác. húm	idem	idem	idem	Idem com padrão	idem	Idem	idem

4.6.3. Preparo do sedimento-teste

Nos procedimentos da Norma da OECD G 218 (2004) e em trabalhos realizados por RIBEIRO, *et al.* (1999) e GORRIE & BIDWELL (2000), a matéria orgânica no sedimento não deve exceder a concentração de 2%. A OECD sugere a utilização de musgo seco e triturado ao sedimento, onde este deve ficar dois dias em água corrente após a adição do musgo, antes da utilização no teste. Como o musgo comercializado no Brasil em lojas de produtos agropecuários, não possui garantia de pureza podendo possuir contaminantes como agrotóxicos, interferindo nos resultados do trabalho, foi utilizado como matéria orgânica a adição de ácido húmico fabricado e fornecido pela MERCK, procedimento alternativo recomendado pela OECD.

4.6.4. Concentração-teste

Foram realizados testes preliminares para determinação das concentrações definitivas, que foram escolhidas a partir dos resultados obtidos. A água de diluição utilizada foi destilada e reconstituída para dureza de $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

As concentrações preliminares foram 100,0; 10,0; 1,00; 0,10 e 0,01 mg/Kg da formulação. Para o teste com o padrão de permetrina foram utilizadas as mesmas concentrações preliminares.

Para a realização dos testes definitivos foram escolhidas as seguintes concentrações: 0,06; 0,12; 0,25; 0,50 e 1,00 mg/Kg.

4.6.5. Organismo-teste

Três a quatro dias antes da adição dos organismos nos recipientes do teste, as desovas de *C. xanthus* foram separadas das culturas e colocadas em béquers com 100 mL da água do cultivo até a eclosão. Após, as larvas foram transferidas para uma cuba com 600 mL de água de cultivo para melhor visualização. Estas foram alimentadas com 2 mL de ração (Tertra-Fim 50 g L^{-1}). Ao final do tempo de equilíbrio água-sedimento do teste (7 dias), foram colocadas aleatoriamente dez larvas no primeiro ínstar em cada recipiente do teste, com pipeta. A aeração da água foi interrompida no momento da adição das larvas, conforme recomendação da OECD (2004) e reiniciada após 24 horas. Este detalhe deve-se ao fato das larvas muito pequenas podem ser levadas para fora da água pelas bolhas de ar, causando a morte das mesmas.

4.6.6. Alimentação

Nos ensaios definitivos a alimentação foi fornecida gradativamente, partindo de 0,25 no primeiro dia, para 0,50 e 1,00 mL na semana final do ensaio (TertraFin® 50 g L⁻¹).

4.6.7. Duração da exposição

O teste inicia com a adição das larvas no sedimento. A exposição máxima foi de 15 dias, na temperatura de 25°C(±1). Os testes foram finalizados depois de 5 dias da emergência do último adulto no controle, conforme recomendação da Norma OECD G 218 (2004).

4.6.8. Parâmetros biológicos

O primeiro ínstar larval de *Chironomus xanthus* foi exposto a várias concentrações de permetrina no sedimento. Antes de serem introduzidas as larvas nas soluções-teste, estas ficaram em equilíbrio por 7 dias. A emergência dos quironomídeos foi observada no final do teste. A sobrevivência larval e o crescimento não puderam ser verificados após 10 dias (usando réplicas adicionais), pois não foram encontradas larvas, que provavelmente morreram, sendo degradadas pela microflora presente.

O tempo de desenvolvimento e o número total de mosquitos emergidos foram determinados.

Os béqueres foram observados três vezes por semana e comparados com o controle para detectar alguma anormalidade de comportamento (como larvas fora do sedimento e natação fora do normal), até a primeira emergência, quando as observações passam a ser diárias. Após a contagem, os mosquitos foram removidos dos béqueres. O número visível de pupas que falharam em emergências também foi observado e registrado.

4.6.9. Manutenção do teste

Os recipientes do teste foram cobertos para evitar deposição de poeira e para que os mosquitos não voassem, contaminando outros cultivos do laboratório. Quando necessário, o nível de água foi completado para o volume inicial com água destilada ou deionizada, de modo a compensar a evaporação e para prevenir o aumento de sais. O pH e a temperatura foram medidos em todos os recipientes, no início, após 7 e 10 dias e no final do teste. O OD foi medido em réplicas adicionais, no início, após 7 e 10 dias e no final do teste.

4.6.10. Critérios de aceitabilidade do teste

De acordo com a OECD (2004), para o teste ser aceito os seguintes requisitos devem ser observados: a emergência do controle não pode exceder a 30% ao final do teste; ao final do teste, a concentração de oxigênio dissolvido (OD) deverá ser 60% do valor da saturação do ar e o pH de 6-9 em todos os recipientes.

4.6.11. Determinação da concentração de permetrina na água

As análises foram feitas em dois momentos do ensaio: após o tempo de equilíbrio, 7 dias, e no final do experimento, depois de cinco dias da última emergência do controle.

Para a realização da determinação de permetrina na amostra líquida foi utilizada a técnica de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (HRGC) e detecção por captura de elétrons (ECD). A coluna utilizada para separação foi a de 5% Fenil, 95% polidimetilsiloxana de 30m de comprimento.

A amostra foi extraída com solvente apolar em banho ultra-sônico por 10 minutos e injetada nas condições analíticas desenvolvidas pelo Laboratório de Análises Químicas T&E.

4.7. Avaliação dos resultados

Para o cálculo da toxicidade aguda, onde se determina a CE ou CL(I)50; ou seja, a concentração de agente tóxico que causa imobilidade e/ou mortalidade, respectivamente, para 50% dos organismos expostos, no período de 24, 48 ou 96 horas, foi utilizado o programa computacional “LC50 Programs JSPear test” (HAMILTON *et al.*, 1977).

Os resultados relativos a emergência foram comparados com o controle para determinar a menor concentração de efeito observado (CEO) e a concentração de efeito não observado (CENO) pelo teste de *Steel* do programa computacional TOXSTAT.

4.8. Organismos-teste

4.8.1. *Chironomus xanthus*

4.8.1.1. Cultivo

As culturas de *Chironomus xanthus* foram mantidas em bandejas com fina camada de sedimento no fundo, 0,5 cm, 3 litros de água destilada reconstituída com dureza de 10mg.L⁻¹ de CaCO₃, pH 7,0 e aeração constante, em sala aclimatizada, com controle de temperatura de 24°C(± 1°) e fotoperíodo de 16 horas-luz. No início da implantação do cultivo de *C. xanthus*, o fotoperíodo não obedecia a condição claro e escuro, ficando durante 16 horas no claro e oito horas sob uma luminosidade baixa, devido a câmara germinadora de algas ficar acesa durante todo o período.

A manutenção foi feita em dias alternados (segundas, quartas e sextas), quando os organismos eram alimentados (TertraFin® 50 g/L) e a troca parcial da água realizada. As desovas, número de indivíduos e a temperatura da sala eram registradas. O cultivo das larvas era iniciado no primeiro dia da semana. Após seis dias as larvas eram alimentadas em dias alternados (segundas, quartas e sextas). Antes das larvas se transformarem em pupa (± 14

dias), um número de no máximo vinte larvas eram transferidas para a cultura nas bandejas cobertas com telas de nylon para os mosquitos não fugirem e se acasalarem. Os organismos utilizados para testes eram retirados dessas cubas, conforme o ínstar selecionado para a montagem do teste, ou seja, primeiro ínstar para os ensaios crônicos e segundo ínstar para os ensaios agudos.

4.8.1.2. Alimentação

O alimento foi preparado com ração para peixes TetraFin®, na proporção 50g/L com validade de 15 dias. Para o preparo do alimento macerou-se 5 gramas de ração em um cadinho de porcelana, até obter um pó fino, que foi adicionado a 100 mL de água destilada e mantido em geladeira. Na bandeja de cultivo foram fornecidos 5 mL, às segundas, quartas e sextas. Nas cubas de cultivo das larvas era fornecido 1 a 3 mL, também em dias alternados.

4.8.1.3. Determinação dos ínstares

Para a determinação dos ínstares de *Chironomus xanthus*, foi retirada uma desova e mantida em placa de Petri com água de cultivo até eclosão das larvas. Posteriormente foram separadas 100 larvas para uma cuba com água destilada reconstituída com dureza 10mg.L⁻¹ CaCO₃ e 100 larvas em outra cuba com uma fina camada de sedimento e a mesma água, com pH 7,0, oxigênio dissolvido em torno de 8,0 mg L⁻¹ e 32 µ S⁻¹ de condutividade elétrica, sendo mantidos nas condições de cultivo descritas. Durante dez dias, foram retiradas diariamente três larvas e obtidas as medidas da carapaça da cápsula cefálica em microscópio.

Segundo STRIXINO (1973), as quatro fases larvais de Diptera podem ser reconhecidas por diferenças do tamanho da cabeça, já que o comprimento do corpo pode variar grandemente dentro de uma mesma fase. Isso é possível porque as partes duras somente

crecem nas épocas de muda, quando o exoesqueleto é relativamente mole, ao passo que o corpo da larva, mais mole que a cabeça, aumenta gradualmente à medida que o animal cresce. Assim, cada ínstar terá uma cápsula de cabeça de tamanho característico.

De acordo com os estágios estipulados para a realização dos testes, ou seja, segundo-terceiro ínstar para ensaios de toxicidade aguda e primeiro ínstar para os ensaios crônicos as desovas eram separadas e mantidas em recipientes próprios: béqueres com 100 mL da água de cultivo e cubas com 600 mL para larvas eclodidas. Como o objetivo era a determinação dos três primeiros ínstares, o experimento teve duração de 10 dias, quando inicia-se o quarto ínstar larval antes da pupa e emergência do mosquito adulto.

Os parâmetros da água de cultivos eram ajustados antes da manutenção das culturas. As planilhas de manutenção encontram-se em anexo.

4.8.1.4. Controle da qualidade das culturas de *Chironomus xanthus*

4.8.1.4.1. Determinação da faixa de sensibilidade

Para o controle das condições fisiológicas de espécies em testes de toxicidade, é necessário a realização de testes com uma substância de modo a verificar se a mobilidade ou mortalidade encontra-se dentro do intervalo conhecido para espécie.

Com o objetivo de determinar a faixa de sensibilidade nas condições de cultivo de *Chironomus xanthus*, foram realizados testes com Dicromato de Potássio e Cloreto de Sódio. A metodologia utilizada para a realização dos testes foi a mesma utilizada nos testes de toxicidade aguda, conforme descrita no item 4.5.

Os ensaios com as substâncias de referência devem ser realizados periodicamente como medida para garantir que o teste e as condições de teste sejam aceitáveis (EPA, 2000).

Para a determinação das concentrações do teste, também foram realizados testes preliminares com as substâncias de referência. Para Cloreto de Sódio, utilizou-se as seguintes concentrações: 0,1; 1,0; 5,0; 10; 15 mg.L⁻¹. Posteriormente, a faixa foi refinada sendo adotadas as seguintes concentrações: 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10 mg.L⁻¹. A partir destas últimas puderam ser estabelecidas as concentrações definitivas: 1,00; 1,65; 2,70; 4,50; 7,40 mg.L⁻¹.

Para Dicromato de Potássio, também foram realizados testes preliminares. As primeiras concentrações foram: 0,10; 1,00; 10,0; 20,0; 100 mg.L⁻¹. Após foram escolhidas as seguintes concentrações: 1,0; 5,0; 10; 20 mg.L⁻¹. Para a realização dos testes definitivos foram estabelecidas as concentrações para o teste de sensibilidade: 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 mg.L⁻¹.

4.8.1.4.2. Carta-controle

A partir dos resultados obtidos nos testes de sensibilidade, uma carta-controle foi estabelecida. Em um gráfico foram plotados os valores sucessivos dos resultados dos testes de sensibilidade de modo a verificar se os resultados estão dentro dos limites prescritos (± 2 desvios-padrão) (EPA, 2000).

4.8.1.4.3. Fecundidade

STRIXINO (1980), através de estudos sobre a fecundidade (número de ovos por desova) de *Chironomus sancaulensis* sp, propôs um método para se calcular o número médio de ovos por desova, o qual também serve para controle da qualidade das culturas, podendo se observar aumento ou diminuição da fecundidade e fertilidade (número de ovos que geram embriões), como segue:

$$N = \frac{a \cdot n}{4} + \frac{b \cdot n}{2} + \frac{c \cdot n}{4} + s, \text{ onde:}$$

N= número de ovos da massa ovígera

n= número de “voltas” da massa

a= número de ovos em meia volta de extremidade livre

b= número de ovos em meia volta no centro a massa

c= número de ovos em meia volta da extremidade fixa

s= sobras de ovos em voltas incompletas nas extremidades

As contagens foram realizadas sempre na lupa.

4.8.2. *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*

A metodologia adotada para cultivos e testes seguiram os procedimentos descritos nas normas CETESB (1992), EPA (1993) e ABNT (1995).

Os cultivos são mantidos em água natural com dureza ajustada para 44 mg L⁻¹ CaCO₃, alimentados diariamente com a alga *Selenastrum capricornutum* na proporção de 10⁻⁵ cel L e realizada a troca de água em dias alternados.

5. RESULTADOS

5.1. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para *Daphnia similis*

A CE50;24h estimada para a formulação de permetrina foi no valor médio de 0,0011 ppm (0,0003-0,0020), já a CE50;48h foi no valor médio de 0,0003 ppm (0,0002-0,0004) (TAB.7).

O coeficiente de variação expressa a variabilidade intralaboratorial. Os valores de CE50;48H para *D. similis* apresentaram uma variação de 56% (24h) e 33% (48h).

D. similis apresentou como resultado de sensibilidade o valor médio de CE50;48H 0,11 mg L⁻¹ de Dicromato de Potássio (0,052 – 0,169 mg L⁻¹), encontrando-se dentro da faixa de sensibilidade estabelecida no Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN. As planilhas dos ensaios de toxicidade dos organismos encontram-se no ANEXO 1.

TABELA 7 - Valores de CE50;24h e 48h (ppm) do agrotóxico permetrina para *Daphnia similis* em ensaios estáticos de toxicidade aguda a 20°C (±1°C).

Teste n°.	CE50; 24h (Intervalo confiança)	CE50; 48h (Intervalo confiança)
1*	0,032 (< menor concentração)	0,0010 (< menor concentração)
2**	0,0008 (0,0004-0,0014)	0,00028 (0,00022-0,00035)
3***	0,0003 (0,0002-0,0004)	0,0004 (0,00031-0,00058)
4***	0,0017 (0,0009-0,0020)	0,0002 (< menor concentração)
5***	0,0010 (0,0006-0,0015)	0,0002 (< menor concentração)
6***	0,0009 (0,0006-0,0014)	0,0003 (0,00023-0,00040)
7***	0,0020 (0,0011-0,0038)	0,0003 (0,00018-0,00052)
CE Testes Definitivos	0,0011	0,0003
Desvio Padrão	0,0006	0,0001
Coeficiente de variação	56%	33%
Faixa de sensibilidade	0,0003 – 0,0014	0,0002-0,0004

Obs.: Concentrações utilizadas nos testes preliminares:

*1° teste preliminar: 0,001; 0,010; 0,010; 1,00; 10,00 ppm;

**2° teste preliminar: 0,00001; 0,0001; 0,0010; 0,0100 ppm;

***Teste definitivo: 0,0001; 0,0004; 0,0016; 0,0063; 0,0100 ppm.

5.2. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para *Ceriodaphnia dubia*

Nos resultados dos testes, as primeiras 24 horas foram decisivas, causando mortalidade para a maior parte dos indivíduos. A CL50;24h média estimada foi de 0,0002ppm (0,0001-0,0002ppm) e a CL50;48h média foi de 0,0001ppm (0,0001-0,0001), como se observa na TAB.8.

C. dubia apresentou como resultado de sensibilidade o valor médio de CL50;48h 1,38 g L⁻¹ de NaCl, encontrando-se dentro da faixa estabelecida pelo Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN. As planilhas dos testes de toxicidade estão no ANEXO 1.

TABELA 8 – Valores de CL50;24 e 48h (ppm) do agrotóxico permetrina para *Ceriodaphnia dubia* em ensaios estáticos de toxicidade aguda a 25°C (±1°C).

Teste n°.	CL50;24h (Intervalo de confiança)	CL50;48h (Intervalo de confiança)
1*	0,00014 (0,00065-0,00028)	0,00051 (0,00020-0,00021)
2**	0,000157 (0,000145-0,000170)	NR
3***	0,000187 (0,000178-0,000198)	< menor concentração
4***	0,000196 (0,000182-0,000210)	< menor concentração
5***	0,000162 (0,000144-0,000181)	0,000106 (0,000869-0,000129)
6***	0,000169 (0,000148-0,000191)	0,000117 (0,000106-0,000129)
7***	0,000157 (0,000146-0,000169)	0,000109 (0,000104-0,000115)
CE médio - Testes Definitivos	0,0002	0,0001
Desvio Padrão	0,006	0
Coeficiente de variação	10%	8%
Faixa de sensibilidade	0,0001-0,0002	0,0001-0,0001

Obs.: Concentrações utilizadas nos testes preliminares:

*1° teste preliminar: 0,0001; 0,0010; 0,0100; 0,1000 ppm;

**2° teste preliminar: 0,00025; 0,00050; 0,00100; 0,00250; 0,00500 ppm;

***Teste definitivo: 0,00100; 0,00125; 0,00156; 0,00200; 0,00250 ppm.

NR: Não Realizado

5.3. Toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para *Chironomus xanthus*

A CL50;96h média estimada foi no valor de 0,0004 ppm de permetrina. Foram realizados três testes preliminares e cinco testes definitivos. A TAB.9 apresenta os valores de toxicidade obtidos nos ensaios realizados. As planilhas dos testes encontram-se no ANEXO 1.

TABELA 9 – Valores de CL50;96h (ppm) agrotóxico permetrina para *Chironomus xanthus* em ensaios estáticos de toxicidade aguda a 25°C (±1°C).

Teste n°.	CL50;24h (Intervalo de confiança)	CL50;48h (Intervalo de confiança)
1*	< menor concentração	< menor concentração
2**	< menor concentração	< menor concentração
3***	0,00045	(0,00025-0,00079)
4	0,00031	(0,00029-0,00037)
5	0,00044	(0,00037-0,00053)
6	0,00041	(0,00037-0,00045)
7	0,00041	(0,00034-0,00049)
8	0,00044	(0,00036-0,00054)
CL Testes Definitivos	0,00040	
Desvio Padrão	0,00030	
Coefficiente de variação	13%	
Faixa de sensibilidade	0,00031-0,00044	

Obs.: Concentrações utilizadas nos testes:

*1° teste preliminar: 0,001; 0,010; 0,100; 1,000; 10,00; 100,0 ppm;

**2° teste preliminar: 0,0001; 0,0010; 0,0100; 0,1000 ppm;

***3° teste preliminar: 0,00005; 0,00010; 0,00025; 0,00050; 0,00100; 0,00250; 0,00500 ppm;

Testes definitivos: 0,00025; 0,00035; 0,00048; 0,00067; 0,00093 ppm.

5.4. Avaliação da toxicidade crônica para *Chironomus xanthus* - Teste com sedimento enriquecido - “*Spiked-sediment*”

5.4.1. Implementação do Teste

Na implementação da metodologia da OECD (2004), alterações foram realizadas nos procedimentos quanto ao fornecimento do alimento. Também houve a necessidade de estabelecer um procedimento para enriquecer o sedimento pois este não se encontra descrito. A TAB.10 apresenta estes resultados obtidos a partir da realização de três ensaios considerados como preliminares.

Foi conduzido paralelo ao segundo teste preliminar, um teste com o padrão de permetrina para observar as possíveis diferenças entre o produto comercial e o princípio ativo. Este teste foi realizado nas mesmas condições e simultaneamente ao teste com a formulação, utilizando-se o mesmo lote de organismos. Os resultados observados não apresentaram

diferenças estatísticas e determinaram a mesma faixa de toxicidade para o padrão de permetrina e o produto comercial utilizado.

TABELA 10 – Ensaios estáticos crônicos realizados com *Chironomus xanthus* com sedimento marcado com permetrina a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).

Testes	Sedimento Origem	Sedimento Tratamento	Sedimento Preparo	Substância-teste Concentrações	Metodologia para marcar o sedimento com a substância-teste	Organismo-teste Alimentação	Resultados
1º Preliminar	Broa	Calcinação 500° por 2 horas	-	100,0; 10,0; 1,00; 0,10; e 0,01 mg/Kg	Concentrações adicionadas no sedimento seco	Diária	Teste cancelado por aparecimento de fungos
2º e 3º Preliminares	Broa	Calcinação 500°/ 2 h	Adição de 1% de ác. húmico	Idem Formulação e Padrão	Mistura de 30% do sedimento com a concentração do agrotóxico com 30 mL de água, seguida de adição do sedimento restante por 1 hora.	Dias alternados com aumento gradativo	Menor concent. que causou mortalidade: 0,10ppm Maior concent. que não causou mortalidade: 0,01ppm

5.4.2. Caracterização do sedimento padrão

A utilização de um sedimento referência natural, selecionado a partir dos resultados desse projeto, torna a estimativa da toxicidade mais próxima da realidade para estudos sobre comportamento dos contaminantes no ambiente.

A composição do sedimento do Broa verificada a partir da análise granulométrica, evidenciou 10% de areia grossa, 42% de areia média, 37% de areia fina e 11% de areia muito fina. Estas características conferem com os padrões recomendados pela Norma da OECD G 218 (2004).

Segundo estudos da qualidade de sedimentos realizados pela CETESB (2003) e Projeto Qualised (2003), os resultados das análises do teor de metais no sedimento do Broa encontram-se dentro dos padrões considerados não tóxicos, lembrando que não existe

nenhuma norma que estabeleça os limites padrões que leve um sedimento ser considerado como contaminado ou não, levando em consideração a própria formação geológica, onde a concentração de metais como ferro, por exemplo, podem ser altíssimas. E pela utilização desse sedimento no próprio cultivo de organismos desse trabalho e da Universidade Federal de São Carlos (FONSECA, 1991 e ALMEIDA, 2000) e pela Escola de Engenharia de São Carlos - USP (ESPÍNDOLA, 2004, Comunicação Pessoal) onde o mesmo sedimento foi utilizado, considera-se como adequado para os objetivos propostos neste estudo.

Os resultados das análises de granulometria e metais do sedimento encontram-se no ANEXO 2.

5.4.3. Alimentação

A OECD G 218 (2004) recomenda a alimentação diária no teste. No primeiro teste preliminar, foi realizada alimentação diária de 0,5 mL da ração o que ocasionou a formação de fungos nos recipientes dos testes, determinando o cancelamento por recomendação da Norma, onde o alimento deve ser suspenso ou o teste cancelado. Esta recomenda as concentrações de 0,25 a 0,50 mL como alimento diário para as larvas, que pode ser aumentado após os dez primeiros dias para as larvas mais velhas.

Na realização do segundo teste, realizado com a formulação, e no terceiro teste, com o padrão, a alimentação foi realizada em dias alternados com um aumento gradativo. No primeiro e terceiro dia foram fornecidos 0,25 mL, no quinto e sétimo, 0,5 mL e nos seguintes 1,0 mL de ração. Com os procedimentos adotados nos testes foi possível estabelecer a menor concentração que causou mortalidade (0,10ppm) e a maior concentração que não causou mortalidade (0,01ppm). As condições nas quais obteve-se estes resultados foram adotadas como definitivas para dar início a avaliação da toxicidade, sendo considerado o procedimento

como otimizado em todos os parâmetros estabelecidos no protocolo do OECD (2004). A TAB.11 apresenta os parâmetros estabelecidos para realização do teste com sedimento marcado a partir da otimização realizada.

TABELA 11- Condições dos ensaios realizados de sedimento marcado com *Chironomus xanthus* a partir de OECD (2004).

Parâmetros	Condições
1. Tipo de teste	Crônico
2. Diluições	Controle e 5 concentrações
3. Substância de referência	Dicromato de Potássio e Cloreto de Sódio
4. Faixa de Sensibilidade	Deve estar compreendido em um intervalo de 2σ em relação aos valores médios anteriormente obtidos nas condições estabelecidas
5. Temperatura	$25 \pm 1^\circ \text{C}$
6. Fotoperíodo	16 h luz
7. Renovação de água	Estático
8. Idade do organismo	1º instar
9. Câmara-teste	Béquer de vidro de 600 mL, 15 cm de diâmetro
10. Proporção Sedimento/Água	1:4
12. Número de organismos/câmara-teste	10
13. Número de réplicas/tratamento	4
14. Alimentação	0,25mL (50 g/L) em dias alternados
15. Sedimento	Natural calcinado, com adição de ácido húmico
16. Aeração	Com
17. Água de diluição	Água destilada reconstituída (Dureza $10\text{mg.L}^{-1}\text{CaCO}_3$)
18. Parâmetros da água monitorados:	
- diários	Temperatura
- início e final do teste	Condutividade, OD e pH
19. Duração do teste	5 dias, após a emergência do último adulto do controle
20.Efeito	Letalidade (CL50); CENO e CEO
21. Aceitabilidade do teste	- 30% letalidade no controle; - OD acima de 60% de saturação; - Variação de temperatura menor que 1°C .

5.4.4. Avaliação da toxicidade crônica

A partir dos resultados dos testes preliminares foram realizados dois testes para avaliação da toxicidade. Os resultados de emergência encontram-se na TAB.12. Os resultados das análises estatísticas nas TAB.13 e TAB.14. As planilhas dos ensaios encontram-se no ANEXO 2.

O valor de CENO obtido, ou seja, a concentração que não causou efeito, foi estimada ser menor que 0,06 ppm de permetrina no 1º teste e 0,12 ppm no segundo. A

concentração que causou efeito, ou seja, CEO, foi 0,06 ppm de permetrina no primeiro teste e a CEO de 0,25 ppm de permetrina no segundo teste.

TABELA 12 - Emergência de *Chironomus xanthus* obtidas nos testes com sedimento marcado com diferentes concentrações de Permetrina (Testes 1 e 2).

IDENTIFICAÇÃO	EMERGÊNCIA				
	N	Média	Mín	Máx	σ
<i>Chironomus xanthus</i> - TESTE Nº 1					
Controle	10	10,000	10,000	10,000	0,000
0,06%	10	8,000	7,000	9,000	0,816
0,12%	10	7,250	6,000	8,000	0,957
0,25%	10	4,250	4,000	5,000	0,500
0,50%	10	0,250	0,000	1,000	0,500
1,00%	10	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Chironomus xanthus</i> - TESTE Nº 2					
Controle	10	9,750	9,000	10,000	0,500
0,06%	10	9,000	8,000	10,000	1,155
0,12%	10	8,500	8,000	9,000	0,577
0,25%	10	4,500	4,000	5,000	0,577
0,50%	10	0,500	0,000	1,000	0,577
1,00%	10	0,000	0,000	0,000	0,000

TABELA 13 – Resultados do teste de Steel para os dados de emergência de *Chironomus xanthus* obtidos no teste com sedimento marcado com diferentes concentrações de Permetrina (Testes 1).

Grupo	Identificação	Média	Valor crítico	Significância
1	Controle	10,000	10,000	
2	0,06%	8,000	10,000	*
3	0,12%	7,250	10,000	*
4	0,25%	4,250	10,000	*
5	0,50%	0,250	10,000	*
6	1,00%	0,000	10,000	*

* diferença significativa ($p = 0,05$)

TABELA 14 – Resultados do teste de *Steel* para os dados de emergência de *Chironomus xanthus* obtidos no teste com sedimento marcado com diferentes concentrações de Permetrina (Testes 2).

Grupo	Identificação	Média	Valor crítico	Significância
1	Controle	9,750	10,000	
2	0,06%	9,000	10,000	
3	0,12%	8,500	10,000	
4	0,25%	4,500	10,000	*
5	0,50%	0,500	10,000	*
6	1,00%	0,000	10,000	*

* diferença significativa ($p = 0,05$)

A observação do crescimento não foi possível, pois após dez dias, não foi encontrada na réplica adicional da maior concentração testada nenhuma larva, provavelmente por estarem mortas e serem degradadas pela microflora existente.

Na TAB.15 encontram-se o tempo de desenvolvimento para espécies de *Chironomus* de regiões temperadas e de *Chironomus xanthus*. Observa-se que a temperatura é um fator determinante no tempo de desenvolvimentos destes insetos, quando maior, o desenvolvimento torna-se mais rápido. O tempo de desenvolvimento obtido neste trabalho está de acordo para estudos realizados com a mesma espécie por FONSECA (2004) e TRIVINHO-STRIXINO & STRIXINO (1985).

TABELA 15 - Tempo de desenvolvimento de *Chironomus* sp.

Espécie	Tempo de emergência (Dias)	Temperatura (°C)	Referência
<i>Chironomus reparius</i>	12 a 23	23(±2)	OECD, 2004
<i>Chironomus yoshimatsui</i>	12 a 23	23(±2)	OECD, 2004
<i>Chironomus tentans</i>	20 a 65 dias	23 (±2)	OECD, 2004
<i>Chironomus crassiforceps</i>	11	27°	*PECK <i>et al.</i> , 2002
<i>Chironomus xanthus</i>	15	25	TRIVINHO-STRIXINO & STRIXINO, 1985
<i>Chironomus xanthus</i>	13	23	FONSECA & ROCHA, 2004
<i>Chironomus xanthus</i>	40	15	TRIVINHO-STRIXINO & STRIXINO, 1985
<i>Chironomus xanthus</i>	13 a 15 dias	25(±2)	PRESENTE TRABALHO

* Apud FONSECA & ROCHA, 2004.

5.4.5. Critérios para aceitabilidade do teste

Os parâmetros para validar os testes foram atendidos como segue:

- *Mortalidade*: no controle não excedeu os 30% recomendados;
- *Teor de Oxigênio Dissolvido*: a concentração de oxigênio dissolvido se manteve entre 7 e 8;
- *pH*: Teor mínimo de 6,9 e máximo de 7,6, estando dentro da escala recomendada pela norma, ou seja entre 6 e 9, para todas as réplicas.
- *Temperatura*: Variação não maior que 1°C.
- *Sensibilidade*: Valores obtidos encontravam-se dentro da faixa de sensibilidade estabelecida pela carta-controle.

5.4.6. Observações

Não ocorreu a evaporação de água nos béqueres, não havendo a necessidade de reposição de água.

5.4.7. Determinação da permetrina na água

Nas condições analíticas otimizadas, ou seja, HRGC com detecção por ECD e extração em solvente apolar, o limite de detecção foi de 200 µg/L. Com esse limite não foi possível analisar as amostras, que estavam abaixo do limite de detecção.

5.5. Cultivo de *Chironomus xanthus*

O número médio de 20 larvas adicionadas por semana nas culturas de quironomídeos apresentou um ótimo resultado na reprodução e manutenção dos cultivos. A média de desovas que eram retiradas dos cultivos demonstra que não é necessário mais que 20 adultos para manter as culturas. No ANEXO 3 encontram-se as planilhas com os registros realizados.

5.5.1. Determinação dos instares

A duração dos estágios larvais estão de acordo com estudos realizados para a espécie por STRIXINO (1973) e FONSECA (1991) (TAB.16). A Tabela com o registro do tamanho da carapaça cefálica encontra-se no ANEXO 4.

TABELA 16 – Duração dos instares de *Chironomus xanthus*.

Condições de cultura de <i>Chironomus xanthus</i>	Tempo do instar (dias)				Autores
	I	II	III	IV	
23° C	0-4	4-6	6-8	8-12	FONSECA,1977
19 a 26° C	0-4	4-6	6-8	8-14	STRIXINO, 1982
25°C (±1°C)	0-3	4-6	7-10	-	PRESENTE TRABALHO

5.6. Controle da qualidade dos cultivos de *Chironomus xanthus*

5.6.1. Sensibilidade de *Chironomus xanthus* para Dicromato de Potássio

A partir dos resultados obtidos foram determinados os valores de CL50;96h de 0,019 g.L⁻¹ de Dicromato de Potássio para *Chironomus xanthus*. A TAB.17 apresenta os resultados obtidos. Na FIG.2 estão ilustrados o gráfico da sensibilidade e os desvios padrões esperados dentro do intervalo da faixa de sensibilidade dos organismos. No ANEXO 5 encontram-se as planilhas dos ensaios de sensibilidade. O coeficiente de variação dos resultados foi de 27%, dentro da faixa de precisão analítica esperados, entre 8 e 41% (EPA,2002).

TABELA 17 – Valores de CL50; 96h (g/L⁻¹) de Dicromato de Potássio para *Chironomus xanthus*.

Teste n°.	CL50; 96h	Intervalo de Confiança
1*	Não calculável	-
2**	Não calculável	-
3***	0,016	0,011-0,025
4***	0,020	0,010-0,020
5***	0,010	0,010-0,020
6***	0,016	0,010-0,027
7***	0,020	0,010-0,030
8***	0,027	0,020-0,040
9***	0,020	0,010-0,030
CL50 Testes Definitivos	0,019	
Desvio Padrão	0,005	
Coeficiente de variação	27%	
Faixa de sensibilidade	0,010 – 0,027	

Obs.: Concentrações utilizadas nos testes: *1º teste preliminar: 0,001; 0,010; 0,100; 0,200; 1,000 g.L⁻¹;

2º teste preliminar: 0,01; 0,05; 0,10; 0,20 g.L⁻¹; *Teste definitivo: 0,005; 0,010; 0,020 e 0,040; 0,080 g.L⁻¹.

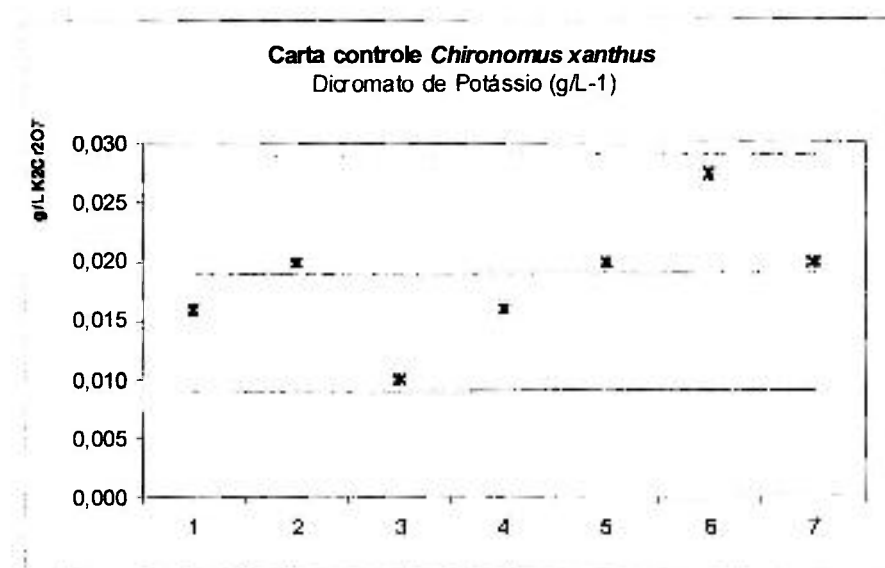


FIGURA 2 - Carta-controlre *Chironomus xanthus* para Dicromato de Potássio.

5.6.2. Sensibilidade de *Chironomus xanthus* para Cloreto de Sódio

Os resultados obtidos determinaram o valor médio de CL50;96h de 6,26 g.L⁻¹ de Cloreto de Sódio para *Chironomus xanthus*. Na TAB.18 estão os valores encontrados nos ensaios. A FIG.3 ilustra a faixa de sensibilidade e o desvio padrão dos testes realizados. As planilhas dos ensaios encontram-se no ANEXO 5. O coeficiente de variação dos resultados foi de 33%, dentro da faixa de precisão analítica esperados (EPA,2002).

5.6.3. Fecundidade

A média do número de ovos calculada em 57 desovas foi de 409 ovos por desovas, sendo o mínimo de 253 e o máximo de 538 ovos. STRIXINO (1989) calculou um número médio de 646 ovos para esta espécie em ambiente natural. A contagem para calcular o número médio dos ovos por desova encontra-se no ANEXO 6.

TABELA 18 – Valores de CL50;96h (g.L⁻¹) de Cloreto de Sódio para *Chironomus xanthus*.

Teste n°.	CL50; 96h	Intervalo de confiança
1*	6,30	5,07-7,84
2**	2,43	1,83-3,24
3***	4,40	3,79-5,10
4***	2,85	2,29-3,55
5***	3,56	2,62-4,82
6***	5,77	4,47-7,45
7***	3,50	2,03-6,06
8***	7,40	-
9***	8,18	6,94-9,64
10***	8,69	7,35-10,27
11***	6,70	5,32-4,43
12***	6,48	4,27-9,83
CL50 Testes Definitivos	6,26	
Desvio Padrão	2,08	
Coefficiente de variação	33%	
Faixa de sensibilidade	2,85 – 8,69	

*1° teste preliminar: 0,10; 1,00; 5,00; 10,00 e 15,00 g.L⁻¹;

**2° teste preliminar: 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 g.L⁻¹;

***Teste definitivo: 1,65; 2,70; 4,50; 7,40 e 12,20 g.L⁻¹.

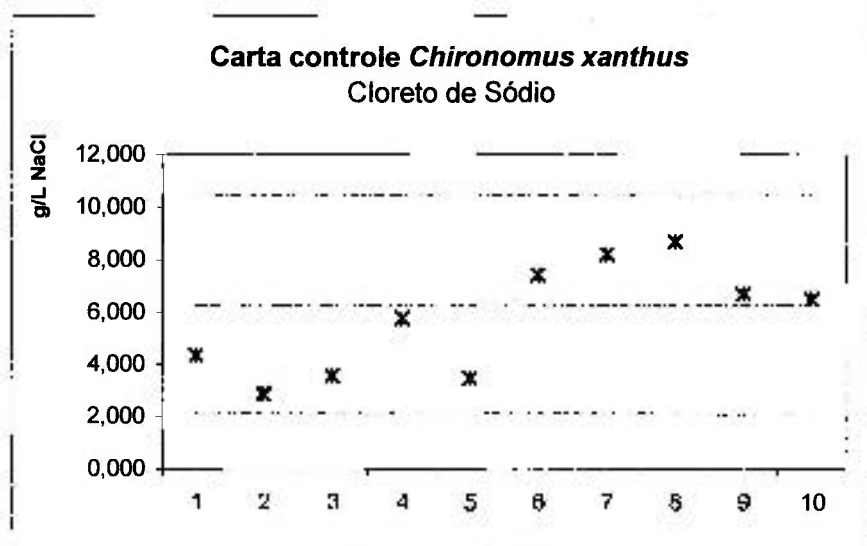


FIGURA 3 – Carta-control *Chironomus xanthus* para Cloreto de Sódio.

6. DISCUSSÃO

6.1. Avaliação da toxicidade aguda na água do agrotóxico permetrina para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*

Inseticidas piretróides sintéticos têm sido utilizados por mais de 20 anos para controle de pragas em uma variedade de cultivos (MAUND *et al.*, 2002). Historicamente, há uma preocupação a respeito da toxicidade para organismos aquáticos, principalmente para peixes e artrópodes, pelo alto grau de toxicidade observado em estudos de laboratórios (exposições por períodos de dias a semanas). Atualmente a EPA está avaliando o risco de piretróides para organismos que não são alvo dos inseticidas, principalmente os aquáticos (EPA, 1999).

Valores de CE/CL50 dessa substância para espécies zooplancônicas, autóctones e endêmicas de países tropicais, não são encontrados na literatura. Estes dados são importantes no estabelecimento de concentrações aceitáveis, de modo a permitir a preservação da vida aquática. Este parâmetro foi incluído na Portaria N.º 518/MS/04 que trata da potabilidade da água e proteção dos mananciais, baseado nos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde, que considera dados de países de clima temperados, e não os gerados no Brasil que na maioria não são divulgados.

A avaliação de risco ecológico envolve a tarefa difícil de estimar a probabilidade dos efeitos em um grande número espécies baseadas em dados de toxicidade para várias espécies representantes. Como as espécies diferem em sua sensibilidade aos contaminantes, pode-se supor que alguns serão mais e outras menos sensíveis do que a *Daphnia magna* e outras espécies padrões de teste. Quando os dados estão disponíveis para somente algumas

espécies, uma margem de segurança deve ser aplicada para esclarecer a sensibilidade desconhecida de espécie não testada. A falta da informação na variação na sensibilidade das espécies é assim a principal fonte da incerteza na avaliação de risco ecológico (ECOFRAM, 1999).

Na TAB.19 apresentam-se alguns valores de toxicidade da permetrina encontrados para espécies aquáticas de ambientes temperados e os resultados obtidos no presente trabalho.

TABELA 19 – Toxicidade de permetrina para organismos de ambientes temperados e no presente trabalho.

	Espécie	Parâmetro utilizado	DURAÇÃO TESTE - Horas	CONCENTRAÇÃO µg/L	Referências
Alga	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	CP	3 – 72	3910 - 391000	*GANGHI, 1988
Protozoa	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	CP	24 – 120	1000 - 10000	KUMAR, 1994
Inseto	<i>Anopheles stephensi</i>	CE50 IM	3 – 24	6,20 – 110,70	*MALCOLM, 1988
Peixes	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL50	48	5,4	TOMLIN, 1994
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL50	96	2,5	TOMLIN, 1994
	<i>Bluegill sunfish</i>	CL50	48	1,8	TOMLIN, 1994
Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	CL50	48	1,25	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
	<i>Daphnia magna</i>	CE50	48	1,06 – 0,43	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
Inseto	<i>Chironomus plumosus</i>	CL50	-	0,56	**ECOFRAM, 1999
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CL50	-	0,55	**ECOFRAM, 1999
Crustácea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CL50	48	0,55	*MOKRY & HOAGLAND, 1990
Inseto	<i>Chironomus xanthus</i>	CL50	96	0,40	PRESENTE TRABALHO
Crustacea	<i>Daphnia similis</i>	CE50	48	0,30	PRESENTE TRABALHO
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CL50	24	0,20	PRESENTE TRABALHO
	<i>Daphnia similis</i>	CE50	24	0,11	PRESENTE TRABALHO
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CL50	48	0,10	PRESENTE TRABALHO
Inseto	<i>Chironomus salinarius</i>	CL50	-	0,073	**ECOFRAM, 1999

CL: Concentração letal; CE: Concentração efetiva; CP: crescimento populacional; C: crescimento; IM: imobilidade; GM: média geométrica.

* apud SHEEDY, 1991, permetrina CAS#: 52645531.

**ECOFRAM, 1999 – microcosmos, exposição em pulsos.

Os valores de CE50 do inseticida para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* em 24 e 48 horas, apresentam diferenças na toxicidade em relação ao tempo de exposição dos

organismos. Quanto maior o tempo de exposição do organismo à substância tóxica, sua sensibilidade aumenta consideravelmente. A toxicidade da permetrina se expressa nas primeiras horas de contato com o organismo.

Estudos realizados por REYNALDI (2003), avaliando os efeitos letais posteriores a exposições curtas de *Daphnia magna* a piretróides mostram que a toxicidade imediata deste composto causa efeitos deletérios irreversíveis aos organismos. MEDINA (2003, Comunicação Pessoal), sugere a realização desses estudos de exposições em pulso, pois mimetizam a situação no ambiente depois da aplicação de agrotóxicos, sendo obtidos resultados relevantes. Como exemplo, pode ser citado a exposição de 1 hora à cipermetrina com copépodos, apresentando como resultado a mortalidade dos organismos até 120 horas depois da exposição.

Um número de fatores pode afetar a toxicidade e biodisponibilidade de piretróides e outros inseticidas lipofílicos na coluna d'água como a redução na exposição dos organismos planctônicos pela tendência dos piretróides se agregarem rapidamente e extensivamente em partículas em suspensão, sedimentos e plantas aquáticas (HILL, 1989; HAMER *et al.*, 1992; POWER, 1992; SOLOMON, 2001).

As espécies mais resistentes, de níveis tróficos mais elevados, precisam assimilar uma concentração maior do contaminante para sofrer um efeito agudo. Uma sensibilidade maior é observada em organismos bentônicos do que em microcrustáceos zooplanctônicos (MAUND *et al.*, 2002), provavelmente pela ingestão direta das partículas contaminadas e pelo fato da permetrina se agregar rapidamente ao sedimento, como comentado anteriormente.

A diferente resposta de toxicidade obtida para os organismos testados é causada pelos diferentes hábitos alimentares. Justifica-se o fato de que o mais sensível foi *Chironomus xanthus*, por a permetrina ser um agente lipofílico, precisa ser ingerido e absorvido através do

trato gastrointestinal (RAND & PETROCELLI, 1985). Os microcrustáceos filtram seu alimento ingerindo partículas orgânicas muito pequenas, diferente das larvas de quironomídeos, que ingerem grande quantidade de matéria particulada e precipitada, dessa forma absorvendo mais contaminantes, além de serem organismos bentônicos, onde no seu próprio habitat já existe uma maior quantidade de permetrina que na coluna d'água, por toda sua característica química já citada.

Segundo LARINI (1999), MAUND *et al.* (2002) e EUSES (2004), a permetrina sendo hidrofóbica e resistente à degradação nos ecossistemas aquáticos, tende a acumular-se nos sedimentos, reduzindo sua biodisponibilidade na coluna d'água. Além disso, também pode adsorver-se nas partículas em suspensão, partículas coloidais ou matéria orgânica dissolvida na coluna d'água, diminuindo sua biodisponibilidade para os organismos planctônicos (DAY, 1991).

Apesar dessa adsorção apresentar uma significativa diminuição de possíveis efeitos para os organismos da coluna d'água, isto aumenta a possibilidade dos organismos bentônicos e a fauna do sedimento sofrerem uma maior influência dos resíduos químicos que são adsorvidos nos sedimentos.

6.2. Avaliação da toxicidade de permetrina para *Chironomus xanthus* - teste com sedimento enriquecido - “Spiked-sediment”

6.2.1. Otimização das condições de teste

De modo a complementar a rotina dos ensaios de acordo com a norma da OECD e realizar adaptações necessárias para conduzir o teste, pois a metodologia se refere a países de clima temperado, testes preliminares foram realizados.

Na otimização dos testes observou-se influência na quantidade de alimento que foi fornecida aos organismos e o tempo de desenvolvimento da espécie utilizada nesse trabalho, pois os primeiros testes preliminares foram cancelados pelo crescimento dos fungos, onde a alimentação foi fornecida diariamente. Como os testes foram conduzidos a temperatura de 25°C, muito propícia ao desenvolvimento de microorganismos, como os fungos, ao contrário do que havia sido feito nos primeiros testes, o fornecimento diário de alimento foi modificado, alternando os dias de alimentação com um leve aumento da quantidade fornecida. Como o teste se inicia com as larvas no primeiro ínstar, a quantidade de alimento não deveria ser a mesma fornecida para uma larva no quarto ínstar, considerando ser maior e portanto, se alimentar em maiores quantidades.

A OECD e a EPA recomendam para o teste de sedimento enriquecido, a utilização de um sedimento formulado sintético para a eliminação de possíveis interferentes provenientes de sedimentos naturais. Para isso, é necessária a utilização de produtos devidamente certificados, que comprovem a pureza da composição.

A ASTM (2003), recomenda este método para testar organismos aquáticos no laboratório para avaliar a toxicidade dos contaminantes associados com os sedimentos naturais. O sedimento pode ser coletado do campo e enriquecido (“*spiked*”) com os compostos no laboratório.

Trabalhos anteriores em países de ambiente temperado utilizaram diversas formulações de sedimento para a realização destes testes, conforme comparação apresentada na TAB.20.

TABELA 20 - Composição de sedimentos sintéticos utilizados em ensaios com sedimento enriquecido.

Composição	Presente trabalho*	Ribeiro, 1999			Burton Lab, 2002	OECD	ChemRisk California	Tamanho grão
Areia	89%	74%	74%	50%	1242g/ 82%	75%	90,54%	1,0 - 0,125 mm
Ácidos húmicos/ Carbono orgânico	1%	0	0,01	0,02	0,15g/ 0,1%	Sem quantidade	1,81%	0,1-0,4 mm
Dolomita	10%	-	-	-	7,5g/ 0,5%	Sem quantidade	-	50 - 200 µm
Kaolin / Carb. de cálcio	-	25	25	40	-	20%	-	0,1 - 0,4µm
Alpha celulose	-	1	0,99	9,98	77,3g/ 5%	5%	-	0,1 - 0,4 mm
Silte e argila	1%				219g/ 14,5%	---	4,65% / 4,82%	< 0,063 mm

* Sedimento natural, Broa, São Carlos.

Como substrato para os cultivos foi utilizado sedimento proveniente de São Carlos, próximo à represa do Broa. Este vem sendo utilizado para os cultivos de *Chironomus xanthus* do laboratório de Ecologia Aquática do Centro de Recursos Hídricos da Universidade Federal de São Carlos. Levando em consideração a grande atividade agrícola do Estado de São Paulo, e que o desenvolvimento desse trabalho pretendeu contribuir como subsídio de proteção, fiscalização e monitoramento para os órgãos ambientais brasileiros, adotou-se a utilização de sedimentos naturais e provenientes do estado de modo que os resultados estimados pudessem refletir melhor o impacto causado pelos contaminantes à biota.

O primeiro teste preliminar foi realizado com o mesmo sedimento, sem o acréscimo da matéria orgânica, que foi considerada como o próprio alimento que foi fornecido diariamente durante o teste. Neste teste houve crescimento de fungos e foi cancelado. RIBEIRO *et al.* (1999), em estudo de novos sedimentos artificiais para testes com *Chironomus riparius*, em três tratamentos diferentes, observou que não havia alterações na toxicidade utilizando apenas o alimento como matéria orgânica, fornecendo alimento diariamente, em

ensaios conduzidos à temperatura de 23°C. A temperatura de 25°C e alimentação diária pode ter ocasionado o aparecimento de fungos, como já mencionado.

O segundo teste preliminar foi realizado com o mesmo sedimento do cultivo mas com a adição de 1% do peso seco do sedimento de ácido húmico, considerando como 1% de matéria orgânica no sedimento.

Foi conduzido um ensaio preliminar com o padrão de Permetrina para observar as possíveis diferenças entre o produto comercial e o princípio ativo. Este teste foi realizado nas mesmas condições e simultaneamente ao teste anterior, utilizando inclusive o mesmo lote de organismos. Os resultados observados não apresentaram diferenças estatísticas significativas e determinaram a mesma faixa de toxicidade para o padrão de permetrina e o produto comercial utilizado.

A partir destes ensaios preliminares foi possível estabelecer as concentrações definitivas para a realização dos ensaios e adotar o sedimento como padrão na realização dos testes, que apresentou sua característica semelhante à recomendada pela norma da OECD, conforme TAB.20.

6.2.2. Avaliação da toxicidade da permetrina

A Teoria do Equilíbrio de Partição explica que a maioria das substâncias químicas tendem a agregar-se no sedimento. MAUND *et al.* (2002), LARINI (1999), EUSES (2004) e MUIR *et al.* (1983), em estudos anteriores, verificaram que os piretróides se agregam rapidamente ao sedimento em questões de algumas horas.

A medição da adsorção e da dinâmica e equilíbrio da permetrina são fatores importantes para entender a biodisponibilidade e toxicidade no sedimento. Estudos anteriores

tem mostrado que a adsorção dos piretróides é extensa e rápida, ocorrendo em maior parte em algumas horas (MUIR *et al.*, 1983, MAUND *et al.*, 2002).

Métodos tradicionais para avaliação de risco de pesticidas para organismos aquáticos enfocam estudos de efeitos ecológicos a partir de exposições de compostos químicos apenas em um compartimento aquático, a coluna d'água, não considerando a exposição de organismos bentônicos (EPA, 1999). Baseado na afinidade dos piretróides sintéticos aos sedimentos, a EPA identificou a necessidade de estudos de risco ambiental e potencial tóxico destes compostos no sedimento. Para isto foi criado um grupo de trabalho sobre piretróides: *Pyrethroid Working Group* (PWG), desenvolvendo um programa de estudos e avaliação de partição, biodisponibilidade e toxicidade de piretróides sintéticos no sedimento para organismos bentônicos.

No presente trabalho, os ensaios permaneceram por um período de sete dias para estabilização do equilíbrio da concentração de permetrina entre a água e o sedimento. O valor de CENO obtido, ou seja, a concentração que não causou efeito, foi estimada ser menor que 0,06 ppm de permetrina no 1º teste e 0,12 ppm no segundo. A concentração que causou efeito, ou seja, CEO, foi 0,06 ppm de permetrina no primeiro teste e a CEO de 0,25 ppm de permetrina no segundo teste. Os experimentos se mantiveram na faixa média de pH 7,5, com uma leve alteração que não ultrapassou pH 7,9 e não alcançou pH 7,0. De acordo com EUSES, 2004, a permetrina é estável a hidrólise em pH 5,7 e 7,6 em 25°C, além da meia-vida que foram calculadas serem maior que 200 dias para os isômeros cis/trans nas mesmas condições.

Estudar e comparar a toxicidade da Permetrina em sedimento e na água, foi o foco deste estudo. É de se esperar que dada à baixa solubilidade na água, a baixa mobilidade observada para todos os piretróides, e o coeficiente de adsorção elevado de solo/água observado para a maioria deles, estes produtos químicos permanecessem adsorvidos aos solos e

fossem liberados durante eventuais chuvas que causam a erosão do solo. Deste modo, considerando a ampla utilização desse produto na agropecuária em um país que apresenta predominantemente clima tropical (chuvas intensas em determinadas épocas do ano) e subtropical (no sul, com chuvas o ano todo) e levando-se em conta a irrigação das lavouras (frequentemente localizadas próximas a corpos d'água), poder-se-ia prever que este produto após ser carregado para o ambiente aquático, seria rapidamente agregado às partículas orgânicas e aos sedimentos desses ecossistemas. Conclui-se que se trata de um produto com grande risco ambiental por apresentar toxicidade aguda e crônica em baixas concentrações para organismos não-alvo.

Cabe no entanto, uma atenção especial para este produto, de modo a assegurar a qualidade da água para a vida aquática, admitindo que os valores das concentrações que causaram efeito tóxico são muito inferiores às estabelecidas pelo padrão de qualidade da água de 20 µg/L (Portaria Nº 518/MS/04), que além de ultrapassar os limites de toxicidade para os organismos aquáticos, apresenta um alto risco para a saúde humana.

A Ecotoxicologia tem a função de prever os caminhos dos compostos químicos sintéticos no ambiente e quais os efeitos ecológicos causados quando incorporados nos ecossistemas (CALOW, 1998). Várias metodologias, de campo e/ou laboratório, que contemplam uma dimensão ecológica, são utilizadas para investigar os efeitos físicos e químicos dos agentes tóxicos no ambiente, como para onde e como ele são carregados e permanecem..

A ação inespecífica dos piretróides pode levar a desequilíbrios como a eliminação de predadores naturais. Por outro lado, a contaminação das cadeias alimentares, através do acúmulo de agrotóxicos nos organismos, pode atingir espécies comercialmente relevantes

ocasionando a intoxicação no homem. Espécies resistentes a concentrações maiores de piretróides encontram-se normalmente no topo da cadeia alimentar, onde os processos de biomagnificação são evidenciados, favorecendo com que o alimento seja uma possível fonte de câncer. A Ecotoxicologia estuda os efeitos causados por agentes tóxicos nas espécies presentes nos ecossistemas, não tendo objetivo estudar efeitos em humanos, mas fornece informações extremamente importantes para a qualidade da vida.

De acordo com CALOW (1998), os ensaios ecotoxicológicos que contemplam estes resultados precisam ser regulamentados e normatizados, com protocolos bem definidos para garantir a utilização desses resultados através de programas inter-laboratoriais.

Atualmente, verifica-se no Brasil que os estudos ecotoxicológicos possuem proeminente atenção apenas no ponto de vista acadêmico. Especialmente, nos últimos anos, apesar do número reduzido de laboratórios, propostas de novas metodologias para prever o comportamento dos compostos tóxicos nos ambientes têm sido desenvolvidas e validadas, visando a normatização e uso pelos órgãos ambientais.

Neste trabalho, utilizou-se uma norma padronizada pela OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) elaborada por representantes de vários países, incluindo a EPA (*United States Environmental Protection Agency*) e um grande número de outras organizações internacionais envolvidas, em maior ou menor extensão, para a padronização e homogeneização de ensaios ecotoxicológicos, como, por exemplo: ASTM (*American Society for Testing and Materials*) e ISO (*International Organization for Standardization*).

No Brasil, algo semelhante vem sendo realizado, a partir das reuniões de um Comitê Especial da ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas, para padronizar

ensaios ecotoxicológicas, formado por profissionais do País. Uma iniciativa semelhante poderia ser fomentada de modo a criar um comitê que incluísse países de regiões tropicais.

6.3. *Chironomus xanthus* como organismo-teste

Os quironomídeos podem e devem ser considerados como espécies passíveis de serem utilizadas em avaliações de risco, pois são sensíveis a contaminantes, apesar de serem capazes de sobreviver a baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Apresentam significância ecológica, encontram-se amplamente distribuídos no Brasil e possuem importância econômica: são considerados como o principal alimento de peixes na natureza, incluindo espécies de interesse comercial. Podem ser cultivados especialmente para servirem de alimentos em viveiros, sem causar a hipereutrofização desses ambientes, sendo também utilizados para a remoção de matéria orgânica em lagoas de estabilização, por utilizarem a matéria orgânica na confecção de seus casulos (OLIVEIRA, Comunicação Pessoal, 2004). O fato de apresentarem ciclo de vida relativamente curto e estarem presentes na natureza durante todo o ano são aspectos importantes para que sejam recomendados como organismo-teste.

A partir do conhecimento da biologia e de métodos de cultivo desenvolvidos no país para *Chironomus xanthus* e para espécies de regiões temperadas, foram realizados cultivos com e sem sedimento, sendo observado o crescimento das carapaças cefálicas e o tempo de desenvolvimento, ou seja, em quantos dias as larvas atingem os primeiros ínstar de modo a utilizá-los nos testes de toxicidade. Como resultado, obteve-se que após o quarto dia, as larvas encontram-se no segundo ínstar, e no oitavo dia, no terceiro ínstar, não apresentando diferenças estatisticamente significativas no crescimento, indicando que podem ser cultivados na ausência ou presença de sedimento.

ALMEIDA (2002) e FONSECA (1997), cultivam *Chironomus xanthus*, com uma camada de dois a três centímetros de substrato em bandejas. BURTON (2001), em cultivos de *Chironomus riparius*, utiliza apenas uma fina camada de sedimento. No presente trabalho, optou-se pelo cultivo em uma fina camada de sedimento para facilitar a formação e observação dos casulos.

O tempo de desenvolvimento observado para *Chironomus xanthus* nos cultivos a 24°C (± 2) foi de 13 a 15 dias (TAB. 21). Segundo STRIXINO (1982), o desenvolvimento larval depende da temperatura do ambiente. Esses insetos possuem quatro ínstares larvais antes da pupa e emergência do adulto. Assim, como mostra a TAB. 21, a espécie possui diferentes tempos de desenvolvimento conforme a temperatura.

TABELA 21 - Tempo de desenvolvimento de *Chironomus xanthus*.

Espécie	Tempo de emergência (Dias)	Temperatura (°C)	Referência
<i>Chironomus xanthus</i>	40	15	* TRIVINO-STRIXINO & STRIXINO, 1985
<i>Chironomus xanthus</i>	15	25	* TRIVINO-STRIXINO & STRIXINO, 1985
<i>Chironomus xanthus</i>	13	23	FONSECA & ROCHA, 2004
<i>Chironomus xanthus</i>	13 a 15 dias	24 (± 2)	PRESENTE TRABALHO

* Apud FONSECA & ROCHA, 2004.

6.3.1. Controle da qualidade dos cultivos de *Chironomus xanthus*

Na realização de testes de toxicidade, a garantia da qualidade dos resultados envolve práticas de rotina já normalizadas, dentre as quais encontra-se a realização de testes agudos com substâncias de referência. A utilização destas substâncias permite avaliar a condição fisiológica dos organismos que serão submetidos a testes. Vários fatores, que são fundamentais para a manutenção dos organismos-teste, podem afetar a variabilidade dos

resultados dos testes de toxicidade, como a qualidade da água de cultivo, qualidade e quantidade de alimento, temperatura e oxigênio.

Os testes com substâncias de referência avaliam a toxicidade aguda, expressa pela CL(I)50 (Concentração Letal Inicial Mediana). Entre as substâncias de referência mais utilizadas encontram-se o Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$) e o Cloreto de Sódio (NaCl) (LEE, 1980). A partir da determinação da faixa de sensibilidade para uma espécie, a sensibilidade da espécie deverá ser avaliada periodicamente para o controle de qualidade dos cultivos e dos resultados dos testes (EPA, 2002). Caso o valor da sensibilidade se encontre fora da faixa estabelecida, o teste será invalidado, como também o lote de organismos utilizados, havendo a necessidade de ser novamente realizado com um novo conjunto de organismos.

No presente trabalho, testes de toxicidade agudos com *C. xanthus* foram realizados com Dicromato de Potássio e Cloreto de Sódio para a avaliação da sensibilidade e estabelecimento da carta-controle, prática que aos poucos vem sendo adotada no país, como requisito ao credenciamento de laboratórios de ensaio. O uso do Dicromato de Potássio como substância de referência é muito comum na avaliação da sensibilidade de microcrustáceos. No entanto, observa-se uma tendência no país pelo uso de substâncias menos tóxicas, como o Cloreto de Sódio, pela facilidade no manuseio e descarte. O Cloreto de Sódio não é reconhecidamente um dos contaminantes mais críticos, sendo que o uso em testes de sensibilidade deve-se principalmente a ação nos mecanismos de osmorregulação. Espécies de cladóceras de água doce como *Ceriodaphnia reticulata*, *C. dubia* e *Bosmina longirostris* realizam o controle osmótico conservando sua hemolinfa hiperosmótica em relação ao meio externo e reabsorvendo sais ingeridos com alimento pela glândula maxilar. Quando expostos a

uma salinidade alta, morrem por não conseguirem manter o mecanismo osmótico (ALADIN, 1991).

Os valores de CL50;96H de *Chironomus xanthus* para as substâncias de referência foram de 0,019 g/L de $K_2Cr_2O_7$ e de 6,26 g/L de NaCl (TAB.22). Verifica-se que os resultados para o Dicromato mostram que o valor é menor do que aquele apresentado por ALMEIDA(2002).

TABELA 22– Valores de CL50 96 horas de *Chironomus xanthus* para substâncias de referência.

Substância de referência	CL50 96h (g/L)	Referência
KCL	4,0	ALMEIDA, 2002
KCL	3,99 (2,6-6,4)	FONSECA, 1997
$K_2Cr_2O_7$	0,071 (0,0482-0,0941)	ALMEIDA, 2002
$K_2Cr_2O_7$	0,019 (0,010-0,027)	PRESENTE TRABALHO
NaCL	6,26 (2,85-8,69)	PRESENTE TRABALHO

É esperado ao longo do tempo que os limites, superior e inferior, estreitem gradualmente até atingir uma faixa estável. Sempre que ocorre uma aproximação dos valores com os limites estabelecidos deve ser verificada a qualidade dos cultivos. No entanto, uma possível mudança da faixa de sensibilidade ao tóxico de referência não deve ser descartada. Quando os resultados se encontram fora dos limites estabelecidos, o lote de organismos-teste é rejeitado, as causas investigadas (qualidade da água, alimento, fotoperíodo, etc) e um novo teste é realizado (EPA,2002).

A precisão analítica dos testes de toxicidade é expressa pelo coeficiente de variação sendo qualificada pela repetitividade (variabilidade intra-laboratorial) que descreve a

variação entre a repetição de testes com o mesmo composto químico no mesmo laboratório, sempre realizado pela mesma pessoa utilizando os mesmos equipamentos (EPA, 2002).

Os coeficientes de variação de 27 e 33% para Dicromato de Potássio e Cloreto de Sódio, respectivamente, encontram-se dentro da ordem de grandeza esperada. De acordo com a EPA (2002), resultados entre 8 e 41% são considerados ótimos.

A partir do 7º teste de sensibilidade com Cloreto de Sódio, foi realizada uma alteração no fotoperíodo dos cultivos, o que acarretou o cancelamento de três testes de sensibilidade e a observação de que a resistência dos cultivos havia aumentado, sendo necessário o aumento das concentrações utilizadas no teste e estabelecida uma nova faixa de sensibilidade. Deste modo, verifica-se que o fotoperíodo é uma variável crítica a influenciar a sensibilidade dos cultivos.

7. CONCLUSÕES

- A faixa de toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *Daphnia similis* expressa pela CE50;24H situa-se no intervalo de 0,0003-0,0020 ppm e a CE50;48H entre 0,0002-0,0004 ppm.

- A faixa de toxicidade aguda expressa pela CL50;24h do agrotóxico permetrina para *Ceriodaphnia dubia* situa-se no intervalo de 0,0001 e 0,0002 ppm e a CL50;48h entre 0,0001-0,0001.

- A faixa de toxicidade aguda (CL50;96h) do agrotóxico permetrina para *Chironomus xanthus* situa-se entre 0,00031 a 0,00044 ppm.

- O valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) para *Chironomus xanthus* nos testes com sedimento enriquecido situou-se entre 0,06 e 0,12 ppm de permetrina e o valor de CEO (Concentração de Efeito Observado) situou-se entre 0,06 e 0,25 ppm de permetrina.

- Os cultivos de *Chironomus xanthus* realizados em uma fina camada de sedimento facilitam a formação e observação dos casulos, o que reproduz uma situação mais próxima à natureza.

- O tempo de desenvolvimento observado para *Chironomus xanthus* nos cultivos a 24°C (± 2) situou-se entre 13 a 15 dias.

- A faixa de sensibilidade (CL;96h) de *Chironomus xanthus* para as substâncias de referências testadas situa-se no intervalo de 0,010 a 0,027 g.L⁻¹ para o Dicromato de Potássio e 2,85 a 8,69 g.L⁻¹ para o Cloreto de Sódio.

- O fotoperíodo é uma variável crítica a influenciar a sensibilidade dos cultivos de *Chironomus xanthus*.

- Para ensaios estáticos com sedimento enriquecido a temperatura de 25°C, recomenda-se o fornecimento de alimento em dias alternados de modo a evitar o aparecimento de fungos.

ANEXO

1

Testes de Toxicidade Aguda

Daphnia similis



Preparo de soluções - estoque e de soluções – teste para toxicidade aguda

Daphnia similis.

Substância-teste:	Água de diluição:	Responsável
Formulação permetrina	HDR dureza 44	Angélica

PREPARO DAS SOLUÇÕES-ESTOQUE

Concentração desejada da Solução-estoque	%	Volume da Amostra ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)	Volume de água de diluição (ml)
10000 ppm	0,01	0,026 da formulação	99,974
0,01		$0,01 \times 10000 = 100 \times 0,01$	99,990

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração desejada da Solução-teste (ppm)	Volume da Solução-estoque adicionado ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)				Volume de água de diluição (ml)
	V1	C1	V2	C2	
0,0001	1	0,01	100	0,0001	99
0,0004	4	0,01	100	0,0004	96
0,0016	16	0,01	100	0,0016	84
0,0063	63	0,01	100	0,0063	77
0,0100	100	0,01	100	0,0100	Sol. mãe



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

teste 1

Início do teste: 24/04/03		Final do teste: 26/04/03	
Água de cultivo e/ou de diluição		Amostra	
HDR	PH	Temp.	Formulação permetrina
Dureza 44	7,01	20°C	
		OD (mg L ⁻¹)	Responsável
		8,0	
		Cond. (μS cm ⁻¹)	Angélica/Vanessa
		130	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo																		pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas									48 horas														
	1	2	3	4	Total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,0	8,0		170	144						
A 0,0001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,8	8,0		130	144						
B 0,0004	0	0	0	0	0	0	3	3	3	0	9	45	7,01	7,8	8,0		130	144						
C 0,0016	0	3	2	2	7	35	5	5	5	20	100	7,01	7,8	8,0		130	144							
D 0,0063	3	2	5	3	13	65	5	5	5	20	100	7,01	7,8	8,0		130	144							
E 0,0100	3	5	5	5	18	90	5	5	5	20	100	7,01	7,8	8,0		130	144							
Resultados	EC(1)50;24H: 0,0029 (0,0019-0,0045)									EC(1)50;48H: 0,00429 (0,00315-0,00584)									Método estatístico utilizado: Sperman					



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

teste 2

Início do teste: 29/05/03		Final do teste: 31/05/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
HDR	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
Dureza 44	7,0	8,0	163
Amostra			Formulação permetrina
Responsável			Angélica/Patricia

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH	Cond. ($\mu\text{S/cm}$)		OD (mg/L)		
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	-	189	-	8,0	-
A 0,0001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	-	189	-	8,0	-
B 0,0004	0	0	2	0	2	10	5	5	5	5	20	100	7,1	-	156	-	8,0	-
C 0,0016	2	3	3	5	13	65	5	5	5	5	20	100	7,25	-	175	-	8,0	-
D 0,0063	5	5	3	3	16	80	5	5	5	5	20	100	7,28	-	177	-	8,0	-
E 0,0100	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,30	-	176	-	8,0	-
Resultados	EC(I)50:24H: 0,00136 (0,00092-0,0199)						EC(I)50:48H: 0,0002 (< menor concentração)						Método estatístico utilizado: Spearman					



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *D. similis*

teste 3

Início do teste: 06/06/03				Final do teste: 08/06/03			
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra			
HDR	PH	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Formulação permetrina			
Dureza 44	7,05	20°C	8,0				
Cond. (μS cm ⁻¹)				Responsável			
178				Angélica			

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin		
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,05	-	178	-	8,0	-
A 0,0001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,06	-	231	-	8,0	-
B 0,0004	2	3	0	1	6	30	5	5	5	5	20	100	7,10	-	156	-	8,0	-
C 0,0016	3	4	3	2	12	60	5	5	5	5	20	100	7,25	-	175	-	8,0	-
D 0,0063	5	5	5	4	19	95	5	5	5	5	20	100	7,28	-	177,7	-	8,0	-
E 0,0100	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,29	-	175,2	-	8,0	-
Resultados	EC(I)50;24H: 0,00096 (0,00063-0,00147)						EC(I)50;48H: 0,0002 (< menor concentração)						Método estatístico utilizado: Spearman					



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

teste 4

Início do teste: 08/06/03				Final do teste: 10/06/03												
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra												
HDR	Ph	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Formulação permetrina										Responsável	
DUREZA 44	7,1	20°C	8,0	133											Angélica	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (μS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin		
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	-	133	-	8,0	-
A 0,0001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,26	-	196,1	-	8,0	-
B 0,0004	2	3	1	2	8	40	5	4	5	4	18	90	7,29	-	189,9	-	8,0	-
C 0,0016	3	4	2	3	12	60	5	5	5	5	20	100	7,28	-	176,6	-	8,0	-
D 0,0063	5	4	5	4	18	90	5	5	5	5	20	100	7,01	-	116,3	-	8,0	-
E 0,0100	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,10	-	210,0	-	8,0	-
Resultados	EC(I)50;24H: 0,00087 (0,00056-0,00136)						EC(I)50;48H: 0,0003 (0,00023-0,0004)						Método estatístico utilizado: Spearman					



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

teste 5

Início do teste: 12/11/03				Final do teste: 14/11/03	
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra:	
HDR	pH	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Formulação permetrina
Dureza44	7,01	20°C	-	211	
				Responsável	
				Angélica/Natalia/Vanessa	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	5	7,01	-	211,0	-	-	-
A 0,0001	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	4	20	7,26	-	196,1	-	-	-
B 0,0004	0	0	1	1	2	10	4	2	2	3	11	55	7,29	-	189,9	-	-	-
C 0,0016	4	2	2	3	11	55	5	5	5	5	20	100	7,28	-	176,6	-	-	-
D 0,0063	4	1	4	3	12	60	5	5	5	5	20	100	7,01	-	116,3	-	-	-
E 0,0100	5	3	3	5	16	16	5	5	5	5	20	100	7,10	-	210,0	-	-	-
Resultados	EC(I)50:24H: 0,0020 (0,0011-0,0038)						EC(I)50:48H: 0,00031 (0,00018-0,00052)						Método estatístico utilizado: Spearman					

4 réplicas com 10 mL e 5 org. cada. Sem alimento.

Ceriodaphnia dubia



Preparo de soluções - estoque e de soluções – teste para toxicidade aguda de *Ceriodaphnia dubia*

Substância-teste:	Água de diluição:	Responsável
Formulação permetrina	HDR dureza 44	Angélica

PREPARO DAS SOLUÇÕES-ESTOQUE

Concentração desejada da Solução-estoque	%	Volume da Amostra ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)	Volume de água de diluição (ml)
10000 ppm	0,01	0,026 da formulação	99,974
0,01		$0,01 \times 10000 = 100 \times 0,01$	99,990

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração desejada da Solução-teste (ppm)	Volume da Solução-estoque adicionado ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)				Volume de água de diluição (ml)
	V1	C1	V2	C2	
0,00010	0,50	0,01	50	0,00001	49,50
0,00012	0,75	0,01	50	0,00012	49,25
0,00015	0,78	0,01	50	0,00015	49,22
0,00020	1,00	0,01	50	0,00020	48,00
0,00025	1,25	0,01	50	0,00025	48,75



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

teste 1

Início do teste: 29/05/03				Final do teste: 31/05/03			
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra			
HDR	PH	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Formulação permetrina		
Dureza 44	7,0	25°C	8,0	163			
				Responsável			Angélica e Patrícia

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH	Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas										
	1	2	3	4	Total	%	1	2	3	4	total	%					
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	-	163	-	8,0
A 0,00010	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	20	100	7,0	-	231	-	8,0
B 0,00013	0	0	0	0	0	0	5	4	4	5	18	90	7,06	-	144	-	8,0
C 0,00016	0	1	0	0	10	5	5	5	5	5	20	100	7,08	-	167	-	8,0
D 0,00020	3	4	3	4	14	70	5	5	5	5	20	100	7,18	-	178	-	8,0
E 0,00025	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,16	-	177,6	-	8,0
Resultados	EC(I)50;24H: 0,00019 (0,00018-0,00012)						EC(I)50;48H:< menor concentração						Método estatístico utilizado: Sperman				

OBSERVAÇÕES: 4 réplicas com 5 org. cada em tubos de ensaio com 10 mL, sem alimentação. Fotoperíodo 16h luz.

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

teste 2

Início do teste: 03/06/03		Final do teste: 05/06/03	
Água de cultivo e/ou de diluição		Amostra	
HDR	PH	Temp.	Cond. ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Dureza 44	7,05	25°C	8,0
		Formulação perimetrina	
		178	
		Responsável	
		Angelica	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo														pH	Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas												
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%							
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,05	-	178	-	8,0	-	
A 0,000100	0	0	0	0	0	0	4	3	2	4	13	65	7,0	-	231	-	8,0	-	
B 0,000125	0	1	1	0	2	10	5	5	5	5	20	100	7,06	-	144	-	8,0	-	
C 0,000156	0	0	1	1	2	10	5	5	5	5	20	100	7,08	-	167	-	8,0	-	
D 0,000200	1	2	4	4	11	55	5	5	5	5	20	100	7,18	-	178	-	8,0	-	
E 0,000250	4	5	5	4	18	90	5	5	5	5	20	100	7,16	-	177,6	-	8,0	-	
Resultados	EC(I)50:24H: 0,000196 (0,000182-0,00021)						EC(I)50:48H: < menor concentração						Método estatístico utilizado: Sperman						

OBSERVAÇÕES: 4 réplicas com 5 org. cada em tubos de ensaio com 10 mL, sem alimentação. Fotoperíodo 16h luz.



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

teste 3

Início do teste: 06/06/03				Final do teste: 08/06/03			
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra			
HDR	PH	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Formulação Permetrina		
Dureza 44	7,10	25°C	8,0	133			
					Responsável		
					Angélica		

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo																pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas															
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin				
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,1	181	190	8,0	-				
A 0,000100	0	0	0	0	0	0	0	3	2	4	9	45	7,12	7,16	184	189	8,0	-				
B 0,000125	0	0	1	3	5	25	4	3	4	2	13	65	7,18	7,2	187	192	8,0	-				
C 0,000156	1	2	3	4	10	50	5	5	5	5	20	100	7,17	7,3	195	196	8,0	-				
D 0,000200	2	3	5	4	14	70	5	5	5	5	20	100	7,15	7,3	206	199	8,0	-				
E 0,000250	4	4	5	4	17	85	5	5	5	5	20	100	7,18	7,3	209	198	8,0	-				
Resultados	EC(I)50:24H: 0,000162(0,000144-0,000182)						EC(I)50:48H: 0,000106 (0,000089-0,0001285)						Método estatístico utilizado: Sperman									

OBSERVAÇÕES: 4 réplicas com 5 org. cada em tubos de ensaio com 10 mL, sem alimentação. Fotoperíodo 16h luz.



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

teste 4

Início do teste: 12/11/03				Final do teste: 14/11/03			
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra			
HDR	PH	Temp.	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Formulação permetrina		
Dureza 44	7,01	25°C	-	211			
					Responsável		
					Angélica/Natalia/Vanessa		

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,06	211	196	-	-
A 0,000100	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	5	25	7,10	7,16	183	189	-	-
B 0,000125	0	0	1	1	2	10	5	5	4	4	18	90	7,18	7,2	192,8	193	-	-
C 0,000156	4	2	2	3	11	55	4	2	3	3	12	60	7,17	7,2	198,3	194	-	-
D 0,000200	4	1	4	3	12	60	5	5	5	5	20	100	7,15	7,2	202	198	-	-
E 0,000250	5	3	3	5	16	80	5	5	5	5	20	100	7,16	7,2	205	199	-	-
Resultados	EC(I)50;24H: 0,0000169 (0,00148-0,00191)						EC(J)50;48H: 0,000117 (0,000106-0,000129)						Método estatístico utilizado: Spearmam					

OBSERVAÇÕES: 4 réplicas com 5 org. cada em tubos de ensaio com 10 mL, sem alimentação. Fotoperíodo 16h luz.



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*

teste 5

Início do teste: 25/11/03				Final do teste: 27/11/03	
Água de cultivo e/ou de diluição					
HDR		Temp.	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)
Dureza 44		24°	7,00	8,0	163
				Amostra	Formulação permetrina
				Responsável	
					Angélica/Patricia

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin		
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,00	7,2	163	202		
A	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	5	25	7,12	7,4	184	196		
B	0	0	2	0	2	10	5	4	4	4	17	85	7,14	7,4	193	196		
C	3	4	2	3	12	60	5	5	4	3	17	85	7,16	7,4	194	196		
D	5	3	4	4	16	80	5	5	5	5	20	100	7,19	7,4	187	196		
E	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,15	7,4	198	196		
Resultados	EC(I)50:24H: 0,000157 (0,000146-0,000169)						EC(I)50:48H: 0,000109 (0,000104-0,000115)						Método estatístico utilizado: SPEARMAN					

OBSERVAÇÕES: 4 réplicas com 5 org. cada em tubos de ensaio com 10 mL, sem alimentação. Fotoperíodo 16h luz.

Chironomus xanthus



Preparo de soluções - estoque e de soluções – teste para toxicidade aguda

Chironomus xanthus.

Substância-teste:	Água de diluição:	Responsável
Formulação permetrina	HDR dureza 10	Angélica

PREPARO DAS SOLUÇÕES-ESTOQUE

Concentração desejada da Solução-estoque	%	Volume da Amostra ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)	Volume de água de diluição (ml)
10000 ppm	0,01	0,026 da formulação	99,974
0,01		$0,01 \times 10.000 = 100 \times 0,01$	99,990

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração desejada da Solução-teste (ppm)	Volume da Solução-estoque adicionado ($V_i \times C_i = V_f \times C_f$) (ml)				Volume de água de diluição (ml)
	V1	C1	V2	C2	
0,00025	12,5	0,01	500	0,00025	487,5
0,00035	17,5	0,01	500	0,00035	482,5
0,00048	24,0	0,01	500	0,00048	476,0
0,00067	33,5	0,01	500	0,00067	466,5
0,00093	46,5	0,01	500	0,00093	453,5

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

teste 1

Início do teste: 17/09/03				Final do teste: 21/09/03			
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra			
HDR	PH	Tempe.	OD (mg L ⁻¹)	Formulação de permetrina			
Dureza 10	7,0	24°C	8,0				
				Cond. (μS cm ⁻¹)			
				34			
				Responsável			
				Angélica			

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	96 horas																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	7,0	-	34	-	8,0	<2
A 0,00025	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	2	20	6,52	6,68	36	152,8	8,0	<2
B 0,00035	+	+	+	+	+	+	+	+	.	.	7	70	6,36	6,63	35	120,4	8,0	<2
C 0,00035	.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	8	80	6,37	6,77	34,5	119,5	8,0	<2
D 0,00067	+	.	+	+	+	+	+	+	+	+	9	90	6,57	6,68	34,6	110,2	8,0	<2
E 0,00093	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	100	6,46	6,56	34	122,3	8,0	<2
Resultados	EC(I)50;96H: 0,000312 (0,000259-0,000375)												Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

- 10 réplicas de 30 mL com 1 org. cada
- alimentação fornecida no 1º e 3º dia do teste (2 gotas TetraFin 50 g/L)

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

teste 2

Início do teste: 23/09/03		Final do teste: 27/09/03	
Água de cultivo e/ou de diluição		Amostra	
HDR	Temp. 24°C	pH 7,0	OD (mg L ⁻¹) 8,0
Dureza 10			Cond. (μS cm ⁻¹) 35
		Formulação permetrina	
		Responsável	
		Angélica	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	96 horas																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin	
Controle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	7,0	6,80	35	153,8	8,0	<2	
A 0,00025	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1	10	6,89	6,79	40,2	182,3	8,0	<2	
B 0,00035	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	2	20	6,76	6,81	39,7	176,5	8,0	<2	
C 0,00035	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	7	70	6,71	6,79	39,2	159,6	8,0	<2	
D 0,00067	+	.	.	+	+	+	+	+	+	+	8	80	6,68	6,65	37,7	157,7	8,0	<2	
E 0,00093	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	100	6,57	6,87	35,9	172,3	8,0	<2	
Resultados	EC(I)50:96H: 0,00044 (0,000365-0,000530)												Método estatístico utilizado: Spearman						

OBSERVAÇÕES:

- 10 réplicas de 30 mL com 1 org. cada
- alimentação fornecida no 1º e 3º dia do teste (2 gotas TetraFim 50 g/L)



Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

teste 3

Início do teste: 12/11/03		Final do teste: 16/11/03			
HDR Dureza 10	Água de cultivo e/ou de diluição				Responsável: Angelica
	Temp. 24°C	pH 7,0	OD (mg L ⁻¹) 8,0	Cond. (µS cm ⁻¹) 35	
		Amostra			
		Formulação permetrina			

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	96 horas												ini	fin	ini	fin	ini	fin
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%						
Controle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	6,97	6,80	36	151,8	8,2	<2
A 0,00025	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	2	10	6,87	6,79	40	182	8,2	<2
B 0,00035	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	2	20	6,76	6,81	39,7	177	8,2	<2
C 0,00035	.	+	+	.	+	+	+	+	+	+	8	80	6,70	6,79	39,2	157	8,2	<2
D 0,00067	+	.	+	+	+	+	+	+	+	+	9	90	6,80	6,90	37,7	159	8,2	<2
E 0,00093	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	100	6,50	6,87	35,9	177	8,2	<2
Resultados	EC(I)/50;96H: 0,0004099 (0,00037-0,00045)												Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

- 10 réplicas de 30 mL com 1 org. cada
- alimentação fornecida no 1º e 3º dia do teste (2 gotas TetraFim 50 g/L)

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

teste 4

Início do teste: 25/11/03					Final do teste: 29/11/03	
Água de cultivo e/ou de diluição						
HDR Dureza 10	Temp. 24°C	pH 6,97	OD (mg L ⁻¹) 8,2	Cond. (μS cm ⁻¹) 36	Amostra	
	Formulação permetrina				Responsável Angélica	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	96 horas																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin	
Controle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	7,0	6,80	39	153	7,9	<2	
A 0,00025	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1	10	6,87	6,70	37,3	168	7,9	<2	
B 0,00035	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	3	30	6,79	6,70	40	167	7,9	<2	
C 0,00035	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	7	70	6,83	6,70	41,3	169	7,9	<2	
D 0,00067	+	.	+	+	+	+	+	+	+	+	9	90	6,80	6,70	38,7	173	7,9	<2	
E 0,00093	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	100	6,70	6,70	39	181	7,9	<2	
Resultados	EC(I)50:96H: 0.0004097 (0.000343-0.000488)												Método estatístico utilizado: Spearman						

OBSERVAÇÕES:

- 10 réplicas de 30 mL com 1 org. cada
- alimentação fornecida no 1º e 3º dia do teste (2 gotas TetraFim 50 g/L)



Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Chironomus xanthus*

teste 5

Início do teste: 15/04/04		Final do teste: 19/04/04	
Água de cultivo e/ou de diluição		Amostra	
HDR	Temp. 24°C	pH 7,01	Cond. ($\mu\text{S cm}^{-1}$) 37
Dureza 10	Formulação permetrina		
		Responsável	
		Angélica	

Concentração (ppm)	Número de indivíduos imóveis/tubo											pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	96 horas																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	7,01	7,2	37	192	8,3	<2
A 0,00025	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1	10	6,87	6,9	39	167	8,3	<2
B 0,00035	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	3	30	6,86	7,1	38,2	163	8,3	<2
C 0,00035	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	6	60	6,87	7,2	40,3	171	8,3	<2
D 0,00067	+	.	.	+	+	+	+	+	+	+	8	80	6,81	7,1	41	174	8,3	<2
E 0,00093	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	100	6,7	7,1	39	159	8,3	<2
Resultados	EC(I)50:96H: 0,000443 (0,000363-0,000540)											Método estatístico utilizado: Spearman						

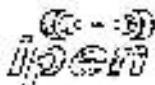
OBSERVAÇÕES:

- 10 réplicas de 30 mL com 1 org. cada
- alimentação fornecida no 1º e 3º dia do teste (2 gotas TetraFim 50 g/L)

ANEXO

2

Testes de Toxicidade Crônica



Anexo Laudo 5671/04

1. **Interessado :** Angélica M Silva - Ecotox 5. **Registro Geral Nº :** 5671/04
2. **Material :** Sedimento
3. **Identificação :** Sedimento Represa 6. **Nº páginas :** 01/01
4. **Empresa :** IPEN-CNEN/SP

Distribuição Granulométrica de massa segundos intervalos definidos na escala de Wentworth

Granulometria mm	Massa g	Massa corrigida g	Porcentagem %	Nome do Material
Massa inicial	100	-	-	
Maior que 2,0	-	-	-	
2,0 a 1,0	-	-	-	
1,0 a 0,5	10,218	10,371	10	Areia grossa
0,5 a 0,25	41,267	41,886	42	Areia média
0,25 a 0,125	36,347	36,892	37	Areia fina
0,125 a 0,063	10,683	10,843	11	Areia muito fina
Menor que 0,063	0,944	-	-	Silte
Totais	99,459	99,992	100	

COMENTÁRIOS :

Ensaio realizado segundo Norma **CETESB L6.160**, Novembro de 1995.



1. **Interessado :** Angélica M Silva - Ecotox 5. **Registro Geral Nº :** 5671/04
2. **Material :** Sedimento
3. **Identificação :** Sedimento Represa 6. **Nº páginas :** 01/01
4. **Empresa :** IPEN-CNEN/SP

Mai/2004

Relatório de Ensaio – Análise Química

7. **Analista :** MSc. Marycel E.B. Cotrim
8. **Técnica Analítica :** ICP-OES

9. **RESULTADOS :** Laboratório de Análises Quím. e Ambiental 10. **Cód. Análise :**

Elem./Comp.	µg/g	Elem./Comp.	µg/g	Elem./Comp.	
Mg	416,3	Fe	19734		
Al	2889	Co	25,2		
P	156,2	Ni	2,93		
K	53,1	Cu	8,99		
Ca	1155	Zn	31,0		
V	136,0	Cd	< 0,13		
Cr	7,77	Pb	6,80		
Mn	144,2	Ba	43,5		

11. **COMENTÁRIOS :**

Abertura de amostra em sistema de microondas fechado. Ensaio realizado segundo metodologia EPA - SW846- 351A

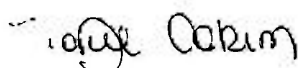
Os resultados da análise granulométrica encontram-se em anexo.

12.

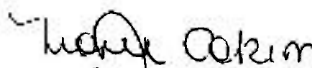
Cláusulas de Responsabilidade

- A .** Os resultados obtidos se referem somente ao material submetido ao ensaio.
B . Não se admite qualquer responsabilidade referente à exatidão da amostragem, a menos que esta tenha sido efetuada mediante nossa própria supervisão. Salvo menção expressa, as amostras foram livremente selecionadas pelo solicitante.
C . A reprodução deste relatório está autorizada em sua forma integral. A reprodução parcial só é permitida com a autorização expressa do CQMA.

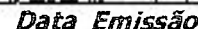
ATENÇÃO: As amostras deverão ser retiradas após 30 dias da data de emissão do laudo de análise. Após 60 dias da emissão do mesmo, o laboratório descartará as amostras não retiradas pelo cliente.



13. MSc. Marycel E. B. Cotrim - CRQ: 04121797
Responsável pelo Laboratório



- MSc. Marycel E. B. Cotrim - CRQ: 04121797
Responsável pela Técnica


Data Emissão

TITLE: Spiked sediment Cx Emergência
 FILE: Cx Sed Permetrina
 TRANSFORM: NO TRANSFORMATION

NUMBER OF GROUPS: 6

GRP	IDENTIFICATION	REP	VALUE	TRANS VALUE
1	CONTROLE	1	10.0000	10.0000
1	CONTROLE	2	10.0000	10.0000
1	CONTROLE	3	10.0000	10.0000
1	CONTROLE	4	10.0000	10.0000
2	0.06	1	8.0000	8.0000
2	0.06	2	9.0000	9.0000
2	0.06	3	7.0000	7.0000
2	0.06	4	8.0000	8.0000
3	0.12	1	8.0000	8.0000
3	0.12	2	8.0000	8.0000
3	0.12	3	7.0000	7.0000
3	0.12	4	6.0000	6.0000
4	0.25	1	4.0000	4.0000
4	0.25	2	4.0000	4.0000
4	0.25	3	4.0000	4.0000
4	0.25	4	5.0000	5.0000
5	0.50	1	0.0000	0.0000
5	0.50	2	1.0000	1.0000
5	0.50	3	0.0000	0.0000
5	0.50	4	0.0000	0.0000
6	1.00	1	0.0000	0.0000
6	1.00	2	0.0000	0.0000
6	1.00	3	0.0000	0.0000
6	1.00	4	0.0000	0.0000

Spiked sediment Cx Emergência
 File: Cx Sed Permetrina

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	4	10.000	10.000	10.000
2	0.06	4	7.000	9.000	8.000
3	0.12	4	6.000	8.000	7.250
4	0.25	4	4.000	5.000	4.250
5	0.50	4	0.000	1.000	0.250
6	1.00	4	0.000	0.000	0.000

Spiked sediment Cx Emergência
 File: Cx Sed Permetrina

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	0.000	0.000	0.000	0.00

2	0.06	0.667	0.816	0.408	10.21
3	0.12	0.917	0.957	0.479	13.21
4	0.25	0.250	0.500	0.250	11.76
5	0.50	0.250	0.500	0.250	200.00
6	1.00	0.000	0.000	0.000	N/A

Spiked sediment Cx Emergência
File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

STEEL'S MANY-ONE RANK TEST			-	Ho:Control<Treatment		
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	df	SIG
1	CONTROLE	10.000				
2	0.06	8.000	10.00	10.00	4.00	*
3	0.12	7.250	10.00	10.00	4.00	*
4	0.25	4.250	10.00	10.00	4.00	*
5	0.50	0.250	10.00	10.00	4.00	*
6	1.00	0.000	10.00	10.00	4.00	*

Critical values use k = 5, are 1 tailed, and alpha = 0.05

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	4	10.000	10.000	10.000
2	0.06	4	7.000	9.000	8.000
3	0.12	4	6.000	8.000	7.250
4	0.25	4	4.000	5.000	4.250
5	0.50	4	0.000	1.000	0.250
6	1.00.	4	0.000	0.000	0.000

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	0.000	0.000	0.000	0.00
2	0.06	0.667	0.816	0.408	10.21
3	0.12	0.917	0.957	0.479	13.21
4	0.25	0.250	0.500	0.250	11.76
5	0.50	0.250	0.500	0.250	200.00
6	1.00.	0.000	0.000	0.000	N/A

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina

Transform: NO TRANSFORMATION

STEEL'S MANY-ONE RANK TEST

- Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	df	SIG
1	CONTROLE	10.000				
2	0.06	8.000	10.00	10.00	4.00	*
3	0.12	7.250	10.00	10.00	4.00	*
4	0.25	4.250	10.00	10.00	4.00	*
5	0.50	0.250	10.00	10.00	4.00	*
6	1.00.	0.000	10.00	10.00	4.00	*

Critical values use k = 5, are 1 tailed, and alpha = 0.05

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	1.608	5.808	9.168	5.808	1.608
OBSERVED	0	2	17	5	0

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 12.5158

Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's test for normality

D = 6.250

W = 0.859

Critical W (P = 0.05) (n = 24) = 0.916

Critical W (P = 0.01) (n = 24) = 0.884

Data FAIL normality test. Try another transformation.

Warning - The first three homogeneity tests are sensitive to non-normal data and should not be performed.

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Bartlett's test for homogeneity of variance

These two tests can not be performed because at least one group has zero variance.

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.
Additional transformations are useless.

*

*

Spiked sediment Cx Emergência

File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

Cochran's test for homogeneity of variance

Calculated G statistic = 0.4400
 Table value = 0.63 (alpha = 0.01, df = 6, 4)
 Table value = 0.53 (alpha = 0.05, df = 6, 4)

Data PASS homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

NOTE: Cochran's test is most powerful for detecting one large
 deviant variance.

Spiked sediment Cx Emergência
 File: Cx Sed Permetrina Transform: NO TRANSFORMATION

Levene's test for homogeneity of variance

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	1.708	0.342	1.892
Within (Error)	18	3.250	0.181	
Total	23	4.958		

Critical F value = 2.77 (0.05,5,18)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

Cx Sed Permetrina 2

File: Spiked sediment 2 Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	1.608	5.808	9.168	5.808	1.608
OBSERVED	0	9	7	8	0

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 6.3102

Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

Cx Sed Permetrina 2

File: Spiked sediment 2 Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's test for normality

D = 7.750

W = 0.932

Critical W (P = 0.05) (n = 24) = 0.916

Critical W (P = 0.01) (n = 24) = 0.884

Data PASS normality test at P=0.01 level. Continue analysis.

Cx Sed Permetrina 2

File: Spiked sediment 2 Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Bartlett's test for homogeneity of variance

These two tests can not be performed because at least one group has zero variance.

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.

Additional transformations are useless.

Cx Sed Permetrina 2

File: Spiked sediment 2 Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

Cochran's test for homogeneity of variance

Calculated G statistic = 0.5161

TITLE: Cx Sed Permetrina 2
 FILE: spiked sediment Cx Emergência
 TRANSFORM: NO TRANSFORMATION

NUMBER OF GROUPS: 6

GRP	IDENTIFICATION	REP	VALUE	TRANS VALUE
1	CONTROLE	1	10.0000	10.0000
1	CONTROLE	2	10.0000	10.0000
1	CONTROLE	3	9.0000	9.0000
1	CONTROLE	4	10.0000	10.0000
2	0.06	1	8.0000	8.0000
2	0.06	2	8.0000	8.0000
2	0.06	3	10.0000	10.0000
2	0.06	4	10.0000	10.0000
3	0.12	1	8.0000	8.0000
3	0.12	2	8.0000	8.0000
3	0.12	3	9.0000	9.0000
3	0.12	4	9.0000	9.0000
4	0.25	1	5.0000	5.0000
4	0.25	2	4.0000	4.0000
4	0.25	3	4.0000	4.0000
4	0.25	4	5.0000	5.0000
5	0.50	1	0.0000	0.0000
5	0.50	2	1.0000	1.0000
5	0.50	3	1.0000	1.0000
5	0.50	4	0.0000	0.0000
6	1.00	1	0.0000	0.0000
6	1.00	2	0.0000	0.0000
6	1.00	3	0.0000	0.0000
6	1.00	4	0.0000	0.0000

Cx Sed Permetrina 2
 File: spiked sediment Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	4	9.000	10.000	9.750
2	0.06	4	8.000	10.000	9.000
3	0.12	4	8.000	9.000	8.500
4	0.25	4	4.000	5.000	4.500
5	0.50	4	0.000	1.000	0.500
6	1.00	4	0.000	0.000	0.000

Cx Sed Permetrina 2
 File: spiked sediment Cx Emergência

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	0.250	0.500	0.250	5.13

2	0.06	1.333	1.155	0.577	12.83
3	0.12	0.333	0.577	0.289	6.79
4	0.25	0.333	0.577	0.289	12.83
5	0.50	0.333	0.577	0.289	115.47
6	1.00	0.000	0.000	0.000	N/A

Cx Sed Permetrina 2
File: spiked sediment Cx Emergência Transform: NO TRANSFORMATION

STEEL'S MANY-ONE RANK TEST			- Ho:Control<Treatment			
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	df	SIG
1	CONTROLE	9.750				
2	0.06	9.000	15.00	10.00	4.00	
3	0.12	8.500	11.00	10.00	4.00	
4	0.25	4.500	10.00	10.00	4.00	*
5	0.50	0.500	10.00	10.00	4.00	*
6	1.00	0.000	10.00	10.00	4.00	*

Critical values use k = 5, are 1 tailed, and alpha = 0.05

Table value = 0.63 (alpha = 0.01, df = 6, 4)
Table value = 0.53 (alpha = 0.05, df = 6, 4)

Data PASS homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

NOTE: Cochran's test is most powerful for detecting one large
deviant variance.

,

Cx Sed Permetrina 2
File: Spiked sediment 2 Cx Emergência Transform: NO TRANSFORMATION

Levene's test for homogeneity of variance

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	2.208	0.442	10.600
Within (Error)	18	0.750	0.042	
Total	23	2.958		

Critical F value = 2.77 (0.05,5,18)
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

,

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 22/08/02 TEST NUMBER: 1
CHEMICAL: Permetrina Formulacao

DURATION: 15 D
SPECIES: Chironomus

RAW DATA:

CONCENTRATION (ppm)	0.01	0.10	1.00	10.00	100.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	4	7	20	20	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	20.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 0.14
95% LOWER CONFIDENCE: 0.06
95% UPPER CONFIDENCE: 0.32

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:
HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
* ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 22/098/2 TEST NUMBER: 1 DURATION: 15 DIAS
CHEMICAL: Permetrina Padrfo SPECIES: Chironomus

RAW DATA:

CONCENTRATION (ppm)	0.01	0.10	1.00	10.00	100.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	5	6	20	20	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	25.00%				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	LC50: 0.17				
	95% LOWER CONFIDENCE: 0.06				
	95% UPPER CONFIDENCE: 0.47				

ANEXO

3

Cultivo de *Chironomus xanthus*

Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	° C	ar	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
03/02	24 (24)		+30	10	Água sifonada/ alimento fornecido
04/02	24 (24)		16	4	Desovas retiradas
05/02	24 (22)		11	5	Retirada as desovas/ alimento fornecido
06/02	24 (24)		74	0	Retirada as desovas
10/02	24		0	0	Descartada
19/02	24 (22)		60 larv		Desovas de 03/02
25/02	24		15	3	Adicionadas 30 larvas
26/02	25 (20)		18	1	Sifonada / alimento fornecido
27/02	26 (22)		20	8	Desovas retiradas
07/03	25 (25)		20	2	Sifonada / alimento fornecido/ desovas retiradas
10/03	24 (22)		12	-	Manutenção completa
13/03	26 (25)		10	1	Sifonada/ alimento fornecido/ desovas retiradas
14/03	24 (24)		20	-	-
17/03	24		44	11	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ sifonada
18/03	24 (22)		35	-	Adicionadas 20 larvas
19/03	24 (23)		29	11	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ sifonada
20/03	24 (23)		45	19	Desovas retiradas
21/03	24 (23)		36	18	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ água sifonada

Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	o Car	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
22/03	24	40	12	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ água sifonada
25/03	24 (23)	37	29	Desovas retiradas
26/03	24 (23)	15	12	Água sifonada/ alimento fornecido/ desovas retiradas
31/03	24	10	5	Desovas retiradas
01/04	24 (23)	13	3	Acrescentado 20 indivíduos/ água sifonada/ alimento fornecido/ desovas retiradas
05/04	24 (24)	15	-	-
07/04	24	17	5	Manutenção completa
08/04	24	19	11	Desovas retiradas
10/04	25 (22)	13	5	Alimento fornecido/ desovas retiradas/ água sifonada
11/04	24	13	5	Desovas retiradas
12/04	24	17	3	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ água sifonada
13/04	24	17	-	-
14/04	24	10	5	Desovas retiradas / alimento fornecido/ água sifonada
15/04	24	10	2	Desovas retiradas
16/04	24	10	2	Desovas retiradas / alimento fornecido/ água sifonada
17/04	24	15	5	Desovas retiradas
18/04	24	15	5	Desovas retiradas/ alimento fornecido/ água sifonada
19/04	24	15	5	Desovas retiradas

Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	° C ar	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
23/04	24	14	2	Manutenção completa (60 larvas) alimentados
24/04	25 (22)	14	3	Adicionado 30 larvas alimentados/ retiradas desovas
25/04	26 (24)	11	3	Desovas retiradas/ água sifonada
26/04	26 (24)	15	8	Alimentados 8 ml
28/04	26 (24)	40	15	Fornecido alimento 8 ml – aberta nova cuba – adicionado 17 larvas
29/04	26 (24)	45	10	Água sifonada/ desovas retiradas
30/04	26 (24)	48	7	Fornecido alimento 10 ml
05/05	23 (22)	25	25	Fornecido alimento/ água sifonada – nova cuba – mais 20 larvas
06/05	23 (22)	15	5	Desovas retiradas
07/05	23 (22)	16	2	Fornecido alimento/ desovas retiradas/ água sifonada
08/05	20 (19)	15	4	Desovas retiradas
10/05	22 (20)	18	7	Fornecido alimento/ água sifonada/ adicionada 20 larvas
12/05	21 (19)	20	7	Desovas retiradas
13/05	24 (20)	17	4	Alimentados / desovas retiradas/ água sifonada
14/05	24 (22)	15	6	Desovas retiradas
15/05	24 (22)	27	5	Alimento fornecido/ água sifonada/ desovas retiradas
16/05	24 (22)	12	10	Desovas retiradas
18/05	24 (23)	11	6	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas



Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	° C	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
23/05	24	25	17	Manutenção completa / adicionada 20 larvas (60larvas) / alimento fornecido
25/05	22 (19)	15	2	Desovas retiradas
28/05	22	7	1	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
30/05	22 (19)	0	0	-
31/05	23	11	1	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
02/06	23	36	8	Desovas retiradas
03/06	24 (22)	31	8	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
04/06	24	36	5	Desovas retiradas
05/06	24	30	14	Adicionado 20 indivíduos – larvas/ Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
06/06	24	16	8	Desovas retiradas
07/06	25 (22)	6	1	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
09/06	24 (23)	7	0	-
10/06	24 (22)	5	3	Água sifonada 10 ml alimento -20 larvas (26/05)
11/06	24 (23)	3	1	Desovas retiradas
15/06	24 (23)	7	2	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
16/06	24	0	3	(nova cuba 2 desovas) desovas retiradas
19/06	24	0	0	Manutenção total 64 larvas
20/06	24	0	0	-

Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	° Car	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
21/06	23	0	0	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
23/06	23 (22)	6	1	Desovas retiradas
24/06	23	6	0	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
26/06	24	10	1	+ 30 larvas/ desovas retirada
26/06	23	20	3	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
27/06	23 (22)	15	3	Desovas retiradas
28/06	23	15	4	Alimento fornecido/ água sifonada/ desovas retiradas
30/06	24	25	8	Desovas retiradas
01/07	22 (20)	25	7	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
02/07	24 (22)	29	3	Desovas retiradas
03/07	23	16	2	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
04/07	24	17	2	Desovas retiradas
06/07	23	3	0	Alimento/ água sifonada
07/07	24	2	0	-
08/07	24	2	0	Alimento/ água sifonada
10/07	24	2	0	-
11/07	22	0	0	Sifonado + alimentado
13/07	20	0	0	-

Cultivo de *Chironomus* - 2003

Data	° Car	Ind.	Desov	Observações (troca da água, sifonagem, alimentação, indivíduos adicionados)
17/07	23 (20)	5	1	Manutenção completa (100 larvas +-)
18/07	23 (22)	6	2	Desovas retiradas
21/07	23 (21)	14	4	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
23/07	24 (21)	19	9	Desovas retiradas
25/07	23 (21)	18	6	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
26/07	23 (20)	13	5	Retirada as desovas (nova cuba) + alimento
27/07	23 (21)	27	2	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
16/08*	22	-	-	-
29/07	23 (20)	27	2	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
30/07	24 (23)	7	1	Desovas retiradas
03/08	24 (20)	38	25	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
04/08	24 (21)	26	5	Desovas retiradas
06/08	24 (22)	20	17	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
07/08	24 (22)	13	2	Desovas retiradas
08/08	23 (21)	10	2	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
11/08	21 (19)	5	5	Desovas retiradas
12/08	22 (18)	5	-	Alimento/ água sifonada/ desovas retiradas
13/08	23 (21)	3	-	-
15/08	21 (19)	2	-	-

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	05/05	07/05	10/05	12/05	14/05	17/05	19/05	21/05	24/05	26/05
Hora	13:42	14:45	13:08	14:30	13:30	13:50	14:30	16:00	12:00	12:30
Responsável	Barbara	Barbara	Barbara	Barbara	Angelica	Barbara	Angelica	Angelica	Angelica	Angelica
Temperatura	25	24	24	24	23	24	21	20	23	21
Desovas coletadas:	A	3	0	0	0	0	0	1	3	4
	B	3	3	0	2	8	3	1	0	2
Emergências:	A	30	2	13	2	1	8	15	6	24
	B	16	08	8	15	26	16	13	10	11
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Larvas (2ª e 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	-	-	sim	-	-	-	-	-	-
Larvas adicionadas:	A	-	-	20	-	50	-	-	-	-
	B	-	-	20	-	50	-	-	-	-
Idade qdo adicionada				26/04	-	05/05	-	-	-	-

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	28/05	31/05	02/06	04/06	07/06	09/06	14/06	16/06	18/06	21/06
Hora	13:50	13:30	14:05	14:00	13:15	13:00	18:00	12:00	12:56	14:30
Responsável	Barbara	Barbara	Jonatha	Barbara	Barbara	Angelica	Angelica	Barbara	Angelica	Barbara
Temperatura	23	24	23	22	23	22	22	23	25	25
Desovas coletadas:	A	8	12	19	22	08	3	1	0	0
	B	4	2	6	1	0	0	0	0	0
Emergências:	A	29	38	41	29	29	0	7	10	0
	B	10	13	18	01	01	0	3	3	11
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Larvas (2ª e 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok	ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	-	-	-	sim	-	-	-	sim	-
Larvas adicionadas:	A	-	-	-	40	20	-	-	12	20
	B	-	-	-	45	20	-	-	12	20
Idade qdo adicionada	17/05			-	20/05	24/05	-	-	28/05	07/06

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário— 2004

Data	23/06	25/06	28/06	30/06	02/07	05/07	07/07	09/07	12/07	14/07
Hora	11:15	11:04	14:00	11:30	11:20	11:20	09:07	15:00	11:10	8:20
Responsável	Barbara	Barbara	Angélic	Barbara	Barbara	Barbara	Jonatha	Angelic	Barbara	Barbara
Temperatura	25	23	25	25	23	24	23	24	22	20
Desovas coletadas: A	0	03	3	01	03	14	08	04	07	02
B	3	11	12	29	19	08	01	02	0	01
Emergências: A	11	09	23	27	23	35	37	30	20	05
B	47	40	36	102	50	11	16	19	10	03
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	ok	ok	ok	ok	ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2ª e 6ª)	-	ok	sim	-	ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	10 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	-	não	sim	-	-	-	-	Sim	-
Larvas adicionadas: A	30	-	-	-	40	-	30	-	-	28
B	32	-	-	-	43	-	30	-	-	25
Idade qdo adicionada	04/06			-	23/06	-	25/06	-	-	30/06

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	16/07	19/07	21/07	23/07	26/07	28/07	31/07	02/08	04/08	06/08
Hora	08:20	11:50	11:50	11:40	14:00	09:40	21:00	09:00	15:00	12:30
Responsável	Barbara	Barbara	Barbara	Barbara	Angelic	Barbara	Angelic	Jonatha	Jonatha	Barbara
Temperatura	23	21	21	22	23	23	23	23	23	25
Desovas coletadas: A	02	04	03	07	03	07	04	06	07	05
B	02	03	01	01	-	03	18	07	07	07
Emergências: A	25	31	26	30	25	34	26	27	15	18
B	04	02	09	05	13	11	14	19	34	26
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2ª e 6ª)	-	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	-	-	-	Sim	-	-	-	-	Sim
Larvas adicionadas: A	-	28	-	-	-	-	30	-	-	-
B	-	30	-	-	-	-	30	-	-	-
Idade qdo adicionada	-	05/07	-	-	-	-	16/07	-	-	-

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	09/08	11/08	13/08	16/08	18/08	20/08	23/08	25/08	27/08	30/08
Hora	11:00	14:30	14:10	14:00	17:10	14:50	18:00	14:30	14:55	15:00
Responsável	Angelice	Angelice	Barbara	Jonatha	Angelice	Barbara	Luiz	Angelice	Barbara	Angelice
Temperatura	24	24	23	24	25	27	25	25	23	25
Desovas coletadas: A	0	03	04	09	04	0	05	05	0	03
B	06	02	06	05	04	13	27	0	03	01
Emergências: A	0	15	19	16	14	15	19	0	01	15
B	25	23	25	30	53	64	58	29	09	17
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2ª e 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	1 mL	2 mL	2 mL	-	2 mL	-
Preparo de ração	-	-	-	-	-	19/08	-	-	-	-
Larvas adicionadas: A	-	-	32	-	-	50	10	15	70	-
B	-	-	27	-	-	50	10	15	70	-
Idade qdo adicionada	-	-	02/08	-	-	11/08	09/08	13/08	16/08	-

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	01/09	03/09	06/09	08/09	10/09	13/09	15/09	17/09	20/09	22/09
Hora	14:00	15:10	14:00	15:00	14:50	18:00	15:30	14:30	14:00	15:40
Responsável	Angelica	Barbara	Angelica	Angelica	Barbara	Angelica	Angelica	Jonatha	Jonatha	Jonatha
Temperatura	25	26	26	26	27	25	26	25	27	27
Desovas coletadas:	A	0	04	0	08	0	18	18	09	03
	B	3	02	02	0	05	03	14	07	03
Emergências:	A	18	18	18	17	25	52	28	16	15
	B	18	14	0	13	18	43	40	25	03
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2ª e 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	-	-	Ok	-
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	Sim	-	-	-	-	Sim	-	-	-
Larvas adicionadas:	A	50	-	-	40	-	-	-	15	-
	B	50	-	-	40	-	-	-	15	-
Idade qdo adicionada	-	20/08	-	-	30/08	-	-	-	06/09	-

Observações:

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	24/09	27/09	29/09	01/10	04/10	06/10	08/10	11/10	13/10	15/10
Hora	14:30	12:48	14:00	14:30	13:55	14:00	14:30	13:00	8:30	8:30
Responsável	Jonatha	Jonatha	Jonatha	Jonatha	Vanessa	Angelica	Jonatha	Angelica	Jonatha	Jonatha
Temperatura	25	25	25	25	25	23	25	25	25	23
Desovas coletadas:	A	06	03	01	04	0	02	01	07	12
	B	05	01	0	07	04	02	03	03	07
Emergências:	A	22	01	13	10	30	02	07	22	38
	B	23	0	14	14	18	11	21	15	18
Troca de água (2 ^a , 4 ^a , 6 ^a)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2 ^a , 4 ^a , 6 ^a)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2 ^a e 6 ^a)	Ok	Ok	-	-	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	1 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	Sim	-	-	-	-	Sim	-	-	-	Sim
Larvas adicionadas:	A	-	-	-	-	-	15	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	15	-	-	-
Idade qdo adicionada	-	-	-	-	-	-	27/09	-	-	-

Observações: 08/10 = manutenção completa da bandeja A. Todos os indivíduos da bandeja foram retirados. O sedimento foi trocado e os indivíduos foram devolvidos a bandeja. O mesmo foi feito no dia 15/10 com a bandeja B.

0.000000

Observações: após 10 dias, as larvas precisam ser transferidas da cuba para as bandejas (máximo 20 larvas em cada)

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	16/11	22/11	24/11	26/11	01/12	03/12	07/12	10/12	12/12	17/12
Hora	13:00	12:26	11:00	09:30	10:41	12:30	12:00	09:52	09:58	12:50
Responsável	Angelic	Vanessa	Angelic	Vanessa	Vanessa	Angelic	Vanessa	Vanessa	Vanessa	Vanessa
Temperatura	23	25	26	26	25	24	23	23	23	25
Desovas coletadas:										
A	08	06	0	04	04	06	01	08	02	05
B	07	08	05	01	0	08	06	09	06	01
Emergências:										
A	14	18	13	10	28	10	12	12	01	25
B	26	23	18	08	16	18	15	24	01	01
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Larvas (2ª e 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Preparo de ração	-	Sim	-	-	-	-	Sim	-	-	-
Larvas adicionadas:										
A	15	20	-	-	20	-	20	-	-	-
B	15	20	-	-	20	-	20	-	-	-
Idade qdo adicionada	03/11	10/11	-	-	22/11	-	28/11	-	-	-
Observações:										

Cultivo de *Chironomus xanthus* check list diário- 2004

Data	20/12	23/12	27/12	30/12	03/01 /05	05/01 /05	07/01 /05	10/01 /05	
Hora	11:37	10:12	11:33	10:00	15:00	12:40	09:16	12:27	
Responsável	Vanessa	Vanessa	Patricia	Vanessa	Angelic	Vanessa	Vanessa	Vanessa	
Temperatura	26	23	24	25	26	26	26	29	
Desovas coletadas: A	03	01	03	06	0	05	04	07	
B	04	05	01	05	0	12	02	06	
Emergências: A	19	07	28	28	11	32	20	24	
B	07	13	09	13	10	26	13	23	
Troca de água (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	
Limpeza (2ª, 4ª, 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	
Larvas (2ª e 6ª)	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	
Alimentação adultos	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	
Alimentação larvas	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	
Preparo de ração	-	Sim	-	-	-	-	-	Sim	
Larvas adicionadas: A	20	-	-	20	-	-	20	-	
B	20	-	-	20	-	-	20	-	
Idade qdo adicionada	10/12	-	-	20/12	-	-	27/12	-	

Observações:

ANEXO

4

Crescimento de *Chironomus xanthus*

Crescimento da carapaça cefálica (mm) de *Chironomus xanthus* cultivados na presença e ausência de sedimento.

Dia	Com sedimento				Sem sedimento			
	Organismo 1	Organismo 2	Organismo 3	Média mm	Organismo 1	Organismo 2	Organismo 3	Média mm
1	0,060	0,050	0,060	0,056	0,060	0,050	0,060	0,056
2	0,057	0,050	0,055	0,054	0,050	0,050	0,050	0,050
3	0,060	0,060	0,057	0,059	0,010	0,010	0,010	0,010
4	0,090	0,100	0,100	0,096	0,090	0,100	0,100	0,096
5	0,175	0,200	0,100	0,158	0,140	0,150	0,170	0,153
6	0,180	0,175	0,160	0,172	0,170	0,200	0,170	0,180
7	0,187	0,300	0,162	0,216	0,280	0,320	0,280	0,293
8	0,300	0,280	0,280	0,286	0,250	0,300	0,280	0,276
9	0,300	0,300	0,280	0,286	0,300	0,300	0,300	0,300
10	0,280	0,280	0,280	0,280	0,300	0,310	0,320	0,310

File: Gê Cx Cres

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	0.003	0.001	18.000
Within (Error)	8	0.000	0.000	
Total	11	0.003		

Critical F value = 4.07 (0.05,3,8)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equalFile: Gê Cx Cres⁹

Transform: NO TRANSFORMATION

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
				2	1	3	4
2	Cx com sediment	0.280	0.280	\			
1	Cx com sediment	0.280	0.280	.	\		
3	Cx sem sediment	0.310	0.310	*	*	\	
4	Cx sem sediment	0.310	0.310	*	*	.	\

* = significant difference (p=0.05)

. = no significant difference

Tukey value (4,8) = 4.53

s = 0.000

File: Gê Cx Cres

Transform: NO TRANSFORMATION

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	Cx com sediment	0.280	0.280	10.500
2	Cx com sediment	0.280	0.280	10.500
3	Cx sem sediment	0.310	0.310	28.500
4	Cx sem sediment	0.310	0.310	28.500

Calculated H Value = 9.581

Critical H Value Table = 7.000

Since Calc H > Crit H REJECT H_0 : All groups are equal.

File: Gê Cx Cres

Transform: NO TRANSFORMATION

139

DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	0	0	0	0
				2	1	3	4
2	Cx com sediment	0.280	0.280	\			
1	Cx com sediment	0.280	0.280	.	\		
3	Cx sem sediment	0.310	0.310	.	.	\	
4	Cx sem sediment	0.310	0.310	.	.	.	\

* = significant difference (p=0.05)				.	= no significant difference		
Table q value (0.05,4) = 2.639				SE	= 2.741		

ANEXO

5

Testes de sensibilidade

Dicromato de Potássio



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 04/07/02				Final do teste: 08/05/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR	TEMP.	pH	OD (mg L ⁻¹)	Dicromato de Potássio			
DUREZA 10	24°C	7,0	8,0	35			
				Responsável			
				Angelica			

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	96 horas																	
	1	2	3	4	5						total	%	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●						0	0	7,01	7,12	29,5	139,5	7,72	3,8
0,005	●	●	●	●	●						0	0	7,02	7,3	35,2	179,9	7,72	2,78
0,010	†	†	●	●	●						2	50	6,53	7,17	41,4	142,1	7,72	2,63
0,020	†	†	●	●	●						2	50	6,17	7,20	50,1	159,8	7,72	2,47
0,040	†	†	†	†	†						5	100	8,85	7,25	65,5	163,2	7,72	2,38
0,080	†	†	†	†	†						5	100	5,54	7,05	99,7	181,7	7,72	2,22
Resultados	LC 96h: 0,016												I. C.: 0,011-0,025		Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber			

OBSERVAÇÕES:

realizado com 5 réplicas com 1 organismo cada.

ALIMENTO FORNECIDO

● Organismo vivo

† Organismo morto



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 26/05/04				Final do teste: 30/05/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR DUREZA 10	Temp. 24°C	pH	OD (mg L ⁻¹)	Dicromato de Potássio			
		7,02	7,09	41.2			
				Responsável			
				Angelica			

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	96 horas																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	†	?	2	20	7,02	7,12	41,2	-	7,9	0,82		
0,005	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,56	7,3	49,5	-	7,9	1,92		
0,01	●	●	●	†	●	†	●	†	●	?	4	40	6,27	7,17	53,1	-	7,9	1,88		
0,02	●		●	†	†	†	●	†	†	†	7	70	5,99	7,20	46,3	-	7,9	2,98		
0,04	†	●	●	†	†	†	†	†	†	●	7	70	5,86	7,25	69,5	-	7,9	4,13		
0,08	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,47	7,05	106,3	-	7,9	3,51		
Resultados	LC 96h: 0,02												I. C.: 0,01-0,02						Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber	

OBSERVAÇÕES:

● Organismo vivo

† Organismo morto

Organismos 2º/3º instar

Alimento fornecido



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 16/06/04				Final do teste: 20/06/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
Hdr	Temp. 24°	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Dicromato de Potássio		
Dureza 10		7,01	7,8	43,9			
					Responsável		
					Angelica/Barbara		

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo										pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	96 horas															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,01	6,4	43,9	-
0,005	†	●	●	●	†	●	●	●	●	†	3	30	7,25	6,59	48,0	-
0,010	†	●	●	†	†	†	●	●	●	●	4	40	6,73	6,58	58,0	-
0,020	†	†	†	●	†	†	†	†	†	●	8	80	6,31	6,42	63,5	-
0,040	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	6,03	6,07	81,5	-
0,080	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,56	6,33	117,2	-
Resultados	LC 96h: 0,01										I. C.: 0,011-0,02		Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber			

OBSERVAÇÕES:

10 réplicas com 30 mL e 1 org. cada

Alimento fornecido

● Organismo vivo

† Organismo morto



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 05/07/04				Final do teste: 09/07/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR	Temp. 24°C	PH	OD (mg L ⁻¹)	Dicromato de Potássio			
Dureza 10		7,01	9,55	35,4			
				Responsável			
				Angelica/Barbara			

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	96 horas																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,01	6,4	35,4	-	9,55	<2		
0,005	●	●	●	†	†	●	●	●	●	●	2	20	6,42	6,59	35,4	-	9,55	<2		
0,010	●	†	●	●	●	●	●	●	†	†	3	30	5,96	6,58	35,4	-	9,55	<2		
0,020	●	†	†	†	†	●	●	●	†	†	5	50	5,65	6,42	35,4	-	9,55	<2		
0,040	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,52	6,07	35,4	--	9,55	<2		
0,080	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,30	6,33	35,4	-	9,55	<2		
Resultados	LC 96h: 0,016												I. C.: 0,010-0,027						Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber	

OBSERVAÇÕES:

- Organismo vivo
- † Organismo morto



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 02/09/04				Final do teste: 06/09/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR	TEMP.	PH	OD (mg L ⁻¹)	Dicromato de Potássio			
DUREZA 10	24°C	6,99	6,26	39,4			
				Responsável			
				Angelica/Barbara			

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	96 horas																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,99	7,09	39,4	-	6,26	<2		
0,005	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	10	7,23	6,98	47,0	-	6,26	<2		
0,010	●	†	●	●	●	●	●	●	●	●	1	10	6,95	7,04	50,1	-	6,26	<2		
0,020	†	†	●	●	●	†	†	●	●	†	5	50	6,46	6,84	58,9	-	6,26	<2		
0,040	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	6,06	6,85	75,5	-	6,26	<2		
0,080	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,71	6,60	106,0	-	6,26	<2		
Resultados	LC 96h: 0,020												I. C.: 0,010-0,030						Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber	

OBSERVAÇÕES:

† Organismo morto

● Organismo vivo



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 09/09/04				Final do teste: 06/09/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR	TEMP.	PH	OD (mg L ⁻¹)	Dicromato de Potássio			
DUREZA 10	24°C	7,10	7,16	40			
				Responsável			
				Angelica/Barbara			

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	96 horas																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,10	7,08	40	136	7,16	1,08		
0,005	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,32	7,12	49,9	-	7,16	-		
0,010	●	●	†	†	●	●	●	●	●	●	2	20	6,77	7,32	53,5	-	7,16	-		
0,020	●	†	†	●	●	●	†	●	●	†	3	30	6,46	7,29	63,4	-	7,16	-		
0,040	†	†	†	†	●	●	●	●	†	†	6	60	6,13	7,37	83,0	-	7,16	-		
0,080	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	5,82	7,42	117,0	-	7,16	-		
Resultados	EC 96h: 0,030												I. C.: 0,020-0,040						Método estatístico utilizado: Spearman-Karber	

OBSERVAÇÕES:

† Organismo morto

● Organismo vivo

Cloreto de Sódio



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 08/05/03										Final do teste: 12/05/03									
HDR		Água de cultivo e/ou de diluição										Substância de referência				Responsável			
		TEMP.	pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (μS cm ⁻¹)												
DUREZA 10		24°C	7,02		8,0		34		Cloreto de Sódio				Angélica						

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo														pH		Cond. (μS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas							48 horas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,02	7,16	34	-	8,0	<2			
1,00	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,02	7,23	34	-	8,0	-			
1,65	●	†	●	●	●	●	†	●	●	2	20	7,02	7,32	34	-	8,0	-			
2,70	●	●	●	●	†	●	†	●	●	3	30	7,02	7,35	34	-	8,0	-			
4,50	†	●	†	†	●	●	†	†	●	6	60	7,02	7,35	34	-	8,0	-			
7,40	†	†	†	●	†	†	†	†	†	9	90	7,02	7,35	34	-	8,0	-			
Resultados	CL 96h: 3,56										I.C. (2,62-4,82)		Método estatístico utilizado: SPEARMEAM							

OBSERVAÇÕES:

† organismo morto

• organismo vivo

10 REPLICAS com 30 mL e 1 Org. cada

Alimento fornecido no primeiro e terceiro dia do teste



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 04/05/03		Final do teste:08/05/03	
Agua de cultivo e/ou de diluição		Substância de referência	
Hdr dureza 10	Temp 24°C	pH 7,01	Cond. (µS cm ⁻¹) 29,5
		OD (mg L ⁻¹) 7,72	Cloreto de Sódio
		Responsável Angélica/Barbara	

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,01	6,99	29,5	59,8	7,72	4,82
1,00	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,95	7,2	165,1	1830	7,72	2,94
1,65	●	●	●	●	†	●	●	●	†	●	2	20	6,83	7,14	2,63	2,18	7,72	2,94
2,70	†	●	●	●	●	●	●	●	●	†	2	20	6,82	7,23	4,23	5	7,72	2,38
4,50	●	●	●	†	●	●	†	†	●	●	3	30	6,74	7,13	6,79	6,9	7,72	2,41
7,40	●	†	●	†	†	†	†	●	†	†	7	70	6,79	7,16	9,04	9,18	7,72	2,38
Resultados	CL96h: 5,77						I.C. (4,47 – 7,45)						Método estatístico utilizado: SPEARMAN					

OBSERVAÇÕES: 3° instar 10 réplicas com 30 ML e 1 org. cada

Dia 0 = alimento

Dia 01

Dia 02 = alimento

Dia 03

Dia 04 final 96 H = leitura final 08/05/03

† organismo morto ● organismo vivo



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 16/06/04			Final do teste: 20/06/04		
Água de cultivo e/ou de diluição			Substância de referência		
HDR	TEMP	pH	Cloreto de Sódio		
DUREZA 10	24°C	7,01			
			OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	
			7,8	43,9	
			Responsável		
			Angélica/Barbara		

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (μS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,01	6,4	43,9	-	7,8	0,22
1,00	●		●	●	●	●	●	●	●	●	1	10	6,88	6,7	1921	-	7,8	0,5
1,65	●	●	●	●	●	●	●	●	●		1	10	6,89	6,79	3120	-	7,8	-
2,70	●	●	●	†	†	†	†	●	●	●	4	40	6,89	6,85	5010	-	7,8	-
4,50	†	†		●	●	●	†	†	†	●	6	60	6,89	6,96	7990	-	7,8	-
7,40	●	●	●	●	†	†	†	†	†	†	6	60	6,99	6,87	13270	-	7,8	1,61
Resultados	CL 96h: 3,50						I.C: 2,03 – 6,06						Método estatístico utilizado: SPEARMAN					

OBSERVAÇÕES:

● organismo vivo

† organismo morto

10 REPLICAS com 30 mL e 1 Org. cada

Alimento fornecido no primeiro e terceiro dia do teste



Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 30/07			Final do teste: 03/08/04		
Água de cultivo e/ou de diluição			Substância de referência		
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cloreto de Sódio		
Destilada	7,02	8,4	35		
			Responsável		
			Angélica		

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	24 horas						48 horas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,02	6,52	35	1320	8,4			
1,00	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,94	6,5	1704	1704	8,4			
1,65	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,93	6,66	2870	3140	8,4			
2,70	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,87	6,7	4690	5500	8,4			
4,50	●	†	●	●	†	●	●	●	●	†	3	30	6,83	6,7	7780	8900	8,4			
7,40	†	●	●	†	●	†	●	†	●	†	5	50	6,82	6,8	1236	1260	8,4			
Resultados	EC 96h: 7,40												I.C: 95% confidence limits are not reliable						Método estatístico utilizado: SPEARMAN	

OBSERVAÇÕES:

● organismo vivo

† organismo morto

10 REPLICAS com 30 mL e 1 Org. cada

Alimento fornecido no primeiro e terceiro dia do teste

Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 02/09/04		Final do teste: 06/09/04	
Agua de cultivo e/ou de diluição		Substância de referência	
HDR	TEMP	pH	Responsável
DUREZA 10	24°C	6,99	Angélica/Bárbara
		OD (mg L ⁻¹)	
		6,26	
		Cond. (μS cm ⁻¹)	
		39,4	
		Cloreto de Sódio	

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (μS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	6,99	7,09	39,4	-	6,26	<2
1,65	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,18	7,10	37,8	-	6,26	-
2,73	†	●	●	●	●	●	●	●	†	2	2	20	7,14	7,44	7,62	-	6,26	-
4,50	●	●	●	●	†	●	●	●	●	1	1	10	7,17	7,35	19,20	-	6,26	-
7,40	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	0	7,17	7,17	-	-	6,26	-
12,20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	10	10	100	7,21	7,20	-	-	6,26	-
Resultados	LC 96h: 8,18						I.C: 6,94-9,64						Método estatístico utilizado: Sperman-Kauber					

OBSERVAÇÕES:

● organismo vivo	preparo de soluções: V1.C1=V2.C2		sol 1 - 275x15 = 250 x 165
† organismo morto	solução-mãe = 15g.L		sol 2 - 45,5 x 15 = 250 x 2,73
Data das larvas: 23/08/04	7,5 g em 500 mL		sol 3 - 75 x 15 = 250 x 4,50
			Sol 4 - 123 x 15 = 250 x 7,40
			Sol 5 - 203 x 15 = 250 x 12,20

Teste de avaliação da sensibilidade para *Chironomus xanthus*.

Início do teste: 09/09/04				Final do teste: 13/09/04			
Água de cultivo e/ou de diluição				Substância de referência			
HDR	TEMP	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (μS cm ⁻¹)	Cloreto de Sódio		
DUREZA 10	24°C	7,10	7,16	40			
				Responsável			Angélica/Bárbara

Concentração (g/L)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH				Cond. (µS/cm)				OD (mg/L)			
	24 horas						48 horas																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin						
Controle	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,10	7,08	40	136	7,16	1,08						
1,65	●	●	†	●	●	●	●	●	●	●	1	10	7,10	7,15	3190	-	7,16	-						
2,73	●	†	●	●	●	●	●	●	†	†	3	30	7,15	7,37	5280	-	7,16	-						
4,50	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	0	0	7,18	7,42	8480	-	7,16	-						
7,40	●	†	●	●	●	●	●	†	●	●	2	20	7,18	7,36	13740	-	7,16	-						
12,20	†	●	†	†	†	†	†	†	†	†	10	100	7,12	7,29	2180	-	7,16	-						
Resultados	EC 96h: 8,69						I.C: 7,35-10,27						Método estatístico utilizado: Sperman-Kauber											

OBSERVAÇÕES:

- organismo vivo
- † organismo morto
- Data das larvas: 30/08/04
- preparo de soluções: V1.C1=V2.C2
- solução-mãe = 15g.L
- 7,5 g em 500 mL
- sol 1 - 275x15 = 250 x 165
- sol 2 - 45,5 x 15 = 250 x 2,73
- sol 3 - 75 x 15 = 250 x 4,50
- sol 4 - 123 x 15 = 250 x 7,40
- Sol 5 - 203 x 15 = 250 x 12,20

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Água - Ensaio de toxicidade aguda com Daphnia similis Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea)*. Rio de Janeiro: (NBR 12713). 16 p. 1995.
- ABNT. ABNT/ISO/IEC GUIA 25. *Requisitos Gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração*. 20p. 2001.
- AFNOR. Essais des eaux. *Determination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Strauss (Crustacés, Cladocère)*. Paris, Association Française de Normalisation, Paris Defense, 12p. Norme expérimentale T. 90 - 301. 1974.
- ALMEIDA, C. A. *Estudo Ecotoxicológico do sedimento de represas do Rio Tietê com organismo-teste bentônico: Chironomus xanthus Rempel (Insecta: Díptera)*. 2000. Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. *Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates*. E 1383-93. In: ASTM, *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04, Philadelphia, PA, USA. 2000.
- ANVISA. Monografias. Disponível em: <http://WWW.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/monografias.pdf>. Acesso em 19 jan 2004.
- ARMITAGE, P. D.; CRANSTON, P. S. & PINDER, L. C. V. (eds.) *The Chironomidae. Biology and Ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall, London, XII. 1995.
- AZEVEDO, F.A. e CHASIN, A. A. DA MATTA. *AS BASES TOXICOLÓGICAS DA ECOTOXICOLOGIA*. Ed. RIMA, São Carlos, S.P. Intertox 2003.
- BASSOI, L.J., NIETO, R., TREMAROLI, D. CETESB. *Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos*. São Paulo: Séries Manuais. 7p. 1990.
- BARBER, T. R., Fuchsman, P. C., Chappie, D. J., Sferra, J. C., Newton, F.C. and Sheehanc, P. J. *TOXICITY OF HEXACHLOROBENZENE TO HYALELLA AZTECA AND CHIRONOMUS TENTANS IN SPIKED SEDIMENT BIOASSAYS* - Environmental Toxicology and Chemistry: Vol. 16, No. 8, pp. 1716–1720. 1997.
- BOHRER, M.B.C., *Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário dos efluentes líquidos industriais (SITEL) do pólo petroquímico do Sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplânctônica*. 1995. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

BURTON, A. *Chironomus tentans* **Culturing Procedure**. Methods Manual II: Sediment Toxicity. Field/Lab SOP, 11p. 2001.

CALOW, P. **HANDBOOK OF ECOTOXICOLOGY**. Blackwell Science. 1998.

CARVALHO DORES, E. F. G. LAMONICA-FREIRE, E. M. **Contaminação do Ambiente Aquático por Agrotóxicos: Vias de Contaminação e Dinâmica dos Agrotóxicos no Ambiente Aquático**. In: *Agrotóxicos: R. Ecotox. E Meio Ambiente*, v. 9, p. 1-18. 1999.

CETESB. **Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos**. São Paulo: CETESB, 74p. 1992.

CHAPMAN, D.V. *Concepts and Strategies for Biological Monitoring*. GEMS. University of London, 45 p. 1990.

COMMITTEE ON RESTORATION OF AQUATIC ECOSYSTEMS – EUA, 1992.

DAY, K. E. *Effects of dissolved organic carbon on accumulation and acute toxicity of fenvalerate, deltamethrin and cyhalothrin to Daphnia magna (Straus)*. Environ Toxicol Chem 10:91-101. 1991.

DEV, S. AND KOUL, O., *Insecticides of Natural Origin*. The Netherlands, Amsterdam. ISBN 3-7186-5913-1. 1997.

DIN - DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. *Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe 1): Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf kleine Krebstiere (Daphnienkurzzeittest L.11)*. Berlin, 5p. Entwurf DIN 38412. 1981.

DI TORO, D. M. *Technical basis for examining sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning*. Environ Toxicol Chem 10: 1541-1586. 1991.

D.O.U. - DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Decreto n. 4074, de 08 de Janeiro de 2002.

ECOFRAM. *Ecological Committee on FIFRA risk assessment methods: Report of the aquatic Workgroup*. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Pesticides Programs, Washington, DC. 1999.

EPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Environmental Fate Assessment for the Synthetic Pyrethroids*. Pesquisa no site www.epa.gov em 20/04/2004.

EPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. 4.ed. Cincinnati, OH: EPA, 2002. EPA- 821-R-02-012. 350 p. 2002.

- EPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 5.ed. Washington, D.C.: EPA, 2002. EPA – 821-R-02-012. 275p. 2002.
- EPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates*. 2.ed. Washington, D.C.: EPA. (EPA 600/R - 99/064). 2000.
- EPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Sediment Toxicity and fate of synthetic pyrethroids*. Environmental Fate and Effects Division Office of Pesticides Programs, , Washington, D.C. 1999.
- EPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 4.ed. Washington, D.C.: EPA. (EPA 600/4 - 90/027). 293 p. 1993.
- EPA,. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY . *Sediment Toxicity Assessment*. Lewis Publishers, Inc. EPA (EPA 91-44273). 457 p. 1992
- EPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Leaching and Adsorption/ Desorption Studies*. Environmental Fate Series, 163-1. Washington, DC. 1982.
- FOLHA DE SÃO PAULO (1998). *Caderno Agrofolha*, 03 de março de 1998.
- FONSECA, A.L. & ROCHA, O. *Laboratory cultures of native species Chironomus xanthus Rempel, 1939 (Diptera: Chironomidae)*. Acta Limnologica Brasiliensia. ISSN 0102-6712 Vol. 16, Nº 2. pp 153-161. 2004.
- FONSECA, A.L. *Avaliação da qualidade de água na Bacia do Rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados*. 1997. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo (EESC/USP). São Carlos. 194 p.
- FONSECA, A.L. *A biologia das espécies Daphnia laevis, Ceriodaphnia dubia silvestris (Crustacea, Cladocera) e Poecilia reticulata (Pisces, Poeciliidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais*. São Paulo: UFSCar, 1991. 210p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 1991.
- GANGHI, S.R. *Comparative effects of synthetic insecticides – Endosulfan, Phosalone and Permethrin on Chlamydomonas reinhardtii Algal Cells*. Acta Microbiol. Hung., 35, 93. 1988.
- GELMINI, G.A. *Agrotóxicos: Legislação – Receituário Agrônomo*. Campinas, Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Manual 29, 108 p. 1994.

- HAMER, M. J., MAUND, S. J., HILL, R. *Laboratory methods for evaluating the impact of pesticides on water/sediment organisms*. Proc Brighton Crop Prot Conf Pests Dis. A 6-4:487-496 1992.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURTON, R.V. *Trimed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays*. Environ. Sci. Technol., New York, v. 11, n. 7, p. 714-719. 1977.
- HILL, R. *Aquatic organisms and pyrethroids*. Pestic Sci 27:429-465. 1989.
- HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B.A., BURTON, G.A. and CAIRNS, J., *HANDBOOK OF ECOTOXICOLOGY*. Lewis Publishers. 1995.
- HOKE, R. A, *Evaluation of equilibrium partitioning theory for predicting acute toxicity of field-collected sediment contaminated with DDT, DDE and DDD to the amphipod Hyallela azteca*. Environm. Tox. Chem. 13:157-166. 1994.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA. INMETRO. *Crêterios para o credenciamento de laboratórios de ensaio segundo os Princípios de Boas Práticas de Laboratório*. INMETRO- Norma NIE-DINPQ-093. Rio de Janeiro, RJ. 27p. 2000.
- ISO, INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Determinação de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)*. Premi re  dition, ISO 6341 - Qualit  des Eaux. Paris. 9p. 1982.
- KUMAR, S. *The effects of Dieldrin, Dimethoate and Permethrin on Tetrahymena pyriformis*. Environ. Poll. (G.B.) 57, 275. 1989.
- LARINI, L. *Toxicologia dos Praguicidas*. São Paulo. Editora Manole Ltda, 1.ed., 230 p. 1999.
- LEE, D.R. *Reference toxicants in quality control of aquatic bioassays*. In: Buikema Jr., A.L. and Cairns Jr., J. eds. *Aquatic invertebrate bioassays*. ASTM-STP 715, ASTM, Philadelphia, PA, USA, pp. 188-199. 1980.
- MACHADO NETO, J. G. *Ecotoxicologia de Agrotóxicos*. Jaboticabal, FCAV – FUNEP, São Paulo, 49 p. 1991.
- MALCOLM, C. A. *Reduced susceptibility to Permethrin and its relationship to DDT resistance in larvae of Anopheles stephensi*. Med. Vet. Entom., 2, 27. 1988.
- MAUND, S. J., HAMER, M. J., LANE, M. C. G., FARRELLY, E., RAPLEY, J. H., GOGGIN, U. M. AND GENTLE, W.E. *Partitioning, Bioavailability, and Toxicity of the Pyrethroid Insecticide Cypermethrin in Sediments*. Environ. Toxicol. And Chem., Vol. 21, No. 1, pp 9-15. 2002.

- MEDINA, M. *et al.* ***Effets of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms***. Ecotoxicology and Environmental Safety. Santiago, Chile. 2002.
- MELETTI, P.C. **Avaliação da qualidade da água da bacia do Rio Piracicaba, SP, através de parâmetros ecotoxicológicos**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo – EESC/USP. 149p. 1997.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 36, 19 de Janeiro de 1990.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 1469, 29 de Dezembro de 2000.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 518, Março de 2004.
- MOKRY, L. E. AND HOAGLAND, K. D. ***Acute toxicity of five synthetic pyrethroid insecticides to Daphnia magna e Ceriodaphnia dubia***. Environ. Toxicol. Chem., 9, 1045. 1990.
- MOZETO, A. A. *et al.* **Bases tecno-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS): Experimentos de campo e Laboratório**. Relatório Final do Projeto Qualised – Proc. FAPESP Nº 98/12177-0. 2003.
- MUIR, D. C. G.; TOWNSEND, B. E.; LOCKHART, W. L. ***Bioavailability of six organic chemicals to Chironomus tentans larvae in sediment and water***. Env. Toxic. Chem. 20:269-281. 1983.
- NUNES, G. S. & RIBEIRO, M. L. ***Agrotóxicos: Uso, Legislação e Controle***. In: Agrotóxicos: R. Ecotox. E Meio Ambiente, v. 9, p. 31-44. 1999.
- OECD, ***Organization for Economic Cooperation and Development***. G 218 “*Sediment-Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment*”. 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE - IBAMA, **PORTARIA NORMATIVA Nº 84**, de 15 de Outubro de 1996.
- POWER, E. A. and CHAPMAN, P. M. ***Assessing sediment quality***. In Burton, G. A., ed. Sediment Toxicity assessment. Lewis, PL. USA, pp. 1-18. 1992.
- PROJETO QUALISED**, 2003. Disponível em:
www.dq.ufscar.br/Labs/biogeoquimica/qualised.htm
- RAND, G. M. & PETROCELLI, S.R. ***Fundamentals of Aquatic Toxicology***. Mc Graw Hill International Book Company, pp. 666. 1985.

- REYNALDI, S. *Efectos letales posteriores a una breve exposición (24h) al insecticida piretroide fenvalerato en neonatos y adultos de Daphnia magna Straus*. Resumo apresentado no VI Congresso SETAC Latinoamérica. Buenos Aires, Argentina. 2003
- RIBEIRO, R., KELLY, L. A., GONÇALVES, F., BURTON, G. A. Jr., SOARES, A M. V. M. *New artificial sdiment for Chironomus riparius toxicity testing*. Environ. Contam. Toxicol 63691-697. New York. 1999.
- ROCHA, O., MATSUMURA-TUNDISI, *Growth rate, longevity and reproductive performance of Daphnia laevis Birge, Daphnia gessneri Herbst and Daphnia ambigua Scourfield in laboratory cultures*. Revista Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, v. 50, n. 4, p. 915 - 921. 1990.
- ROSA, A.V. *Agricultura e meio ambiente*. São Paulo: Ed. Atual, 95p. 1998.
- SCHNITZER, M. K. S. *Humic substances in the environment*. Marcel Dekker, New York, NY, USA. 1972.
- SILVERIO, P. F. *Bases tecno-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimentos para metais: Experimentos de campo e laboratório*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 2003.
- SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA – SINDAG. *Defensivos agrícolas em linha de comercialização por ingredientes ativos*. Consulta em 07/03/03. Disponível em: www.sindag.com.br.
- SOARES, A.M.V.M. *Ecotoxicologia e determinação de riscos ecológicos. Prática e perspectiva*. In: 2ª. *Conferência Nacional sobre a qualidade do Ambiente*. Lisboa, v. 1, B43-52. 1990.
- SOLOMON, K. R.; GIDDINGS, J.M. and MAUND, S.J. *Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: I Distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data*. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20, Nº 3, pp. 652- 659. 2001.
- SPACIE, A. & HAMELINK, J.L. *Bioaccumulation*. In: RAND, G.M.& PETROCELLI, S.R., (Ed.). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*, New York: Hemisphere, 1985. p.495-525. 1985.
- STRATTON, G. W. AND GILES, J. *Importance of Bioassay Volume in Toxicity Tests Using Algae and Aquatic Invertebrates*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44, 420. 1990.
- STRIXINO, S. T. *A largura da cabeça na determinação das fases Irvais de Chironomidae na Represa do Lobo*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, 289 p. 1973.

- STRIXINO, S. T. **Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancarlensis* sp. n. (Diptera: Chironomidae).** Tese de Doutorado, Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, 349 p. 1980.
- STRIXINO, S. T. & STRIXINO, G. **Ciclo de vida de *Chironomus xanthus* Strixino & Strixino, (Diptera, Chironomidae).** Revista Bras. Ent. 26(2): 183-189. 1982.
- STRIXINO, S. T. & STRIXINO, G. **Larvas de Chironomidae (Diptera) do Estado de São Paulo – Guia de Identificação e Diagnose dos Gêneros.** Universidade de São Carlos, S.P. 1995.
- THURMAN, E. M. ***Organic Geochemistry of Natural Waters.*** Kluwer. Boston. MA, USA. 1985.
- TOLEDO, A. P. P. **Contribuição do Estudo Físico – Químico de Ácido-Húmico extraído de sedimento.** UFSC, São Carlos, SP. 1973.
- TOMLIN, C. Ed. ***The Pesticide Manual.*** Incorporating the agrochemicals Handbook. Tenth Edition, p. 21-1000. 1994.
- TUNDISI, J. G., BARBOSA, F. A. R., ***Conservation of Aquatic Ecosystems: Present Status and Perspectives.*** In: *Limnology in Brazil* ed. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciencias - SBL, p. 1-376. 1995.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Pesticides in drinking water.*** 2000.
- YOUNES, M & GALAL-GORCHEV, H. ***Pesticides in drinking water – a case study.*** Food Chem Toxicol., v.38; p.S87- S90, 2000.
- ZAGATO, P. A. **Avaliação de risco para homologar agrotóxicos.** Ambiente. Vol. 1, Nº 3. pp. 23-28. 1993.