



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**VALIDAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS COM
ORGANISMOS AUTÓCTONES**
Daphnia laevis e Ceriodaphnia silvestrii

PATRICIA CASTILHO MAMONO JACONETTI

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
CENTRO DE QUÍMICA E MEIO AMBIENTE
LABORATÓRIO DE ECOLOGIA AQUÁTICA E ECOTOXICOLOGIA**

**VALIDAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS COM ORGANISMOS
AUTÓCTONES – *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii***

PATRICIA CASTILHO MAMONO JACONETTI



**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**

Dedico este trabalho ao meu Filho
João Pedro, por ter dado mais
alegria e motivação à minha vida.

Agradecimentos

À minha querida orientadora, Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel, pela orientação, paciência, amizade, carinho, enfim por tudo que fez por nós durante os anos em que estivemos no IPEN.

Ao meu Pai, Hamilton Mamono e especialmente minha Mãe, Margarete Castilho Mamono, por terem sido meus maiores incentivadores e por terem sempre me apoiado nos momentos difíceis, sem esta ajuda jamais estaria aqui. Muito obrigada.

Ao professor Dr. Abílio Lopes de Oliveira Neto, por sempre ter acreditado em mim, pelo incentivo, e pela amizade. Serei eternamente grata.

Ao Professor Dr. André Cordeiro Alves dos Santos, pela amizade e ajuda.

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

Aos profissionais e amigos do Centro de Química e Meio Ambiente – CQMA, pela ajuda, convívio e amizade durante este período.

A Dra. Suely Borreli pelas sugestões e amizade.

Ao Dr. Jorge Moreira Vaz, pela disposição em sempre ajudar.

A Natália e especialmente à Vanessa, por terem me ajudado com os testes no período em que estagiavam no laboratório, pela amizade e pela companhia.

Aos colegas com quem convivi no Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia aquática; especialmente ao Luiz Eduardo e ao Gustavo, pelas sugestões, pelo convívio e amizade.

As minhas amigas Carla Capoleti e Angélica, pela sincera amizade que cultivamos durante estes anos em que convivemos neste laboratório, e aprendemos a aceitar e dividir nossas angústias, nossas qualidades e nossos defeitos. Sem esquecer dos momentos que passamos... Histórias para contar para nossos netinhos...

Ao meu Irmão Eduardo e minha cunhada Andrea pela ajuda e cuidado com o João Pedro, nos momentos em que precisei estar ausente.

Ao Drº João Alberto Messas pela feliz coincidência de entrar em minha vida e trazer tantas alegrias sem esquecer do constante incentivo e ajuda que recebi na reta final deste trabalho. Muito, muito obrigada.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

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

*“A cada dia que vivo,
mais me convenço de que o
desperdício da vida
está no amor que não damos,
nas forças que não usamos,
na prudência egoísta que nada arrisca,
e que, esquivando-se do sofrimento,
perdemos também a felicidade.”*

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de validar as espécies nativas *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* como organismo-teste em ensaios de toxicidade crônica realizados à 25°C, com ênfase nos critérios de aceitabilidade do controle, sob o escopo da NBR ISO/EIC 17025. O ciclo de vida das espécies *D. laevis* e *C. silvestrii* foi avaliado, de modo a determinar os parâmetros biológicos: crescimento, fecundidade e longevidade em temperatura de 25°C, alimentadas na concentração de 10⁵ cél.mL⁻¹ de *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*). Sob as condições de cultivo, o comprimento médio da espécie *D.laevis* é de 0,64mm ao nascer, 2,17 mm na primeira reprodução e 2,62 mm do adulto e para *C.silvestrii* 0,39mm ao nascer, 0,73mm na primeira reprodução e 1,06mm do adulto. A reprodução de *D. laevis* inicia-se por volta do 7º e a de *C.silvestrii* inicia-se no 5º dia, sendo que alcançam as três primeiras posturas entre 8 e 10 dias, portanto, para ensaios crônicos a duração dos testes será entre 8 e 10 dias, sendo que o teste deverá ser finalizado quando a espécie alcançar três posturas. A longevidade média de *D. laevis* foi de 28,3 dias e a máxima de 45 dias e, para *C. silvestrii*, de 28,8 dias e a máxima de 46 dias.

A faixa de sensibilidade (CE(I)50;48H) de *D. laevis* para o cloreto de sódio situa-se no intervalo entre 1,52 e 3,43 g.L⁻¹ NaCl, sendo a média 2,27 g.L⁻¹ e a de *C. silvestrii* CE(I)50;48H situa-se no intervalo entre 1,20 e 1,79 g.L⁻¹, sendo que a média de 1,57g.L⁻¹. Como critério de aceitabilidade dos controles em testes crônicos foi estabelecido o valor aceitável de fecundidade de três posturas de *C. silvestrii* deve ser maior que 14 neonatas/fêmea e de para *D. laevis* maior que 19 neonatas/fêmea, sendo que 60% das fêmeas deverão alcançar estes valores em 3 posturas até o final do teste, que não deve exceder 10 dias. O valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) para o crescimento de *D. laevis* foi de 0,7 g.L⁻¹ NaCl e o valor de CEO (Concentração de Observado) foi de 1,0 g.L⁻¹ NaCl. Para *C. silvestrii* não foi verificado efeito crônico do Cloreto de Sódio sobre o crescimento nas concentrações testadas. O valor de CENO para a reprodução de *D. laevis* foi de 0,7 g.L⁻¹ NaCl e o valor de CEO foi de 1,0 g.L⁻¹ NaCl. O valor de CENO para a reprodução de *C. silvestrii* foi de 0,1 g.L⁻¹ NaCl e o valor de CEO foi de 0,25 g.L⁻¹ NaCl. A toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *D. laevis* expressa pela CE(I)50;24H foi de 1,08µg.L⁻¹ e a CE(I)50;48H de 0,48 µg.L⁻¹. A

toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *C. silvestrii* expressa pela CE(I)50;24H foi de 0,25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e a CE(I)50;48H de 0,16 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

" Ecotoxicologic assay validation with native species *Daphnia laevis* and *Ceriodaphnia silvestrii*"
(título informado pela submissão - 20/08/18)

ABSTRACT

This work has been developed with the purpose of validating native species *Daphnia laevis* and *Ceriodaphnia silvestrii* as test organism in chronic toxicity essays performed at 25°C, emphasizing control acceptability criteria, under NBR ISO/EIC 17025 scope. *D. laevis* and *C. silvestrii* species life cycle has been assessed, so as to establish biological parameters: growth, fertility and longevity at 25°C temperature, fed with 10⁵ cel.ml⁻¹ of *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*). With the cultivation conditions, average length of *D. laevis* species is 0.64 mm upon birth, 2.17 mm upon first reproduction and 2.62 mm upon adulthood, and for *C. silvestrii*, 0.39 mm upon birth, 0.73 mm upon first reproduction and 1.06 mm upon adulthood. *D. laevis* reproduction starts around the 7th day, and *C. silvestrii*'s on the 5th, and they start laying between 8 and 10 days, therefore, for chronic essays the tests will be from 8 to 10 days long, and shall be concluded when the species gets to three layings. *D. laevis* average longevity was 28.3 days, and maximum, 45 days; *C. silvestrii* average was 28.8 days and maximum 46 days. *D. laevis* sensitivity range (CE(I)50; 48H) for sodium chloride is within the interval between 1.52 and 3.43 g.L⁻¹ NaCl, with average 2.27 g.L⁻¹, and *C. silvestrii*'s CE(I)50;48H is within the interval between 1.20 and 1.79 g.L⁻¹, with average 1.57g.L⁻¹. As controls acceptability criterion in chronic tests, the acceptable fertility value for three layings for *C. silvestrii* has been established as over 14 newborns / female, and for *D. laevis*, over 19 newborns / female. Additionally, 60% of the females shall attain these values in three layings up to the end of the test, which shall not be longer than 10 days. NOEC (Non-Observed Effect Concentration) value for *D. laevis* growth was 0,7 g.L⁻¹ NaCl, and OEC (Observed Effect Concentration) value was 1.0 g.L⁻¹ NaCl. For *C. silvestrii* no chronic effect of Sodium Chloride has been observed over growth in the concentrations tested. NOEC value for *D. laevis* reproduction was 0.7 g.L⁻¹ NaCl, and OEC value was 1.0 g.L⁻¹ NaCl. NOEC value for *C. silvestrii* reproduction was 0.1 g.L⁻¹ NaCl, and OEC value was 0.25 g.L⁻¹ NaCl. Acute toxicity of pesticide permethrin for *D. laevis*, expressed by CE(I)50; 24H, was 1.08µg.L⁻¹, and CE(I)50; 48H was 0.48 µg.L⁻¹. Acute toxicity of permethrin for *C. silvestrii*, expressed by CE(I)50; 24H, was 0.25µg.L⁻¹, and CE(I)50; 48H was 0,16 µg.L⁻¹

SUMÁRIO

	página
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	07
2.1. Objetivos Gerais	07
2.2. Objetivos específicos	07
3. MATERIAL E MÉTODOS	08
3.1. Cultivo e manutenção	08
3.1.1. Procedência	08
3.1.2. Condições do cultivo, controle de dureza e pH	08
3.1.3. Alimento	09
3.2. Ensaio Ecotoxicológicos	09
3.2.1. Testes preliminares	09
3.2.2. Testes definitivos	09
3.2.3. Teste de Sensibilidade	10
3.2.3.1. Carta-controle	10
3.2.4. Preparo do organismo-teste	11
3.2.5. Preparo das soluções	11
3.2.6. Avaliação da toxicidade aguda para permetrina	12
3.2.6.1. Substância teste	12
3.2.6.2. Preparo das soluções	13
3.3. Estabelecimento de critérios para aceitabilidade do controle em testes crônicos com <i>Daphnia laevis</i> e <i>Ceriodaphnia. silvestrii</i>	13
3.3.1. Ciclo de vida	13
3.3.1.1. Crescimento individual	14
3.3.1.2. Fecundidade	15
3.3.1.3. Longevidade	15
3.3.1.4. Crescimento populacional – Determinação intrínseca de aumento natural de <i>Daphnia laevis</i> e <i>Ceriodaphnia. silvestrii</i>	15
3.4. Avaliação da toxicidade crônica	16
3.4.1. Cloreto de sódio	17
3.5. Análise estatística	17
4. RESULTADOS	18
4.1. Experimentos com <i>Daphnia laevis</i>	18
4.1.1. Teste de sensibilidade	18
4.1.2. Estabelecimento de critérios para testes crônicos – Ciclo de Vida de <i>Daphnia laevis</i>	20
4.1.2.1. Crescimento individual	20
4.1.2.2. Fecundidade	21
4.1.2.3. Longevidade	23

4.1.2.4. Critérios de aceitabilidade do controle do teste crônico	23
4.1.2.5. Crescimento populacional – Determinação da taxa intrínseca de aumento natural de <i>Daphnia laevis</i> .	24
4.1.3. Avaliação da toxicidade crônica do cloreto de sódio para <i>Daphnia laevis</i>	26
4.1.3.1. Crescimento individual	26
4.1.3.2. Fecundidade	35
4.1.3.3. Critérios de aceitabilidade do controle	37
4.1.4. Avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para <i>Daphnia laevis</i>	38
4.2. Experimentos com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	40
4.2.1. Teste de sensibilidade	40
4.2.2. Critérios para testes crônicos – Ciclo de Vida de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	42
4.2.2.1. Crescimento individual	43
4.2.2.2. Fecundidade	43
4.2.2.3. Longevidade	45
4.2.2.4. Critérios de aceitabilidade do controle do teste crônico	46
4.2.2.5. Crescimento populacional – Determinação da taxa intrínseca de aumento natural de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .	46
4.2.3. Avaliação da toxicidade crônica do cloreto de sódio para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	47
4.2.3.1. Crescimento individual	48
4.2.3.2. Fecundidade	56
4.2.3.3. Critérios de aceitabilidade do controle	57
4.2.4. Avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	58
5. DISCUSSÃO	60
5.1. Teste de sensibilidade	60
5.2. Ciclo de vida de <i>Daphnia laevis</i> e <i>Ceriodaphnia. silvestrii</i>	63
5.2.1. Crescimento individual	63
5.2.2. Fecundidade	65
5.2.3. Longevidade	67
5.2.4. Critérios de aceitabilidade para o controle	67
5.2.5. Crescimento populacional – Determinação da taxa intrínseca de aumento natural	70
5.3. Avaliação da toxicidade	71
5.3.1. Toxicidade crônica do cloreto de sódio (NaCl)	71
5.4. Toxicidade aguda do agrotóxico permetrina	74
6. CONCLUSÕES	78
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE TABELAS

	página
TABELA 1. Informações disponíveis da formulação comercial do produto testado.	13
TABELA 2 - Concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 24 e 48 H) de cloreto de sódio (g.L ⁻¹) para <i>Daphnia laevis</i> à 25° C ± 1.	19
TABELA 3 - Número total e médio de filhotes produzidos nas três primeiras posturas dos cultivos individuais (n=10) de <i>Daphnia laevis</i> .	24
TABELA 4 - Valores de Nt (número total), N ₀ (número inicial), t (tempo) e r (taxa intrínseca de aumento natural) para <i>D. laevis</i> .	24
TABELA 5 - Número total de indivíduos das populações de <i>D. laevis</i> em culturas com volume de 2 litros de água de cultivo 14 dias.	25
TABELA 6 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 1 com <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.	26
TABELA 07 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.	27
TABELA 08 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio.para <i>D. laevis</i> . Teste 1	31
TABELA 09 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 2 com <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.	31
TABELA 10 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.	31
TABELA 11 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio.para <i>D. laevis</i> . Teste 2	35
TABELA 12 - Fecundidade total (nº. de neonatas/fêmea) de <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.	37
TABELA 13 - Fecundidade total (nº de neonatas/fêmea) de <i>D. laevis</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.	37
TABELA 14 – Total de neonatas em 3 posturas no experimento de ciclo de vida e nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para <i>Daphnia laevis</i> .	38
TABELA 15 - Toxicidade do agrotóxico permetrina para <i>Daphnia laevis</i> .	39
TABELA 16 - Concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 24 e 48 H) de cloreto de sódio (g.L ⁻¹) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> à 25° C ± 1.	40
TABELA 17. Número de filhotes produzidos em três posturas nos cultivos individuais de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .	46

TABELA 18 - Valores de Nt (número total), N ₀ (número inicial), t (tempo) e r (taxa intrínseca de aumento natural) para <i>C. silvestrii</i> .	46
TABELA 19 - Número total de indivíduos das populações de <i>C. silvestrii</i> em culturas com volume de 2 litros de água de cultivo em 14 dias.	47
TABELA 20 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 1 com <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.	48
TABELA 21 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio no Teste 1.	48
TABELA 22 - Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para <i>C. silvestrii</i> . Teste 1	52
TABELA 23 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 2 com <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.	52
TABELA 24 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.	52
TABELA 25 - Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para <i>C. silvestrii</i> . Teste 2	55
TABELA 26 - Fecundidade total (número de neonatas/fêmea) de <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.	57
TABELA 27 - Fecundidade total (número de neonatas/fêmea) de <i>C. silvestrii</i> para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.	57
TABELA 28 - Total de neonatas em 3 posturas no experimento de ciclo de vida e nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .	58
TABELA 29 - Toxicidade do agrotóxico permetrina para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .	59
TABELA 30 - CE(I)50; 48H de dicromato de potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇) e cloreto de sódio (NaCl) para espécies de <i>Daphnia</i> .	61
TABELA 31 - CE(I)50; 48H de dicromato de potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇) e cloreto de sódio (NaCl) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> e <i>C. dubia</i> .	62
TABELA 32 - Ciclo de vida de <i>C. silvestrii</i> em condições de temperatura e alimentação diferenciadas.	66
TABELA 33 - Comparação entre o ciclo de vida de <i>C. silvestrii</i> e <i>C. dubia</i> cultivadas a 25°C alimentadas com alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (<i>Selenastrum capricornutum</i>) na concentração de 1.10 ⁵ cel.ml ⁻¹ e ração de peixe fermentada.	68
TABELA 34 - Comparação entre o ciclo de vida de <i>Daphnia laevis</i> cultivadas na temperatura de 20 e 25°C.	69
TABELA 35. CE(I)50 de permetrina para diferentes organismos encontrados na literatura.	75

LISTA DE FIGURAS

	página
FIGURA 1. Procedimento para medida do comprimento total do corpo de <i>Daphnia laevis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . As barras em branco indicam eixo para obter a medida de comprimento. Aumento: 10 x 2,5.	14
FIGURA 2 - Sensibilidade CE(I)50;48H de <i>D.laevis</i> ao cloreto de sódio (g. L ⁻¹).	19
FIGURA 3 - Carta controle CE(I)50; 48H de <i>D. laevis</i> para cloreto de sódio (g.L ⁻¹).	20
FIGURA 4 – Crescimento (mm) para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> .	21
FIGURA 5 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de <i>Daphnia laevis</i> ao longo do ciclo de vida.	21
FIGURA 6 – Fecundidade total nos cultivos individuais (n = 10) de <i>D. laevis</i> .	22
FIGURA 7 - Produção acumulada de neonatas de <i>D. laevis</i> em 43 dias, em cultivos individuais á 25°C.	22
FIGURA 8 - Sobrevivência (dias) de <i>Daphnia laevis</i> .	23
FIGURA 9 - Crescimento populacional para <i>D. laevis</i> .	25
FIGURA 10 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> . Controle;Teste1.	27
FIGURA 11 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em 0,7g.L ⁻¹ NaCl. Concentração A; Teste 1.	28
FIGURA 12 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em 1,0 g.L ⁻¹ de NaCl. Concentração B; Teste 1	28
FIGURA 13 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 1,4 g.L ⁻¹ . Concentração C; Teste 1.	29
FIGURA 14 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 1,9 g.L ⁻¹ . Concentração D; Teste1.	29
FIGURA 15 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste1 (Concentrações: A = 0,7 g.L-1 B = 1,0 g.L-1 C = 1,4 g.L-1 D = 1,9 g.L ⁻¹).	30
FIGURA 16 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> .. Controle; Teste 2.	32
FIGURA 17 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 0,7g.L ⁻¹ . Concentração A; Teste 2.	32
FIGURA 18 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 1,0 g.L ⁻¹ . Concentração B; Teste 2.	33
FIGURA 19 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 1,4 g.L ⁻¹ . Concentração C;Teste 2.	33
FIGURA 20 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio de concentração 1,9 g.L ⁻¹ . Concentração D; Teste 2.	34

FIGURA 21 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de <i>Daphnia laevis</i> em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste 2 (Concentrações: A = 0,7 g.L ⁻¹ B = 1,0 g.L ⁻¹ C = 1,4 g.L ⁻¹ D = 1,9 g.L ⁻¹).	34
FIGURA 22 - Fecundidade de <i>D. laevis</i> (número de neonatas/fêmea). Teste 1.	36
FIGURA 23 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de <i>D. laevis</i> . Teste 2.	36
FIGURA 24 - Sensibilidade de <i>C. silvestrii</i> ao cloreto de sódio CE(I)50; 48H.	41
FIGURA 25 - Carta controle CE(I)50; 48H de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> para cloreto de sódio (g.L ⁻¹).	42
FIGURA 26 - Crescimento (mm) para fêmeas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> cultivadas a 25°C.	43
FIGURA 27 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> em 45 dias.	44
FIGURA 28 - Fecundidade total nos cultivos individuais (n = 10) de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .	44
FIGURA 29 - Produção acumulada de neonatas de <i>C. silvestrii</i> em 45 dias, em cultivos individuais à 25°C.	45
FIGURA 30 - Longevidade (dias) de <i>C. silvestrii</i> cultivadas a 25°C.	45
FIGURA 31 - Crescimento populacional para <i>C. silvestrii</i> .	47
FIGURA 32 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . Controle; Teste 1.	49
FIGURA 33 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,1g.L ⁻¹ NaCl. Concentração A; Teste 1.	49
FIGURA 34 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,25 g.L ⁻¹ NaCl. Concentração B; Teste 1.	50
FIGURA 35 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,6 g.L ⁻¹ NaCl. Concentração C; Teste 1.	50
FIGURA 36 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste 1. (Concentrações: A = 0,1 g.L ⁻¹ B = 0,25 g.L ⁻¹ C = 0,6 g.L ⁻¹).	51
FIGURA 37 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . Controle. Teste 2.	53
FIGURA 38 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,1g.L ⁻¹ NaCl. Concentração A; Teste 2	53
FIGURA 39 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,25 g.L ⁻¹ NaCl. Concentração B; Teste 2	54
FIGURA 40 - Curva de crescimento para fêmeas de <i>C. silvestrii</i> em 0,6 g.L ⁻¹ NaCl. Concentração C; Teste 2	54
FIGURA 41 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. (Concentrações: A = 0,1 g.L ⁻¹ ; B = 0,25 g.L ⁻¹ ; C = 0,6 g.L ⁻¹). Teste 2.	55

FIGURA 42 - Fecundidade de <i>C. silvestrii</i> de (número de neonatas/fêmea). Teste1.	56
FIGURA 43 – Fecundidade de <i>C. silvestrii</i> de (número de neonatas/fêmea). Teste2.	56
FIGURA 44 - Crescimento de <i>D. laevis</i> em função do tempo em cultivos à 25°C e 20°C.	64
FIGURA 45 - Crescimento de <i>D. laevis</i> a 25°C e 20°C (LAMEIRA, 2003) comparado com a espécie <i>D. similis</i> a 20°C (LAMEIRA, 2003).	65
FIGURA 46 - Crescimento e fecundidade de <i>D. laevis</i> a 25°C (MAMONO <i>et al.</i> , 2003).	65
FIGURA 47 - Crescimento e fecundidade de <i>D. laevis</i> a 20°C (LAMEIRA, 2003).	66
FIGURA 48 -. <i>Daphnia laevis</i> . Macho. Aumento10X25	71
FIGURA 49 - Efípio de <i>Daphnia laevis</i> . Aumento10X25	71

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1: Planilhas dos testes de sensibilidade de *D. laevis*

APÊNDICE 2: Tamanho (mm) de *D. laevis* cultivadas a 25°C

APÊNDICE 3: Dados sobre fecundidade de *D. laevis* cultivadas a 25°C.

APÊNDICE 4: Planilhas dos testes de toxicidade crônica com *D. laevis*

TABELA 1 - Crescimento de *D. laevis* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 1

TABELA 2 - Crescimento de *D. laevis* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 2

APÊNDICE 5

TABELA 1 – Teste nº. 1. Toxicidade crônica de cloreto de sódio para *D. laevis*.

TABELA 2 - Teste nº. 2. Toxicidade crônica de cloreto de sódio para *D. laevis* .

APÊNDICE 6: Análise estatística dos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *D. laevis*

APÊNDICE 6a: Análise estatística do comprimento das primíparas nos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *D. laevis*

APÊNDICE 7: Planilhas dos testes de toxicidade aguda com permetrina para *D. laevis*.

APÊNDICE 8: Planilhas dos testes de sensibilidade de *C. silvestrii* ao cloreto de sódio

APÊNDICE 9: Tamanho (mm) de *C. silvestrii* cultivadas a 25°C

APÊNDICE 10: Dados sobre fecundidade de *C. silvestrii* cultivadas a 25°C.

APÊNDICE 11: Planilhas dos testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii*

TABELA 1 - Crescimento de *C. silvestrii* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 1

TABELA 2 - Crescimento de *C. silvestrii* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 2

APÊNDICE 12

TABELA 1 - Teste nº. 1. Toxicidade crônica de cloreto de sódio para *C. silvestrii*.

TABELA 2 - Teste nº. 2. Toxicidade crônica de cloreto de sódio para *C. silvestrii*.

APÊNDICE 13: Análise estatística dos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *C. silvestrii* .

APÊNDICE 13a: Análise estatística do comprimento das primíparas nos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *C. silvestrii*.

APÊNDICE 14: Planilhas dos testes de toxicidade aguda com permetrina para *C. silvestrii*.

1. INTRODUÇÃO

Nos ecossistemas aquáticos de água doce, existe uma diversidade de microorganismos que são imprescindíveis para manter o equilíbrio do ambiente, pois são organismos produtores e consumidores primários que constituem a base da cadeia alimentar.

Na cadeia alimentar pode ser destacado a importância da comunidade zooplanctônica que é constituída por diferentes grupos de organismos, desde protozoários até vertebrados em estágio larval (ESTEVES, 1988).

Dentre os organismos zooplanctônicos está o grupo dos cladóceros, a maioria de água doce, com ampla distribuição em ambientes continentais de todo o mundo. ROCHA & SENDACZ (1996) apontam a ocorrência de 82 espécies no Brasil, distribuídas em sete famílias. Segundo KOROVCHINSKY (1986) apud DUMONT (1994) existem cerca de 600 espécies ocorrendo em todo o mundo.

A maioria dos cladóceros é de hábito rastejador ou bentônico, mas há famílias de hábito predominantemente planctônico. Com relação aos hábitos alimentares são filtradores. As espécies bentônicas alimentam-se de matéria orgânica da superfície de plantas, sedimentos ou outros materiais, enquanto as espécies planctônicas alimentam-se de algas, bactérias e outras partículas em suspensão (RUPPERT & BARNES, 1995).

Seu ciclo de vida inclui tanto reprodução assexuada por partenogênese quanto reprodução sexuada. Os machos são geralmente produzidos sob condições adversas, tais como, baixas temperaturas, superpopulação, redução drástica do nível d'água ou escassez de alimento (ROCHA, 2000). Os ovos fertilizados são liberados na água, e possuem uma estrutura modificada, denominada efípio.

Os dafinídeos, como os demais cladóceros, apresentam o desenvolvimento pós-embriônico divididos em instares. Esta fase inclui o período de desenvolvimento e amadurecimento sexual, ou seja, desde o nascimento até sua primeira postura, quando a fêmea é denominada primípara. A outra fase é a de adulto onde o organismo continua a sofrer mudas. A cada muda ou ecdise o organismo troca de carapaça e atinge outro instar, sendo cada instar considerado como uma unidade fisiológica do ciclo de vida dos

cladóceros (HERBERT, 1977). A duração e o número de ínstaes variam conforme a espécie, temperatura, qualidade e quantidade de alimento.

Muitos cladóceros podem sofrer mudanças sazonais na morfologia do corpo, através de sucessivas gerações produzidas partenogeneticamente, fenômeno este denominado ciclomorfose e que é comum entre algumas espécies do gênero *Daphnia*. Entre as espécies nativas, a ciclomorfose é mais notável em *Daphnia gessneri*, embora ocorra também em *D. laevis*. Os indivíduos gradualmente mudam a forma da cabeça de uma geração para outra, de arredondada para um capacete pontudo. Os fatores associados a esta variação morfológica são vários, mas os mais aceitos são o efeito da temperatura e o da predação (TUNDISI, *et al.* 1995; ROCHA, 2000).

Os cladóceros em geral possuem um papel fundamental para o ecossistema aquático, pois além de serem alimento para diversos organismos aquáticos, podem ser bioindicadores de qualidade da água.

O interesse em estudar os danos causados nos ecossistemas aquáticos e nos seus níveis de organização fez com que a Ecotoxicologia Aquática tivesse um grande desenvolvimento, a partir da década de 70.

A Ecotoxicologia revela, através de ensaios com matéria viva, efeitos agudos ou crônicos, produzidos por substâncias químicas (KNIE & LOPES, 2004).

Atualmente a Ecotoxicologia Aquática pode ser definida como a ciência dos contaminantes na Biosfera. Esta ciência tem como objetivo estudar o efeito dos contaminantes nos diversos constituintes da Biosfera, incluindo o Homem (NEWMAN & UNGER, 2003).

A análise ecotoxicológica tem por finalidade identificar os efeitos nocivos de substâncias químicas, isoladas ou em forma de misturas, e como e onde se manifestam estes efeitos (KNIE & LOPES, 2004).

Entre as metodologias utilizadas no biomonitoramento, temos os testes de toxicidade com organismos aquáticos (bioindicadores), estes testes também são conhecidos como ensaios ecotoxicológicos. No Brasil os ensaios ecotoxicológicos começam ser realizados no final da década de 70, com a implantação do Laboratório de Ensaios Biológicos da CETESB entre 1975 e 1977, os procedimentos adotados basearam-se em metodologias propostas por agências ambientais de países como Canadá (Environnement Canada),

Estados Unidos da América (United States Environmental Protection Agency – USEPA) e França (Association Française du Normalisation – AFNOR).

Os ensaios ecotoxicológicos podem ser realizados tanto em laboratório, como “in situ”, e seguem diversas metodologias, que apresentam como objetivo a avaliação dos efeitos de contaminantes potencialmente danosos para a vida aquática, tais como: alterações na qualidade da água, morte do organismo ou ainda efeitos sub-letais em seu ciclo de vida, como diminuição da fecundidade e alterações na taxa de crescimento individual ou populacional (RAND, 1995).

Muitas vezes os sistemas biológicos reagem a concentrações de substâncias bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análise química. Permitindo assim, uma avaliação segura do potencial tóxico de substâncias ou de meios contaminados, facilitando deduções indiretas do seu risco para o meio ambiente e para o homem.

A observação do comportamento e das reações de animais e plantas no contato com contaminações da natureza, por produtos químicos, levou, já no século IXX a se considerar o emprego de organismos como indicadores de impactos ambientais (KNIE & LOPES, 2004). Os bioindicadores, de acordo com HELLAWELL (1986), podem indicar problemas causados a um corpo d’água, quando este sofre influência de algum poluente. Um organismo pode ser utilizado como bioindicador ou organismo-teste se apresentar características como fácil amostragem; mobilidade limitada; baixa variabilidade genética e ecológica; elevada diversidade taxonômica e fácil identificação; ter representatividade ecológica e estarem disponíveis ao longo do ano; possuir informações sobre ciclo de vida, possuir fácil cultivo com custos relativamente baixos para sua manutenção; e, sensíveis a diferentes concentrações de poluentes no meio, fornecendo ampla faixa de respostas frente a diferentes níveis de contaminação ambiental (WEBER 1993).

Os estudos de toxicidade têm possibilitado estabelecer limites permissíveis de várias substâncias e avaliar o impacto de poluentes nos organismos aquáticos dos corpos receptores. E, segundo FONSECA (1991), pode fornecer dados importantes na formulação de padrões de qualidade de água para o composto que representa perigo ambiental.

Os testes de toxicidade são realizados expondo-se organismos-teste a várias concentrações de efluentes, possibilitando uma avaliação da toxicidade conjunta dos constituintes de natureza química complexa, tanto como suas interações (GUERARDI-GOLDSTEIN, E. *et. al.*, 1990; CETESB, 1997)

Estes ensaios podem avaliar a toxicidade aguda ou crônica. A toxicidade aguda é assim definida por envolver um curto período do ciclo de vida dos organismos testados. Neste caso, a toxicidade de substâncias químicas é avaliada em períodos de 24 e/ou 48 horas, importantes para evidenciar os efeitos letais em curtos intervalos de tempo, fornecendo dados fundamentais para o desenvolvimento e adoção de critérios para a melhoria da qualidade ambiental (FONSECA, 1991).

Os testes de toxicidade crônica são assim definidos por envolverem um período maior do ciclo de vida em exposição às substâncias químicas. Neste ensaio a finalidade é estudar o efeito sub-letal das várias concentrações de substâncias tóxicas, principalmente sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução das espécies (CETESB, 1997; RAND, 1995). Os ensaios de toxicidade crônica variam de acordo com o ciclo de vida do organismo-teste, e podem também ser realizados expondo-se os ovos, embriões, larvas, etc. dos organismos a serem testados (MITCHELL, 2002). Segundo RAND & PETROCELLI (1985) os testes de efeito sub-letal podem ser divididos em três categorias: Os testes que observam os efeitos bioquímicos e fisiológicos; os testes que analisam inibição enzimática e respiratória; testes comportamentais (locomoção, territorialidade e agressividade etc.) e os testes histológicos, que estudam mudanças no corpo e tecidos.

Os bioensaios, na sua maioria seguem procedimentos padronizados que utilizam organismos representativos de vários níveis tróficos. A CETESB (1992) realiza ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* que são organismos padronizados internacionalmente. Porém estes organismos não ocorrem naturalmente nos corpos d'água brasileiros.

A utilização de espécies nativas para avaliação da toxicidade vem se tornando uma prática em diversos Centros de Pesquisa, pois possibilita maior representatividade quando se extrapola os dados de ensaios em laboratório às condições de campo, aumentando a eficiência e confiabilidade das avaliações ecotoxicológicas.

Como salientado por FONSECA (1991), no Brasil existem esforços para desenvolver metodologias de testes de toxicidade utilizando espécies nativas, como *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia laevis*, que são espécies que possuem representatividade ecológica no país. Alguns trabalhos podem ser encontrados na literatura, onde os autores reconhecem a importância da utilização de organismos autóctones nos ensaios ecotoxicológicos (FONSECA, 1991; BOHRER, 1995; PRINTES, 1996; FONSECA, 1997; MELETTI, 1997; DAMATO, 1997; OLIVEIRA-NETO, 2000; LAMEIRA, 2003 e BOHRER-MOREL *et al.*, 2005).

No Brasil, poucas espécies de organismos nativos têm sido utilizadas em testes de toxicidade, segundo FONSECA (1991) este fato deve-se em parte às dificuldades decorrentes da ausência de estudos sobre a biologia de espécies nativas que possam ser utilizadas como organismos-teste.

As espécies de cladóceros mais utilizadas em ensaios de toxicidade para organismos de água doce são *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* (MITCHELL *et al.*, 2002). No Brasil também é muito freqüente a utilização de *Daphnia similis* em ensaios de toxicidade aguda, espécie normatizada.

A família Daphnidae, que inclui os gêneros *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, são microcrustáceos de água doce, Classe Crustacea, Ordem Cladocera. Apresentam ampla distribuição, e são consideradas uma das famílias mais diversificadas nas regiões temperadas (RAND, 1995).

Representantes da Família Daphniidae possuem distribuição global, porém a maioria das espécies são encontradas em países de clima frio e temperado (DUMONT, 1994). No Brasil, apenas três espécies de *Daphnias* foram identificadas; *Daphnia laevis*, *Daphnia gessneri* e *Daphnia ambigua*. (MATSUMURA-TUNDISI, 1984).

D. laevis foi considerada endêmica do continente Americano por Van de Valde (1978) (*apud*, MATSUMURA-TUNDISI, 1984) e no Brasil foi registrada sua ocorrência pela primeira vez em 1984 por MATSUMURA-TUNDISI, em lagos do Vale do Rio Doce.

A espécie *C. silvestrii* possui ampla distribuição (MATSUMURA-TUNDISI, 1984). Sua ocorrência é relatada em muitos trabalhos sobre a diversidade de cladóceros na maioria dos reservatórios brasileiros (SAMPAIO, 2002; GÜNTZEL, 2000; ROCHA, 2000). É também identificada como

Ceriodaphnia dubia silvestrii por alguns autores. Segundo ELMOOR-LOUREIRO (1997), o gênero *Ceriodaphnia* é mais representativo de águas do território brasileiro – quando comparada à *Daphnia sp*, sendo possível à coexistência de diversas espécies (ROCHA *et al*, 1995).

Atualmente utiliza-se a nomenclatura *Ceriodaphnia silvestrii* originalmente descrita por DADAY em 1902 a partir do material coletado na Patagônia durante os anos de 1899 a 1990 (FONSECA, 1991; OLIVEIRA-NETO, 2000).

Para utilização de uma nova espécie em ensaios ecotoxicológicos, é fundamental que sejam feitos estudos para conhecimento do seu ciclo de vida em condições controladas de laboratório, como temperatura, fotoperíodo e luminosidade, pH, dureza, níveis de oxigênio dissolvido, qualidade e quantidade de alimento e sensibilidade a substâncias de referência, para assim serem estabelecidos e critérios utilizados nos ensaios, sejam eles agudos ou crônicos. Uma vez estabelecidos os critérios, é necessário que sejam validados.

Este trabalho apresentou como objetivo a validação de *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* como organismo-teste em ensaios de toxicidade crônica realizados à 25^oC, com ênfase nos critérios de aceitabilidade do controle, sob o escopo da NBR ISO/EIC 17025.

De acordo com a NBR ISO/IEC 17025 (ABNT, 2005), a validação de um método é a confirmação do objetivo proposto, a fim de averiguar se as exigências específicas pretendidas estão sendo cumpridas. Para comprovar a validação de métodos não padronizados ou desenvolver novas metodologias é necessário se basear em metodologias já conhecidas, e fazer as modificações necessárias a fim de se obter um método padrão, confirmando que este método atende as exigências pretendidas para determinado uso. A validação é necessária para demonstrar a aplicabilidade do método e o seu campo de aplicação. Neste caso deve ser feito o registro dos resultados a fim de se obter um protocolo de uso, demonstrando os procedimentos usados para esta validação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

- Validar as espécies nativas *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* como organismo-teste em ensaios de toxicidade crônica realizados à 25⁰C, com ênfase nos critérios de aceitabilidade do controle, sob o escopo da NBR ISO/IEC 17025.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros biológicos (crescimento, reprodução e longevidade) de *D. laevis* na temperatura de 25°C;
- Determinar os parâmetros biológicos (crescimento, reprodução e longevidade) de *C. silvestrii* na temperatura de 25°C;
- Estabelecer carta-controle como critérios de qualidade para os cultivos de *D. laevis* e *C. silvestrii*;
- Estabelecer os critérios de aceitabilidade (mortalidade, número de posturas, fecundidade e duração do teste) para o teste de toxicidade crônica para *D. laevis* e *C. silvestrii*;
- Avaliar a toxicidade crônica para *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* ao Cloreto de Sódio;
- Avaliar a toxicidade crônica para *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* ao agrotóxico permetrina;
- Avaliar a toxicidade aguda para *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* ao agrotóxico permetrina.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Cultivo e manutenção

Os cultivos foram realizados de acordo com normas padronizadas para outras espécies (EPA, 1991, CETESB, 1992 e ABNT, 1995).

3.1.1. Procedência

Os cultivos das espécies *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii*, espécies autóctones, foram realizados com espécies provenientes do laboratório de Ecotoxicologia da Universidade de Minas Gerais – UFMG, (Dra. ARNOLA).

Para obtenção de culturas com genótipos homogêneos, o cultivo foi iniciado a partir do acompanhamento da descendência de 5 fêmeas partenogênicas em béquer de 100 ml. Após a segunda geração de filhotes iniciou-se o cultivo para aclimação em béqueres de 1 litro, com 30 organismos. Foi mantido em cultivo 2 béqueres com idades de 1 e 2 semanas.

3.1.2. Condições do cultivo, controle de dureza e pH.

Os cultivos eram mantidos a 25°C (± 2), sem aeração com fotoperíodo de 16 horas luz e intensidade luminosa de 1000 lux, com troca total de água e alimentação três vezes por semana (2^a, 4^a e 6^a feiras). A cada semana o cultivo mais velho era eliminado e um novo cultivo era aberto.

A água utilizada para manutenção dos cultivos foi coletada em fonte natural, na Represa Paiva Castro no município de Franco da Rocha, autoclavada, filtrada em papel filtro e a dureza ajustada entre 44 e 48 mgCaCO₃. A água de cultivo era armazenada em galão plástico e mantida com aeração por no mínimo 24 horas antes da manutenção, para completa solubilização e manutenção da saturação de oxigênio dissolvido, no momento da manutenção o pH era ajustado para 7,0 ($\pm 0,2$), utilizando-se para o ajuste de pH, soluções de Ácido Clorídrico, HCl 1N, ou hidróxido de Sódio, NaOH 1N. As variáveis, concentração de oxigênio dissolvido (OD), pH e condutividade foram medidas a cada troca de água, tanto para a água nova como para a água descartada do cultivo, obtendo-se assim um valor inicial e final.

3.1.3. Alimento

A alga utilizada como alimento foi a clorofíceia *Selenastrum capricornutum*, na concentração de 1×10^5 células.mL⁻¹. Cultivada em meio nutriente L.C. Oligo, sob aeração e iluminação constantes, à intensidade luminosa de 2800 lux, e a temperatura média de $\pm 24^\circ\text{C}$ (com variação máxima de 2°C). Além da alga, os organismos foram alimentados com um complemento alimentar a base de ração de peixe, combinada com fermento biológico fermentado, com teor de sólidos em suspensão calculado em $0,045\text{g.ml}^{-1}$.

3.2. Ensaio Ecotoxicológicos

3.2.1. Testes preliminares

Os testes preliminares apresentam como objetivo a determinação da faixa de concentração da solução-teste a ser utilizada no teste definitivo, delimitado pela menor concentração que causa imobilidade a 100% dos organismos e a concentração mais elevada na qual não se observa nenhuma imobilidade.

3.2.2. Testes definitivos

A metodologia adotada seguiu os procedimentos descritos nas normas CETESB (1992); ABNT (1995) e EPA (1991).

O princípio do método consistiu em expor fêmeas *D. laevis* e *C. silvestrii*, com menos de 24 horas de idade, a diferentes concentrações de uma amostra de modo a permitir a determinação da concentração efetiva inicial do agente tóxico que causou imobilidade a 50% dos organismos em 24 ou 48 horas de exposição, ou seja, CE(I) 50; 24 ou CE(I) 50; 48H.

3.2.3. Teste de Sensibilidade

Os testes de sensibilidade foram realizados conforme normas EPA (1991), CETESB (1992) e ABNT (1995). Para um teste ser considerado válido, de acordo com CETESB (1992), as condições de teste devem se manter constantes durante todo o período de exposição, a porcentagem de organismos imóveis ou mortos no controle não deve exceder 10%; o teor de oxigênio não deve ser menor que 2 mg.L¹. Seguindo recomendações EPA (1991) foi confeccionada uma carta controle, de modo a verificar se os resultados estão dentro dos limites prescritos (± 2 desvios-padrão).

As concentrações utilizadas nos ensaios preliminares foram feitas baseadas nos resultados apresentados por UTZ (1994); que determinou a faixa de sensibilidade de cloreto de sódio para *D. similis* e FONSECA (1991) que determinou a faixa de sensibilidade para *C. silvestrii*.

As soluções nas concentrações a serem testadas foram dispostas em tubos de ensaio com volume final de 10 mL, dispostos em 4 réplicas para cada concentração, onde posteriormente foram adicionados cinco indivíduos por réplica.

Os testes tiveram duração de 48 horas, mantidos a 25°C (± 2) no escuro, e sem alimentação. Após o período de exposição, procedeu-se a contagem dos organismos imóveis.

As faixas de sensibilidade para cada espécie utilizada devem ser determinadas em laboratório, através do cálculo da CE(I)50 à uma substância de referência. Os limites superior e inferior da faixa são estabelecidos pelo limite de dois desvios-padrão (2σ) em relação aos valores médios obtidos a cada teste realizado: $\bar{x} + 2\sigma$ e $\bar{x} - 2\sigma$, respectivamente (EPA, 1991). A CE(I) 50, 24 e 48 horas foram calculadas através do método Trimmed Sperman-Karber (HAMILTON *et al.*, 1977).

3.2.3.1 Carta controle

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de sensibilidade para cloreto de sódio, foi confeccionada uma carta controle. A carta controle apresenta um gráfico onde foram plotados os valores sucessivos dos resultados dos testes de

sensibilidade, a fim de verificar se estes resultados estão dentro dos limites prescritos (± 2 desvios padrão) segundo recomenda norma EPA (1991).

3.2.4. Preparo dos Organismos Teste.

Os organismos que foram expostos nos ensaios, tinham idade entre 6 e 24 horas, idade considerada adequada para o teste, segundo normas EPA (1991), eram provenientes de uma mesma fonte e cultivados por pelo menos duas gerações, nas mesmas condições de alimento, água e temperatura a que foram expostos nos ensaios.

3.2.5. Preparo das Soluções

A partir dos resultados dos testes preliminares para cloreto de sódio, foram abertas 5 concentrações em séries logarítmicas da substância a ser testada segundo calculo:

$$\sqrt[n-1]{\frac{a_n}{a_0}}$$

Onde:

n = número de concentrações

a n = concentração final

a o = concentração inicial

Para *D.laevis* as concentrações utilizadas foram: 1,0; 1,37; 1,87; 2,55 e 3,50 g.L⁻¹ de cloreto de sódio e para *C. silvestrii* foram utilizadas as concentrações de: 1,0; 1,3; 1,6; 1,9 e 2,2 g.L⁻¹ de cloreto de sódio.

As soluções eram preparadas no momento da realização dos testes, pesando-se 10 gramas de cloreto de sódio, adicionado a 1 litro de água destilada reconstituída para dureza entre 44 e 48 mgCaCO₃, e ph ajustado para 7 ($\pm 0,2$), denominada água de diluição. A partir desta solução de 10g.L⁻¹ de cloreto de sódio eram preparadas as concentrações a serem testadas.

3.2.6 Avaliação da Toxicidade Aguda para permetrina

A metodologia adotada para realização dos testes agudos foi baseada nos procedimentos descritos nas normas da ABNT (1995) e EPA (1991).

Os testes agudos definitivos foram realizados em tubos de ensaio aferidos para 10 ml, utilizando-se 5 concentrações selecionadas a partir dos resultados obtidos nos testes preliminares, mais um controle, com 4 réplicas cada. As soluções para testes eram preparadas no momento do teste utilizando como água de diluição e para controle, água destilada reconstituída.

Foram observados os efeitos em 24 e 48 horas. Ao final dos teste foram contados os organismos imóveis em cada tubo. De acordo com CETESB (1992), são considerados imóveis, todos os organismos que não são capazes de nadar num intervalo de 15 segundos em seguida de uma agitação suave no tubo.

Os dados de imobilidade obtidos no teste agudo foram analisados pelo método de Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977), e expressos em CE(L)50; 24 e 48H.

Os parâmetros químicos e físicos da água (condutividade, oxigênio dissolvido e pH) foram determinados no início e ao final dos ensaios.

3.2.6.1. Substância teste

Para avaliar o efeito tóxico da permetrina para *D. laevis* e *C. silvestrii* utilizou-se um inseticida sob a forma de produto comercial produzido pela FMC do Brasil Ind. Com, Número de registro: 3.0750.0014.001-5 com formulação contendo 38,4% do princípio ativo.

As informações encontradas na ficha técnica da formulação fornecida pelo comerciante encontram-se na TABELA 1. As concentrações foram preparadas considerando a quantidade de permetrina existente na formulação.

TABELA 1. Informações disponíveis da formulação comercial do produto testado.

Informações da Formulação	
Composição do produto	Permetrina, 38,4 %; Inertes, Q.S.P.
Número de registro	3.0750.0014.001-5
Tipo de formulação	Concentrado Emulsionável
Grupo químico	Ester ácido Crisantêmico
Ação toxicológica	Hipersensibilizante, irritante das mucosas
Tratamento	Anti-histaminico e tratamento sintomático
Nome técnico ou comum	Permetrina (Permethrin)
Sinonímia	FMC 33297, NRDC 143, Pounce
Nome Químico	3-fenoxibenzil(+) cis, trans-3-(2,2diclorofenil)2,2 dimetilciclopropano carboxilato
Formula Bruta	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$
Classificação Toxicológica	Classe III
Densidade	1,190 a 1,272 a 20°C
Peso molecular	391,3

3.2.6.2. Preparo das soluções

A partir dos resultados dos testes preliminares agudos, foram abertas 5 concentrações em séries geométricas da substância a ser testada. Para *D.laevis* as concentrações utilizadas foram: 0,1; 0,2; 0,4; 0,9 e 2,0 µg.L-1 e para *C. silvestrii* foram utilizadas as concentrações de 0,01; 0,03; 0,1; 0,32 e 1,0 µg.L-1 do principio ativo permetrina.

As soluções eram preparadas no momento da realização dos testes utilizando-se água destilada reconstituída dureza e ph ajustado para 7 (± 0,2).

3.3. Estabelecimento de critérios para aceitabilidade do controle em testes crônicos com *D.laevis* e *C. silvestrii*

3.3.1. Ciclo de vida.

Para o conhecimento do ciclo de vida de *D. laevis* e *C. silvestrii* em condições de laboratório foram realizados cultivos individuais, em béqueres de 30 ml com água de diluição e os mesmos alimentados nas mesmas condições do cultivo. Foram observados os parâmetros biológicos crescimento,

fecundidade e sobrevivência, a fim de estabelecer critérios de aceitabilidade para o teste crônico segundo normas EPA (1991).

3.3.1.1. Crescimento individual

Para avaliação do crescimento, diariamente foram retirados com o auxílio de uma pipeta Pauster de vidro, três indivíduos, do cultivo individual, colocados em uma lâmina escavada e medidos. A medida total do corpo do indivíduo foi observada sob microscópio estereoscópico da marca Leica modelo DMLS, com aumento de 40 vezes, com ocular micrometrada acoplada, como demonstrado na FIGURA 1. Posteriormente as medidas foram convertidas em milímetros.

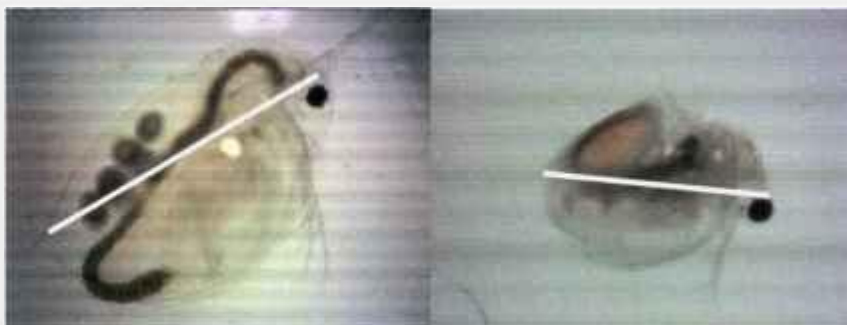


FIGURA 1. Procedimento para medida do comprimento total do corpo de *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii*. As barras em branco indicam eixo para obter a medida de comprimento. Aumento: 10 x 2,5.

As curvas de crescimento em comprimento para *D. laevis* e *C. silvestrii* foram obtidas através da aplicação do modelo de VON BERTALANFFY (BERTALANFFY, 1938).

A expressão de VON BERTALANFFY, é representada abaixo:

$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(t-t_0)}], \text{ onde:}$$

L_t = Comprimento total que, em média, os organismos podem atingir no momento t ;

L_{∞} = comprimento médio máximo que o organismo pode atingir;

e = base dos logaritmos neperianos;

k = constante relacionada com a taxa de crescimento;

to = parâmetro relacionado com o L total médio dos indivíduos no instante do nascimento (Lo), expresso em dias.

3.3.1.2. Fecundidade

O parâmetro fecundidade foi avaliado a partir da contagem diária dos filhotes obtidos nos cultivos individuais. Foi observada a idade e o tamanho onde as fêmeas obtinham a primeira postura (primípara). A fecundidade média da população foi acompanhada retirando-se do cultivo populacional 3 fêmeas aleatoriamente, e contados o número de embriões e/ou ovos, observados sob microscópio estereoscópico da marca Leica modelo DMLS, com aumento de 40 vezes, com ocular micrometrada acoplada.

3.3.1.3. Longevidade

O parâmetro longevidade foi avaliado a partir do acompanhamento da sobrevivência dos organismos nos cultivos individuais até a sua morte, expressando-se como longevidade o tempo de vida de um organismo em dias.

3.3.1.4. Crescimento populacional - Determinação da taxa intrínseca de aumento natural de *D. laevis* e *C. silvestrii*.

A taxa intrínseca de aumento natural, simbolizada como r_m , pode ser determinada como coeficiente instantâneo de crescimento de uma população, com uma estrutura de idade estável que esta aumentando em um ambiente limitado.

A expressão do aumento da população pode ser expressa de acordo com a equação diferencial:

$$dN / dt = rN$$

Reescrevendo a equação sobre a forma integral temos:

$$N_t = N_0 e^{rt}, \text{ onde}$$

N_t = número de indivíduos no tempo t ;

N_0 = número de indivíduos no tempo 0;

e = base do logaritmo neperiano;

r = taxa intrínseca de aumento natural;

t = tempo

Para determinação da taxa intrínseca de aumento da população foram feitos cultivos populacionais segundo metodologia adotada por FONSECA (1991), BOHRER (1995) e OLIVEIRA-NETO (2000), com algumas modificações para obtenção da taxa de aumento natural de uma população sob condições específicas em um ambiente limitado.

Para este experimento foi realizado um cultivo com 30 fêmeas com idade entre 6 e 12 horas em béquer de dois litros, nas mesmas condições de cultivo e alimentação adotadas para os cultivos populacionais e feito o acompanhamento e manutenção a cada dois dias durante 15 dias.

A manutenção foi feita através da troca completa da água de cultivo até o 8º dia, onde todos os organismos eram contados e introduzidos imediatamente na nova água já com alimento. A partir do 9º dia, como houve um aumento da população foram retiradas 3 alíquotas de 100 ml, contado e estimado o número de indivíduos para o volume de dois litros. O coeficiente de variação entre as réplicas contadas não poderia exceder 10%. Quando isto ocorreu foram contadas mais réplicas a fim de que o coeficiente de variação não mais excedesse 10 %. A manutenção foi feita a partir da sifonagem de 80% do volume e completado novamente o volume de dois litros com água de cultivo e alimentados nas mesmas condições anteriores. O variável oxigênio dissolvido, condutividade e pH iniciais e finais foram acompanhados em cada manutenção.

3.4. Avaliação da toxicidade crônica

Os testes crônicos foram feitos utilizando-se as metodologias da OECD (1984), EPA (1991) e ABNT (1995) com algumas adaptações, consideradas a partir dos dados obtidos nos experimentos para conhecimento do ciclo de vida das espécies estudadas.

3.4.1. Cloreto de Sódio

Com base nos resultados de CE(I)50 obtidos nos testes de sensibilidade foram selecionadas 5 concentrações para realização dos testes crônicos. Para *D. laevis* as concentrações utilizadas foram: 0,7; 1,0; 1,4; 1,9 e 2,6 g.L⁻¹ e para *C. silvestrii*: 0,1; 0,25; 0,6; 1,5 e 1,8 g.L⁻¹. As concentrações foram preparadas partindo-se de uma solução de concentração de 10g.L⁻¹. A água de diluição utilizada foi água destilada reconstituída dureza entre 40 e 48 mgCaCO₃.

Foram feitas dez replicas de cada concentração, onde uma neonata entre 6 e 12 horas de idade foi colocada em um béquer de 30 ml de solução-teste e alimentadas com alga na concentração de 1x10⁵ células.mL⁻¹ de *Selenastrum capricornutum* e ração fermentada de peixe na quantidade de 0,045g.ml⁻¹, a cada dois dias, até o termino do ensaio.

Os testes foram mantidos em incubadora modelo 157 FANEM, 25°C (±2), sem aeração com fotoperíodo de 16 horas luz e intensidade luminosa entre 500 e 1000 lux, e cobertos com um papel filme plástico para evitar a deposição de poeira e interferências nos resultados.

A duração dos testes foi de 10 dias ou até 60 % dos organismos completarem três posturas, condição esta estipulada através do experimento realizado para conhecimento dos padrões biológicos das espécies nas mesmas condições de cultivo e alimentação.

Neste ensaio foram observados os parâmetros de fecundidade e crescimento. Foram controlados os parâmetros finais e iniciais de pH, oxigênio dissolvido e condutividade.

3.5. Análise Estatística

Nos ensaios de toxicidade crônica, para obtenção dos valores de CENO (concentração de efeito não observado) e CEO (concentração de efeito observado) foi utilizado o programa computacional "TOXSTAT 3.3 Computer Program" (GULLEY et alli, 1991). Para determinação do CE(I) 50 24 e 48 horas, foi utilizado o programa Trimed Spearman-Karber Method (HAMILTON et. al. 1977).

4. RESULTADOS

4. 1. Experimentos com *D. laevis*

4.1.1. Teste de Sensibilidade

O teste de sensibilidade tem como objetivo verificar se os organismos estão em condições para serem utilizados em ensaios de toxicidade. Neste tipo de ensaio é feito o controle das condições fisiológicas da espécie frente a uma substância de referência, verificando-se a mobilidade ou mortalidade.

As faixas de sensibilidade para *D. laevis* foram determinadas em laboratório, através do cálculo da CE(I)50 à substância de referência cloreto de sódio. Foram realizados dezesseis ensaios, para estabelecimento da faixa de sensibilidade ao cloreto de sódio. As concentrações utilizadas nos testes definitivos foram 1,0; 1,4; 2,0; 2,6 e 3,5 g.L⁻¹ NaCl. O Apêndice 1 apresenta as planilhas com os dados obtidos nos ensaios de sensibilidade.

Os valores médios obtidos foram: CE(I)50 24 horas 2,87 g.L⁻¹ e CE(I)50 48 horas 2,27 g.L⁻¹. Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que o coeficiente de variação está dentro da precisão analítica esperada para testes de sensibilidade. O valor expresso pelo coeficiente de variação, obtido no teste é de 22%. Os resultados estão apresentados na Tabela 2 e ilustrados na Figura 2.

A Figura 3 mostra a carta controle confeccionada a partir dos resultados obtidos nos ensaios de 48 horas, utilizando os primeiros cinco testes definitivos para determinação do valor médio e desvio padrão, para CE(I)50; 48H e da faixa de sensibilidade dos organismos para o cloreto de sódio (NaCl) que foi de 2,48 (1,52 - 3,43) g/L⁻¹ NaCl.

Nos 16 testes realizados apenas um (teste nº 9) esteve abaixo da faixa de sensibilidade estabelecida a partir da confecção da carta controle.

TABELA 2 - Concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 24 e 48 H) de cloreto de sódio (g.L⁻¹) para *Daphnia laevis* à 25° C ± 1.

Teste N°	CE(I) 50; 24 H (g . L ⁻¹)	Intervalo de confiança	CE(I) 50; 48 H (g . L ⁻¹)	Intervalo de confiança
1	-	-	2,70	2,50 - 3,00
2	-	-	2,11	1,99 - 2,24
3	4,04	3,66 - 4,46	2,95	2,95 - 2,95
4	-	-	2,76	2,47 - 3,07
5	2,35	2,25 - 2,45	1,84	1,56 - 2,18
6	-	-	2,22	1,91 - 2,59
7	-	-	2,81	2,51 - 3,16
8	2,88	2,52 - 3,28	2,06	1,78 - 2,38
9	2,64	2,33 - 3,00	1,23	1,14 - 1,33
10	-	-	1,79	1,40 - 2,29
11	1,96	1,74 - 2,19	1,87	1,68 - 2,09
12	2,87	2,17 - 3,81	2,13	1,89 - 2,40
13	2,93	2,46 - 3,49	2,56	2,24 - 2,92
14	3,32	2,72 - 4,05	2,70	2,05 - 3,55
15	-	-	1,81	1,62 - 2,01
16	-	-	2,86	2,41 - 3,41
CE medio	2,87		2,27	
DP	0,49		0,50	
CV	22%		22%	
Testes preliminares		DP – Desvio Padrão		CV – Coeficiente de Variação

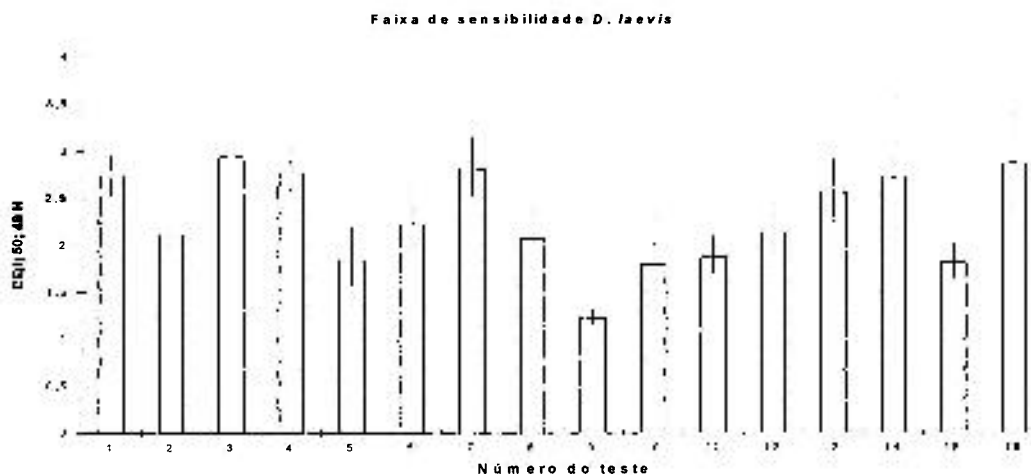


FIGURA 2 - Sensibilidade CE(I)50;48H de *D.laevis* ao cloreto de sódio (g. L⁻¹) .

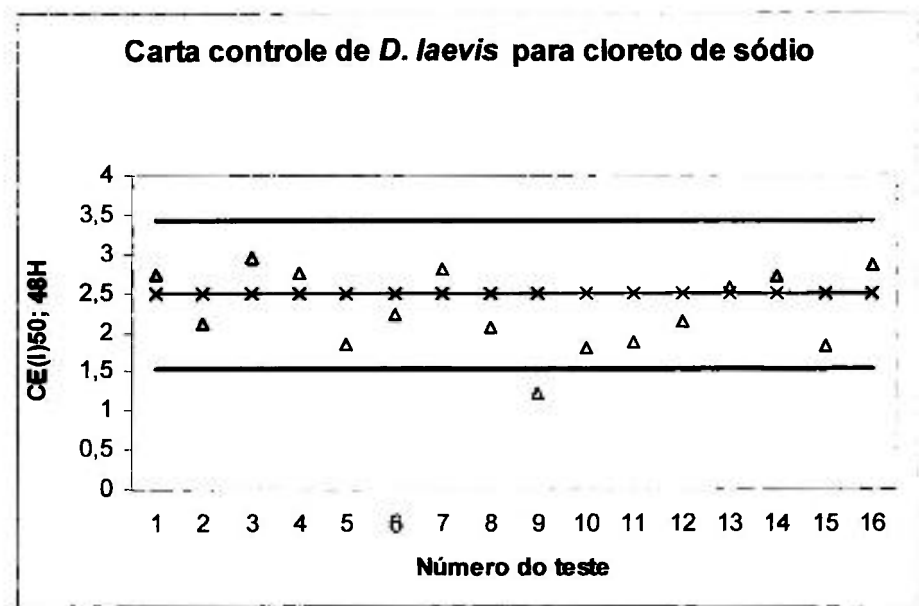


FIGURA 3 - Carta controle CE(I)50; 48H de *D. laevis* para cloreto de sódio (g.L⁻¹).

4.1.2. Estabelecimento de critérios para testes crônicos - Ciclo de vida de *Daphnia laevis*

Para conhecer o ciclo de vida de fêmeas de *Daphnia laevis*, bem como estabelecer critérios para a utilização desta espécie em ensaios de toxicidade, foram realizados experimentos para conhecimento de sua biologia em condições controladas de laboratório.

A biologia de *D. laevis* foi estudada através do acompanhamento do crescimento, fecundidade e longevidade. A sensibilidade dos cultivos foi acompanhada de modo a verificar se os organismos estavam com condições fisiológicas para a realização dos experimentos.

4.1.2.1. Crescimento individual

O crescimento individual foi obtido através de observações diárias de alterações de tamanho do corpo conforme Apêndice 2 durante 43 dias.

Na Figura 4 acha-se representada a curva de crescimento ajustada. Nota-se que o comprimento médio para neonatas com no máximo 12 horas é de 0,64 (\pm 0,04) mm ; e 2,17 (\pm 0,11) mm para as fêmeas na sua primeira reprodução (primípara); o máximo da adulta foi de 2,62 mm.

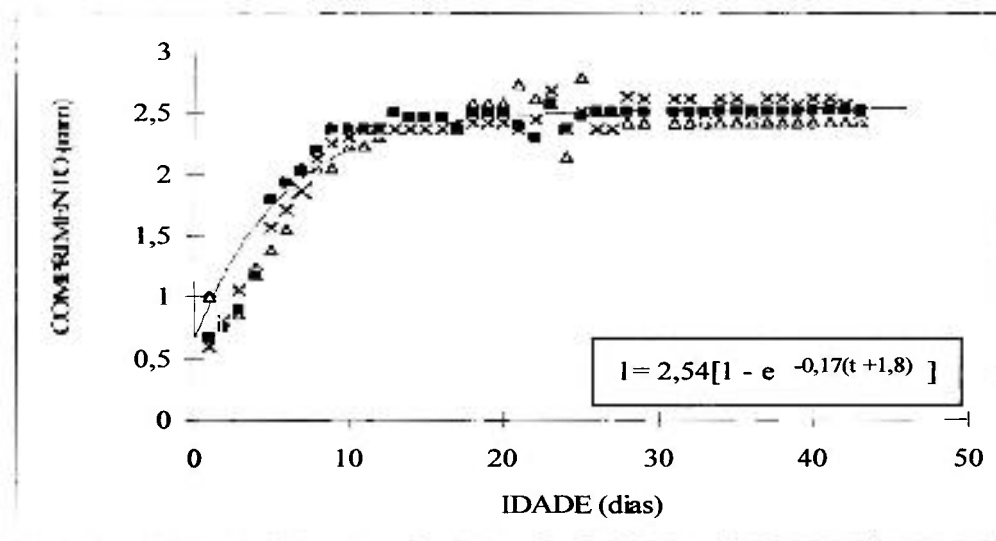


FIGURA 4 – Crescimento (mm) para fêmeas de *Daphnia laevis*.

4.1.2.2. Fecundidade

Os valores de fecundidade (nº. médio de neonatas/fêmea), obtidos para *D. laevis* nos cultivos individuais à 25° C estão apresentados na Figura 5. Os valores mais elevados de fecundidade média foram de 17 neonatas/fêmea no 18º dia do ciclo de vida e de 19 no 32º dia.

No Apêndice 3 encontra-se demonstrado os valores diários de fecundidade. Verifica-se que o início das posturas ocorre a partir do 7º dia de cultivo até o 11º dia todas as fêmeas alcançaram três posturas onde produziram em média 28 neonatas por fêmea (Tabela 3).

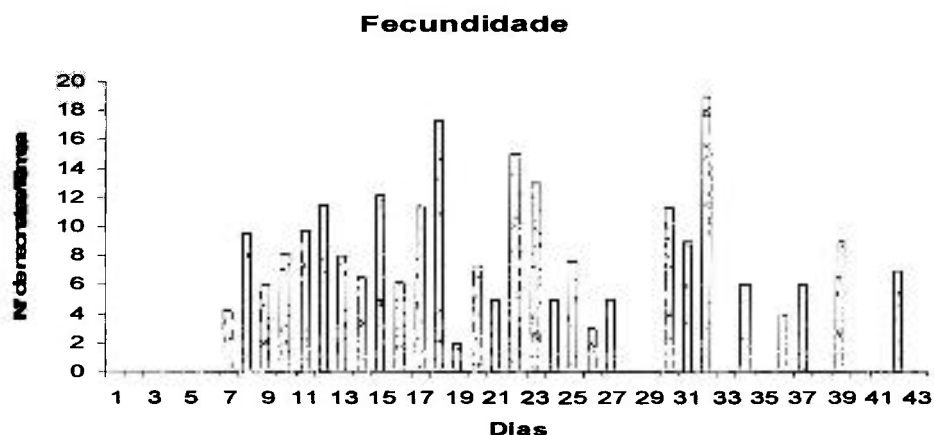


FIGURA 5 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de *Daphnia laevis* ao longo do ciclo de vida.

Podemos observar o desempenho reprodutivo apresentado na Figura 6. Observa-se que os picos reprodutivos ocorrem entre o 7º e o 18º dia do ciclo de vida, mostrando que entre 7 e 20 dias de cultivo as fêmeas apresentam maior produtividade e a partir o 20º dia a tendência é diminuir o número de filhotes produzidos.

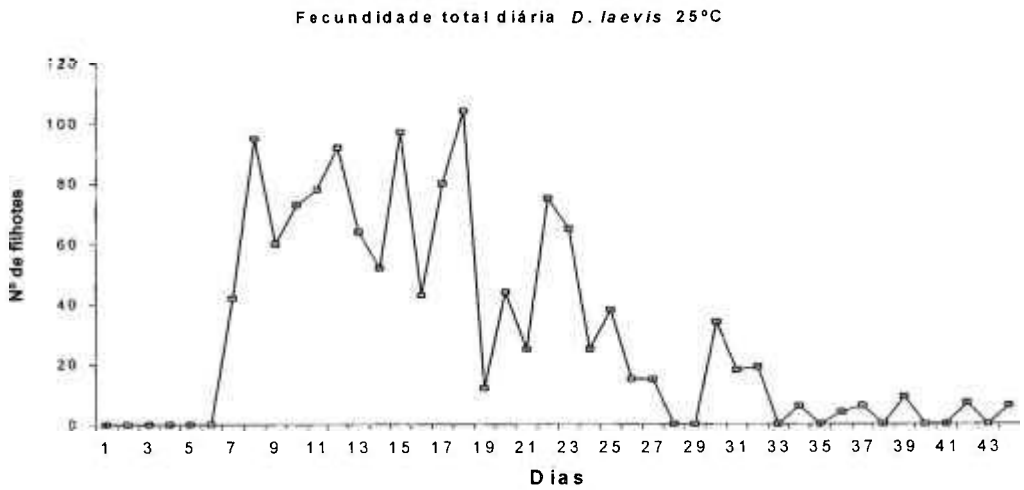


FIGURA 6 – Fecundidade total nos cultivos individuais (n = 10) de *D. laevis*.

A fecundidade acumulada apresentada na Figura 7 mostra o número de filhotes produzidos por dia até o final do experimento. O total de neonatos produzidos pelas 10 fêmeas cultivadas foi de 1297.

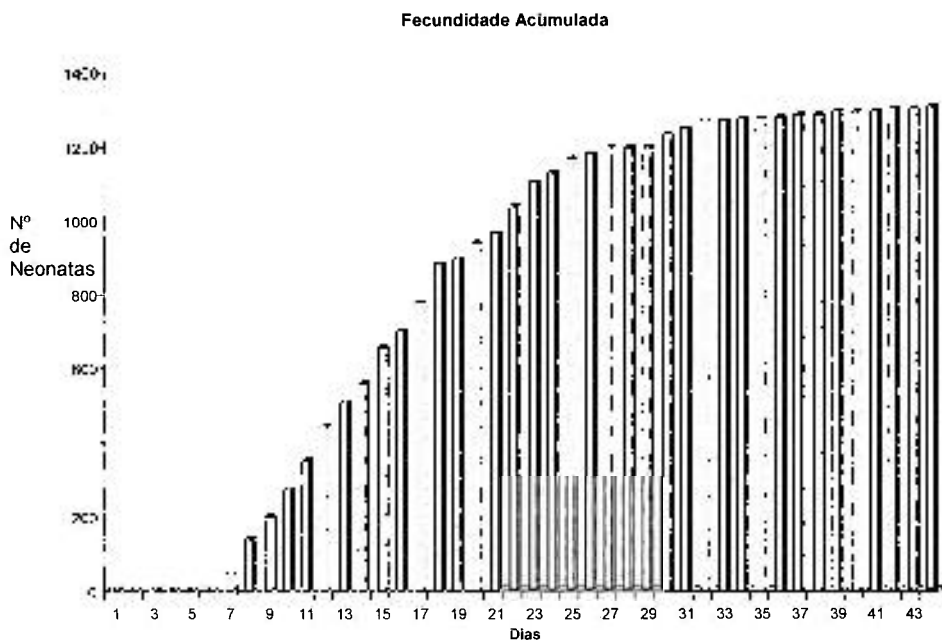


FIGURA 7 - Produção acumulada de neonatos de *D. laevis* em 43 dias, em cultivos individuais á 25°C.

4.1.2.3. Longevidade

Longevidade é o parâmetro definido como o tempo de vida do organismo sob determinado conjunto de condições de desenvolvimento. A Figura 8 apresenta os resultados obtidos para a longevidade nos cultivos realizados com *D. laevis*. Para longevidade média temos 21 dias e a longevidade máxima foi de 43 dias.

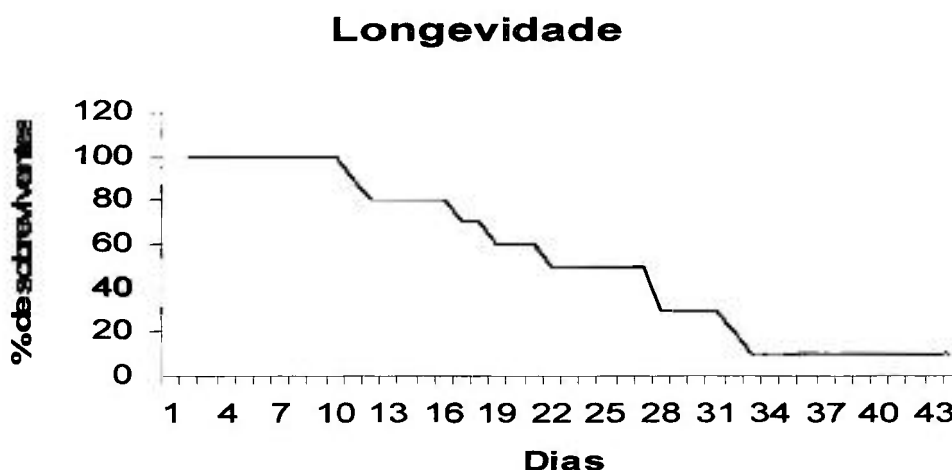


FIGURA 8 - Sobrevivência (dias) de *Daphnia laevis*.

A partir dos dados obtidos, o critério de mortalidade a ser adotados nos testes crônicos será de 20%, estando de acordo com os critérios propostos pela EPA (1991) e OECD (1984).

4.1.2.4. Critérios de aceitabilidade do controle do teste crônico

- **Fecundidade**

Um dos critérios de aceitabilidade dos controles em ensaios toxicológicos propostos pela EPA (1991) e OECD (1984) é que tenham pelo menos três posturas ao final do ensaio. Foi calculado, portanto, o número total de neonatas das três posturas para estabelecimento do critério para este parâmetro. Como resultado obteve-se um número total médio de 28 neonatas/fêmeas, desvio-padrão de 9,0 e coeficiente de variação de 30% (Tabela 3).

TABELA 3 - Número total e médio de filhotes produzidos nas três primeiras posturas dos cultivos individuais (n=10) de *Daphnia laevis*.

Réplicas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média	DP	CV %
Nº. Filhotes	27	26	08	34	27	38	37	26	33	26	28,2	9	30

A partir dos resultados obtidos no experimento do ciclo de vida de *Daphnia laevis* e adotando os critérios de aceitabilidade do controle no teste crônico para *Daphnia sp.* com base na OECD (1984), estão sendo propostos os seguintes critérios de performance para *D. laevis* a 25°C: mortalidade menor ou igual a 20% no final do teste; idade da primípara menor que 11 dias e número total de neonatas/fêmea após 3 posturas de 28 (± 9), sendo que 60% das fêmeas deverão atingir este número.

A réplica numero 3 morreu antes de completar 3 posturas o que não inviabiliza o experimento pois noventa por cento alcançaram três posturas ao final do teste. O apêndice 3 apresenta a planilha com o acompanhamento diário da fecundidade indicando o início das posturas e a morte dos organismos.

4.1.2.5. Crescimento Populacional - Determinação da taxa intrínseca de aumento natural de *Daphnia laevis*.

O valor estimado para a taxa intrínseca de aumento natural (r) foi de 0,4034. A Tabela 4 apresenta os valores obtidos para cálculo da curva de crescimento populacional. A Figura 9 apresenta a curva de crescimento populacional para *D. laevis* cultivada a 25°C.

TABELA 4 - Valores de N_t (número total), N_0 (número inicial), t (tempo) e r (taxa intrínseca de aumento natural) para *D. laevis*.

N_t	N_0	t (dias)	r (dias ⁻¹)
1160	30	12	0,403409

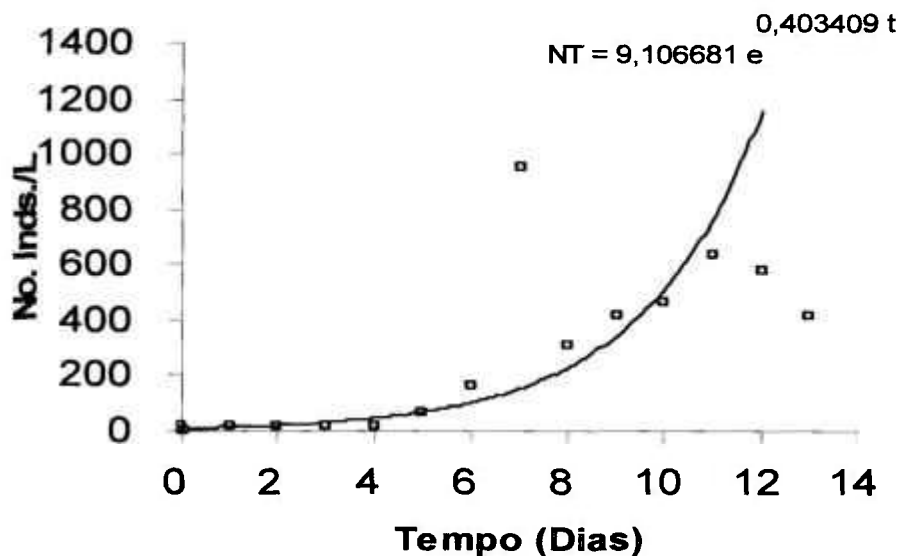


FIGURA 9 - Crescimento populacional para *D. laevis*.

A Tabela 5 apresenta o número de indivíduos obtidos no experimento, a partir do qual a curva foi estabelecida. No 12º foi observado a presença de fêmeas efipiais, quando o número máximo de neonatos foi de 1266.

TABELA 5 - Número total de indivíduos das populações de *D. laevis* em culturas com volume de 2 litros de água de cultivo 14 dias.

Data	Dias	Nº. Indivíduos	Data	Dias	Nº Indivíduos
24/06	0	30	04/07	7	613
25/06	1	30	06/07	8	1.901
26/06	2	30	08/07	9	832
27/06	3	29	10/07	10	923
28/06	4	26	12/07	11	1.266 *
30/06	5	130	14/07	12	1.160
02/07	6	323	16/07	13	832

* presença de fêmeas efipiais

4.1.3. Avaliação da toxicidade crônica do cloreto de sódio para *Daphnia laevis*.

A fim de validar os critérios de fecundidade e mortalidade adotados para o controle, foram realizados dois testes crônicos com a substância de referência NaCl, com 10 réplicas para cada uma das 5 concentrações de cloreto de sódio: 0,7; 1,0; 1,4; 1,9 e 2,6 g.L⁻¹. A avaliação do crescimento foi realizada de modo a observar efeitos da substância de referência neste parâmetro biológico.

As concentrações foram estabelecidas com base nos testes de sensibilidade. Foram observados os efeitos letais e sub-letais durante 10 dias, tempo estabelecido para a duração do ensaio.

4.1.3.1. Crescimento individual

O crescimento individual foi obtido através de observações diárias de incrementos do tamanho do corpo dos indivíduos mantidos isoladamente. Foram feitas medidas em três réplicas por tratamento. O Apêndice 4 contém as planilhas de acompanhamento do parâmetro crescimento individual observados nos ensaios de toxicidade crônica com cloreto de sódio, Teste 1 e Teste 2.

As curvas de crescimento foram obtidas plotando-se o comprimento do corpo em mm versus tempo. Para ajuste das restas foi utilizada a equação de BERTALANFFY, (1946). A Tabela 6 apresenta as equações da reta obtidas na transformação de Ford-Walford.

TABELA 6 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 1 com *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.

Concentração	Equação da Reta	r
Controle	$y = 0,7244x + 0,6316$	0,9178
A - 0,7 g.L ⁻¹	$y = 0,7066x + 0,6244$	0,9652
B - 1,0 g.L ⁻¹	$y = 0,7940x + 0,4425$	0,8816
C - 1,4 g.L ⁻¹	$y = 0,6329x + 0,7461$	0,9174
D - 1,9 g.L ⁻¹	$y = 0,8653x + 0,3004$	0,9365

Os valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem as curvas de crescimento em comprimento estão apresentados na Tabela 07. O Maior valor de comprimento máximo 2,29 (L_{máx}) foi obtido no controle.

TABELA 07 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.

Concentração	L máx	K	T0	L0	r
Controle	2,29	0,32	- 1,24	0,76	0,9178
A - 0,7 g.L-1	2,21	0,34	- 1,18	0,72	0,9652
B - 1,0 g.L-1	2,14	0,23	-1,76	0,72	0,8816
C - 1,4 g.L-1	2,03	0,45	-0,95	0,72	0,9174
D - 1,9 g.L-	2,24	0,11	-3,08	0,75	0,9365

Os resultados obtidos para o Teste 1 acham-se representados nas Figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15.

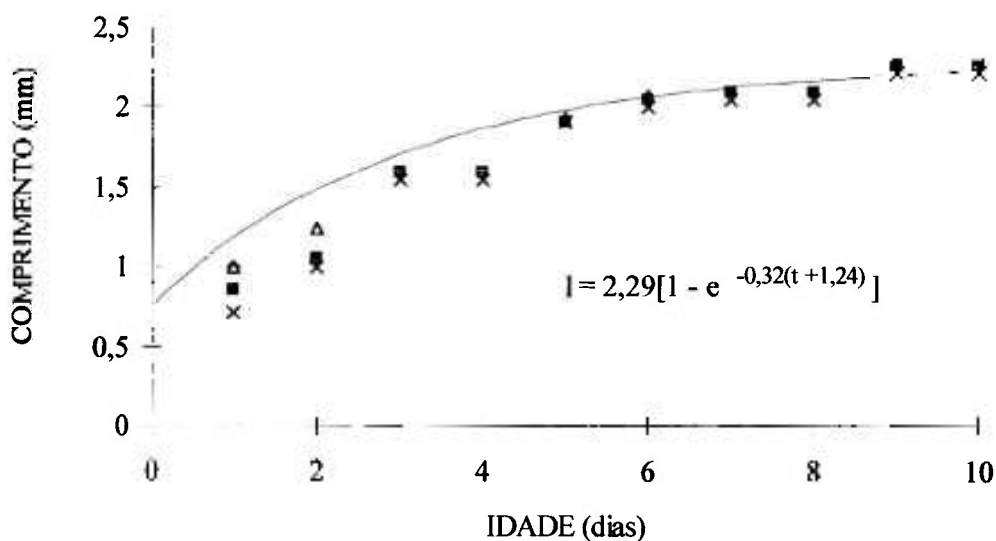


FIGURA 10 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis*. Controle; Teste1.

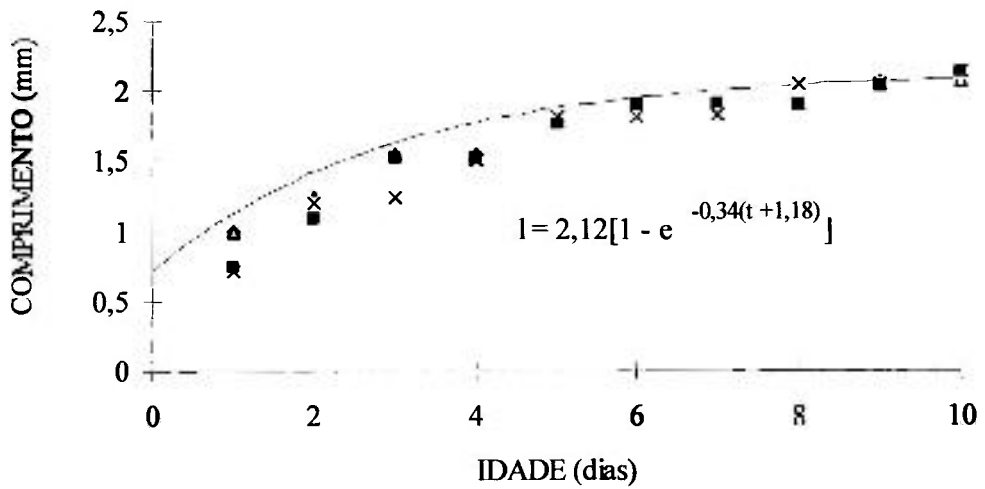


FIGURA 11 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em 0,7g.L⁻¹NaCl. Concentração A; Teste 1.

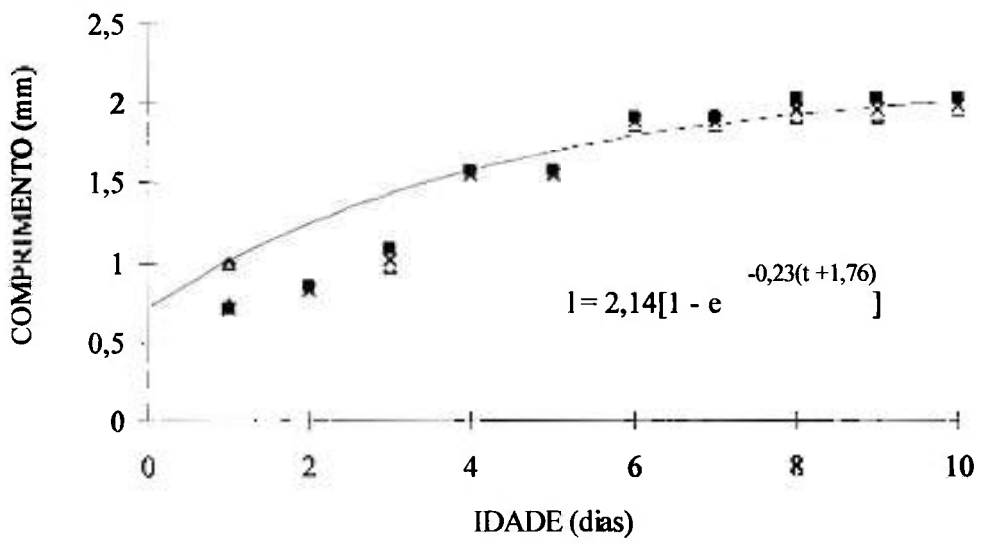


FIGURA 12 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em 1,0 g.L⁻¹ de NaCl. Concentração B; Teste 1

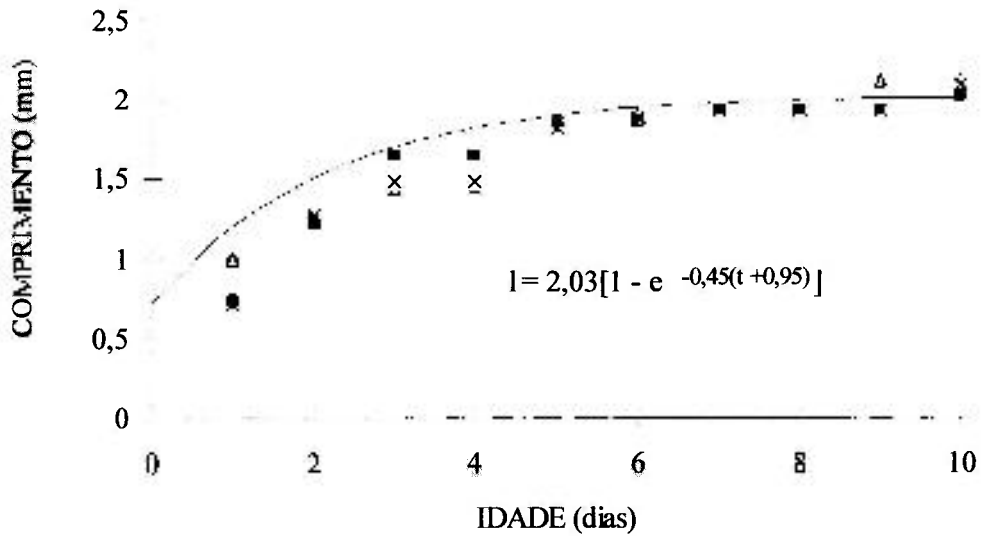


FIGURA 13 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração 1,4 g.L⁻¹. Concentração C; Teste 1.

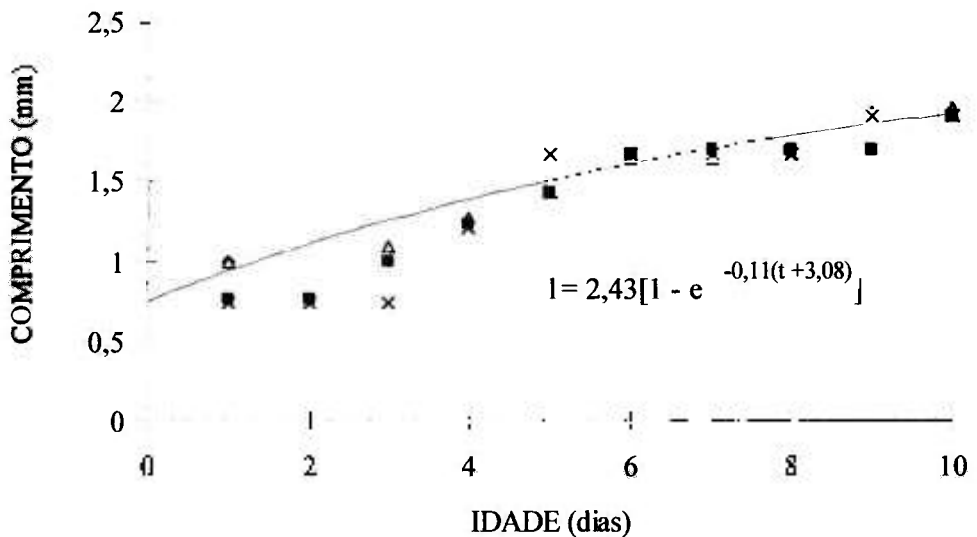


FIGURA 14 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração 1,9 g.L⁻¹. Concentração D; Teste 1.

Na Figura 15 podemos comparar as curvas de crescimento obtidas nas concentrações A, B, C e D com a do controle do Teste 1. Nota-se que o crescimento do controle se destacou em relação as concentrações testadas porem na concentração C o crescimento foi maior que o da concentração B.

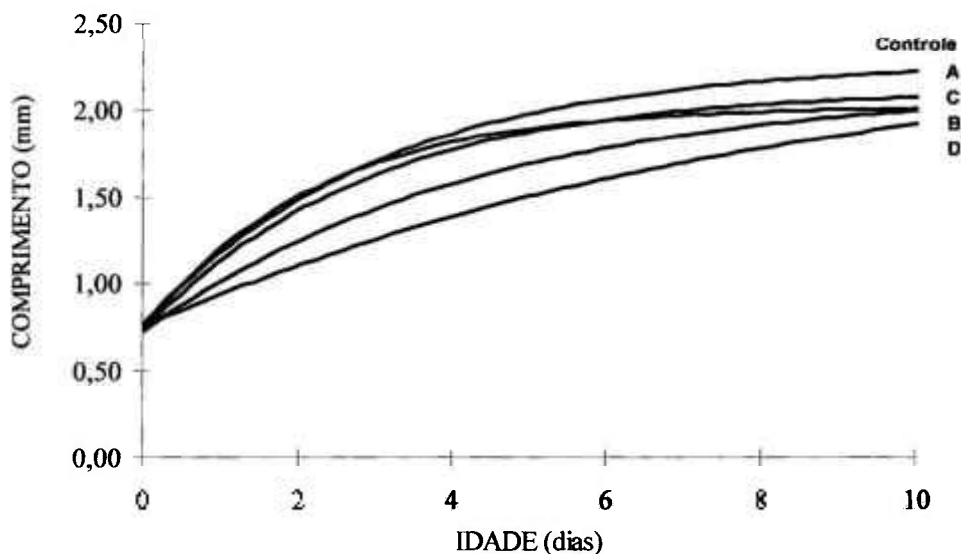


FIGURA 15 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste1 (Concentrações: A = 0,7 g.L⁻¹ B = 1,0 g.L⁻¹ C = 1,4 g.L⁻¹ D = 1,9 g.L⁻¹).

As primíparas apresentaram o crescimento médio no controle de 1,99 mm, na concentração A de 1,87mm, na concentração B de 1,79 mm; na concentração C de 1,82 mm e na concentração D de 1,66 mm. A Tabela 8 apresenta as médias das primíparas indicando o desvio padrão e o coeficiente de variação de cada concentração.

A partir dos dados de crescimento obtidos de cada réplica no controle e nas diferentes concentrações foi feita uma análise estatística através do teste de Dunnett a fim de verificar a ocorrência de diferenças significativas no crescimento de cada tratamento. No Apêndice 6a encontra-se a análise estatística realizada segundo programa computacional "TOXSTAT 3.3 Computer Program" (GULLEY et alli, 1991).

TABELA 08 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para *D. laevis*. Teste 1

Concentração	Tamanho (mm)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação %
	Médio	Mínimo	Máximo		
Controle	1,99	1,90	2,07	0,085	4,29
A - 0,7 g.L ⁻¹	1,87	1,83	1,90	0,040	2,15
B - 1,0 g.L ⁻¹	1,79	1,57	1,90	0,191	10,64 *
C - 1,4 g.L ⁻¹	1,82	1,81	1,86	0,029	1,58
D - 1,9 g.L ⁻¹	1,66	1,64	1,69	0,025	1,51 *

* Diferença significativa (CEO)

Para o Teste 2 foram acompanhados os mesmos parâmetros anteriores e os resultados estão apresentados a seguir. A Tabela 09 apresenta as equações da reta obtidas na transformação de Ford-Walford.

TABELA 09 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste 2 com *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.

Concentração	Equação da Reta	r
Controle	$y = 0,7248x + 0,6372$	0,9422
A - 0,7 g.L ⁻¹	$y = 0,7248x + 0,6036$	0,8987
B - 1,0 g.L ⁻¹	$y = 0,9004x + 0,1896$	0,9749
C - 1,4 g.L ⁻¹	$y = 0,6756x + 0,6740$	0,9716
D - 1,9 g.L ⁻¹	$y = 0,8877x + 0,2739$	0,9365

Os valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem as curvas de crescimento em comprimento encontram-se na Tabela 10. Verifica-se que as fêmeas atingiram um comprimento máximo (LMax) de 2,42 mm no controle, conforme valor observado na Tabela 10.

TABELA 10 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.

Concentração	L máx	k	To	Lo	r
Controle	2,42	0,30	-1,15	0,72	0,9422
A - 0,7 g.L ⁻¹	2,19	0,32	-1,25	0,73	0,8987
B - 1,0 g.L ⁻¹	1,90	0,10	-4,61	0,73	0,9749
C - 1,4 g.L ⁻¹	2,08	0,39	-1,06	0,71	0,9716
D - 1,9 g.L ⁻¹	2,23	0,14	-2,74	0,73	0,9365

Os resultados obtidos no Teste 2 acham-se ilustrados nas Figuras 16, 17, 18, 19, 20 e 21.

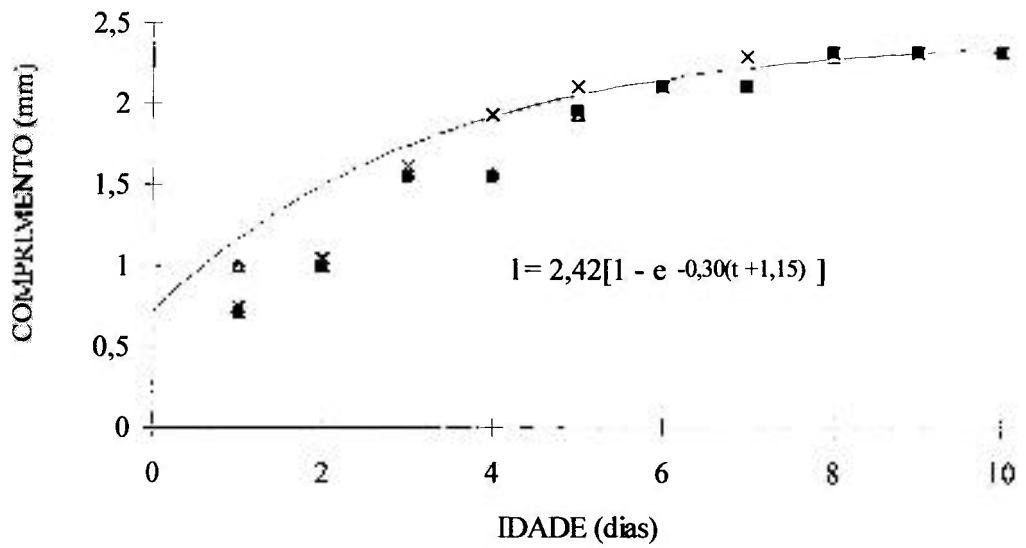


FIGURA 16 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis*. Controle; Teste 2.

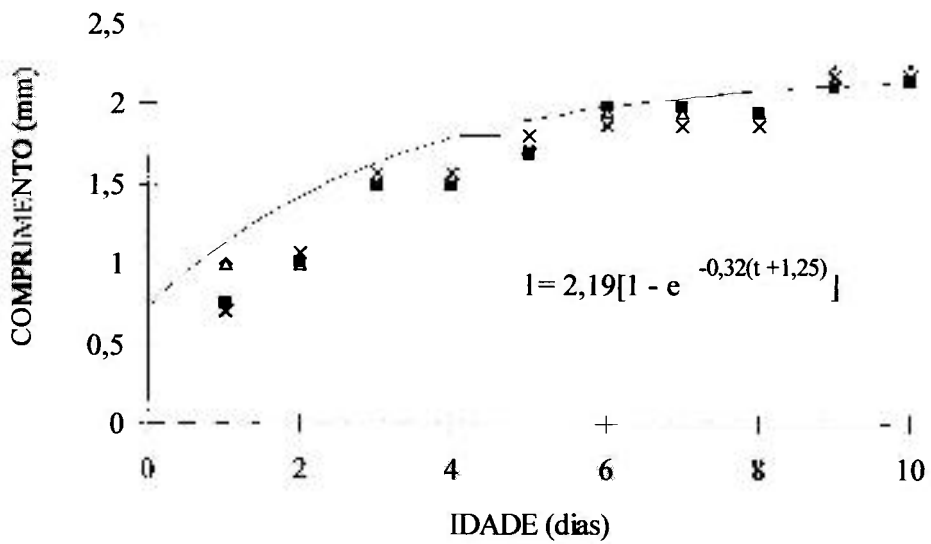


FIGURA 17 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração $0,7\text{g.L}^{-1}$. Concentração A; Teste 2.

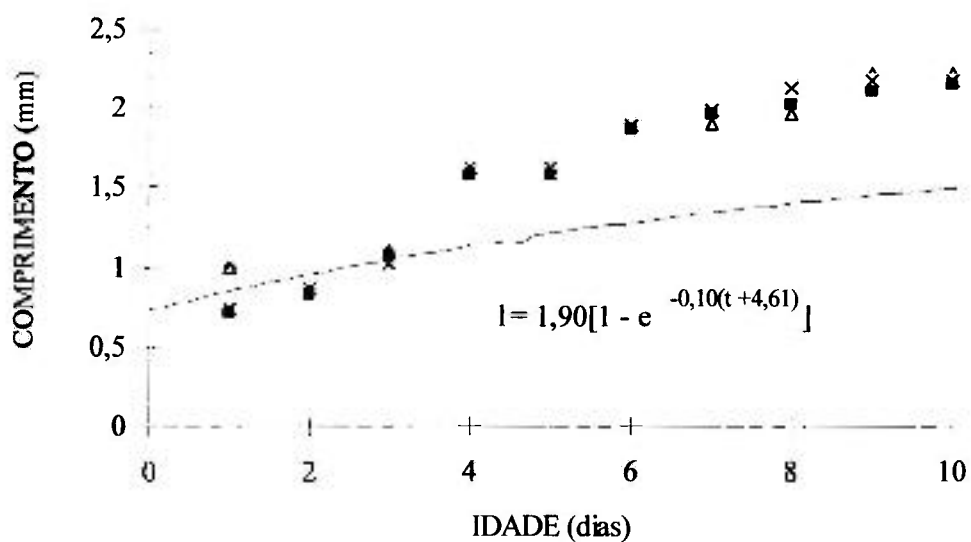


FIGURA 18 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração 1,0 g.L⁻¹. Concentração B; Teste 2.

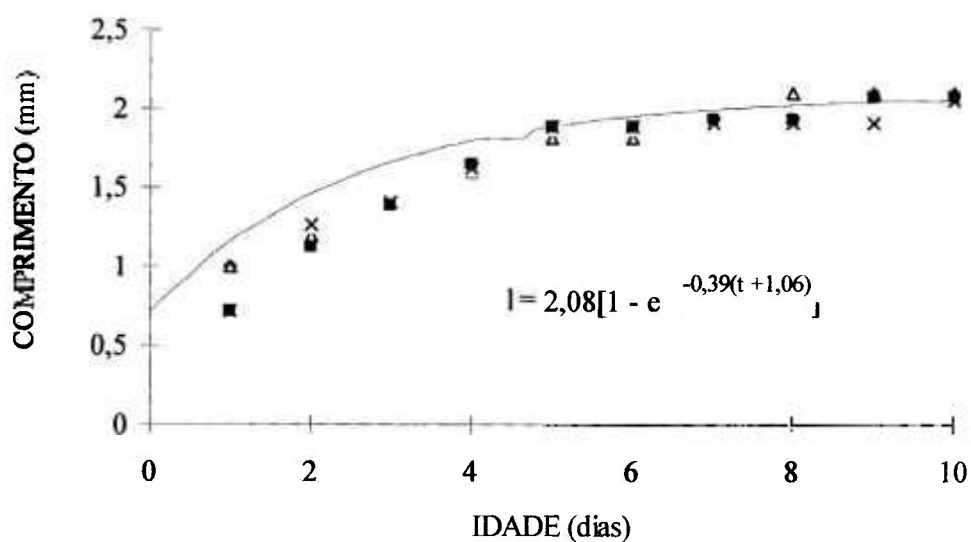


FIGURA 19 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração 1,4 g.L⁻¹. Concentração C; Teste 2.

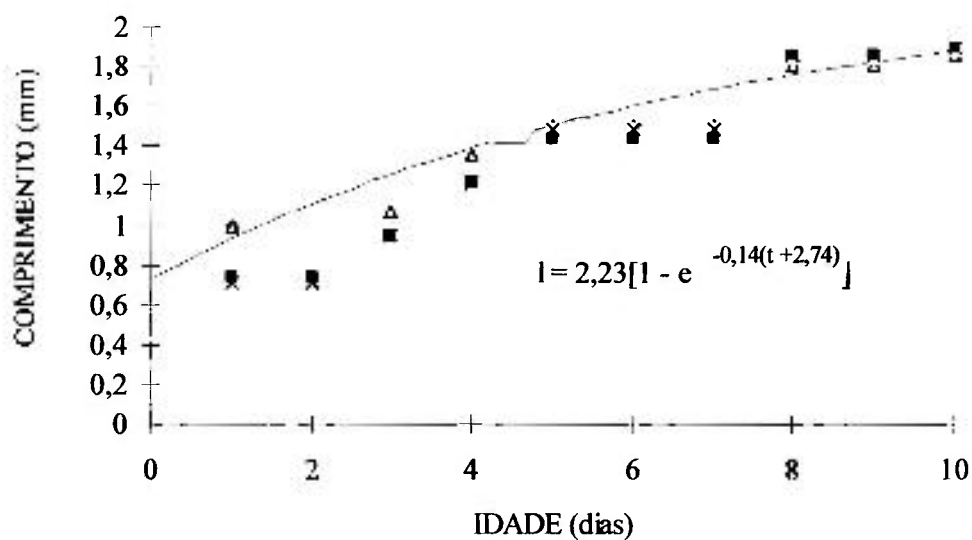


FIGURA 20 - Curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio de concentração 1,9 g.L⁻¹. Concentração D; Teste 2.

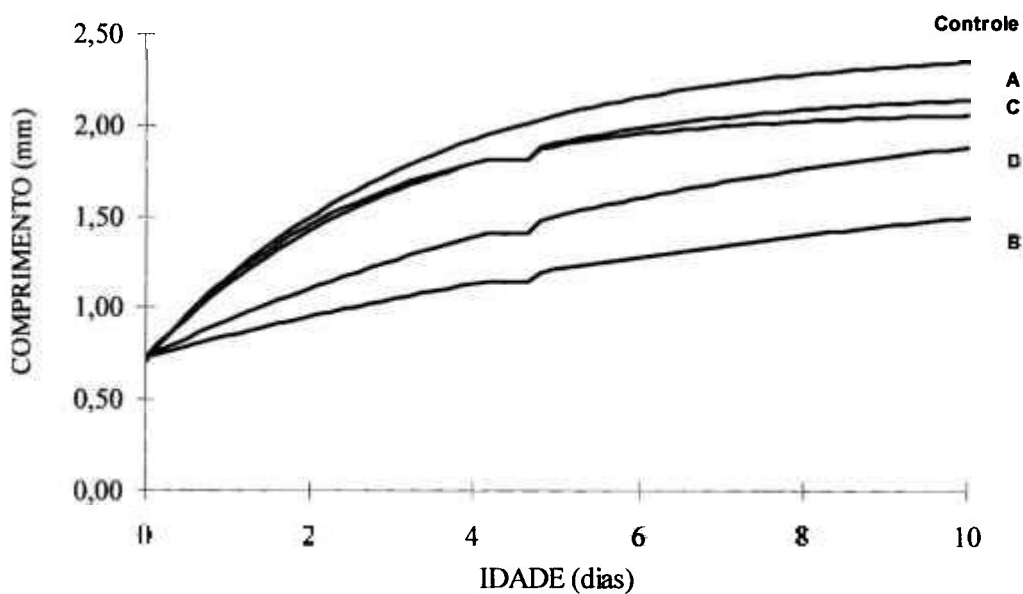


FIGURA 21 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de *Daphnia laevis* em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste 2 (Concentrações: A = 0,7 g.L⁻¹ B = 1,0 g.L⁻¹ C = 1,4 g.L⁻¹ D = 1,9 g.L⁻¹).

As primíparas apresentaram o crescimento médio no controle de 1,99 mm, na concentração A de 1,93 mm, na concentração B de 1,87 mm; na concentração C de 1,85 mm e na concentração D de 1,47 mm.

A partir dos dados de crescimento obtidos de cada réplica no controle e nas diferentes concentrações foi feita uma análise estatística através do teste de Dunnett a fim de verificar a ocorrência de diferenças significativas no crescimento de cada tratamento. No Anexo 6a encontra-se a análise estatística realizada segundo o programa computacional "TOXSTAT 3.3 Computer Program" (GULLEY et alli, 1991).

A Tabela 11 apresenta as médias das primíparas indicando o desvio padrão e o coeficiente de variação de cada concentração.

TABELA 11 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para *D. laevis*. Teste 2

Concentração	Tamanho (mm)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação %
	Médio	Mínimo	Máximo		
Controle	1,99	1,93	2,10	0,093	4,66
A - 0,7 g.L ⁻¹	1,93	1,86	1,98	0,062	3,24
B - 1,0 g.L ⁻¹	1,87	1,86	1,88	0,010	0,53 *
C - 1,4 g.L ⁻¹	1,85	1,81	1,88	0,036	1,95 *
D - 1,9 g.L ⁻¹	1,47	1,43	1,50	0,036	2,45 *

* Diferença significativa (CEO)

4.1.3.2. Fecundidade

As Figuras 22 e 23 apresentam os resultados obtidos para a fecundidade de *D. laevis* quando submetidas a ensaio de toxicidade crônica com cloreto de sódio em diferentes concentrações. O Apêndice 5 mostra os valores de fecundidade obtidos nos ensaios.

O valor de CENO foi de 0,7g.L⁻¹ e o de CEO 1,0g.L⁻¹ em ambos os testes. Estes valores mostram que o efeito crônico sobre a fecundidade da espécie, começa a ser observado a partir da concentração de 1,0g.L⁻¹.

O Apêndice 6b apresenta a análise estatística realizada para cálculo de CENO e CEO. As Tabelas 12 e 13 mostram os valores de fecundidade nos respectivos ensaios.

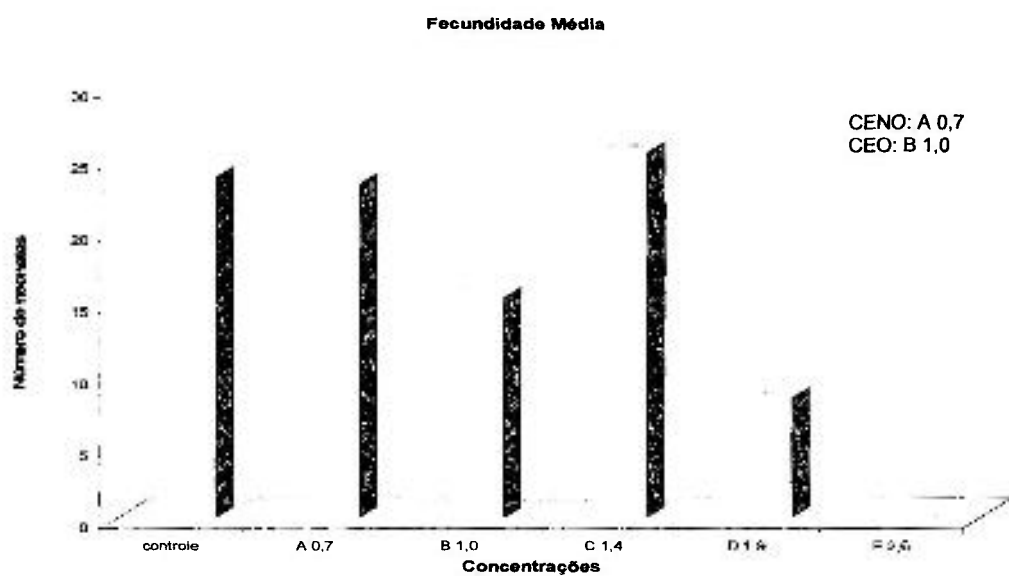


FIGURA 22 - Fecundidade de *D. laevis* (número de neonatas/fêmea). Teste 1.

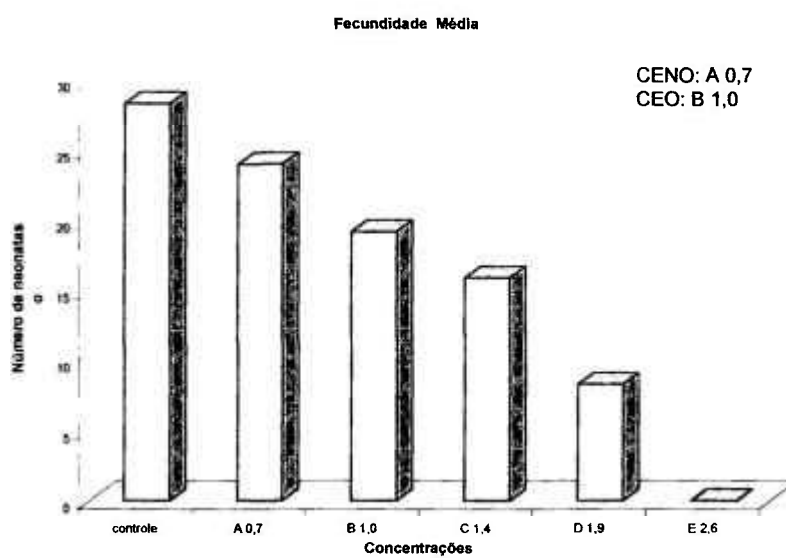


FIGURA 23 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de *D. laevis*. Teste 2.

TABELA 12 - Fecundidade total (nº. de neonatas/fêmea) de *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.

Identificação	Média	Mínimo	Máximo	Desvio
Controle	23,9	18	34	5,6
0,7g. ^{L-1}	23,4	10	35	8,8
1,0g. ^{L-1}	15,5 *	10	22	2,9
1,4g. ^{L-1}	25,6	18	37	6,9
1,9g. ^{L-1}	7,5	0	20	7,8

* Concentração onde se observa efeito na fecundidade.

TABELA 13 - Fecundidade total (nº de neonatas/fêmea) de *D. laevis* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.

Identificação	Média	Mínimo	Máximo	Desvio
Controle	28,3	20	41	5,9
0,7g. ^{L-1}	24,0	19	30	3,4
1,0g. ^{L-1}	19,2 *	11	25	4,3
1,4g. ^{L-1}	15,9	8	20	4,0
1,9g. ^{L-1}	8,3	0	19	7,1

* Concentração onde se observa efeito na fecundidade, CEO.

4.1.3.3. Critérios de aceitabilidade do controle

Utilizando o parâmetro fecundidade como um dos critérios para aceitabilidade do controle, foi observado o total de neonatas em três posturas dos ensaios de toxicidade crônica com cloreto de sódio, a fim de verificar se estes valores estariam de acordo com os critérios estabelecidos anteriormente no ensaio de ciclo de vida. Os resultados estão apresentados na Tabela 14

O critério estabelecido para fecundidade de *Daphnia laevis* foi de 28 neonatas em três posturas com desvio padrão de ± 9 . Sendo assim o valor aceitável de fecundidade deve estar entre 19 e 37 neonatas. Os controles dos Testes 1 e 2 foram aceitos pois as fêmeas produziram em três posturas respectivamente 21 e 26 neonatas. Para fins comparativos o Apêndice 5 (Tabela 3), apresenta os valores médios das três posturas nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Daphnia laevis*.

TABELA 14 – Total de neonatas em 3 posturas no experimento de ciclo de vida e nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Daphnia laevis*.

Réplicas	Experimento*	Teste 1**	Teste 2***
1	27	21	22
2	26	20	22
3	08	20	31
4	34	16	33
5	27	20	20
6	38	22	28
7	37	18	29
8	26	21	24
9	36	29	18
10	26	18	32
Média	28	21	26
DP	9	3	5
CV	30%	17%	21%

*Para determinação de critérios do controle;

** Teste 1: Controle: 100 % dos indivíduos alcançaram três posturas;

4.1.4. Avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *D. laevis*.

Para a avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina foram realizados 7 testes definitivos. Os valores médios obtidos de CE(I)50; 24H foi de 1,08 (0,38 – 1,78) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ e CE(I)50; 48H de 0,48 (0,22 – 0,78) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos nos ensaios com o produto comercial a base de permetrina. As planilhas de controle e acompanhamento dos parâmetros físicos e químicos dos testes estão apresentadas no Apêndice 7. As concentrações utilizadas nos testes definitivos foram 0,1; 0,2; 0,4; 0,9 e 2,0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Não foram apresentados os resultados dos testes preliminares.

TABELA 15 – Toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *Daphnia laevis*.

Teste N°.	CE(l) 50; 24 h ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Intervalo de confiança	CE(l) 50; 48 h ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Intervalo de confiança
1	0,88	0,56 - 1,38	0,39	0,29 - 0,52
2	0,80	0,60 - 1,20	0,60	0,40 - 0,80
3	1,29	1,09 - 2,32	0,30	0,20 - 0,45
4	1,09	0,73 - 1,63	0,49	0,36 - 0,66
5	0,75	0,54 - 1,05	0,43	0,30 - 0,62
6	1,67	1,23 - 2,28	0,70	0,54 - 0,90
7	1,19	0,63 - 2,26	0,45	0,28 - 0,73
CE médio	1,08		0,48	
DP	0,35		0,13	
CV	33%		28%	

DP = Desvio Padrão CV = Coeficiente de Variação

4. 2. Experimentos com *Ceriodaphnia silvestrii*.

4.2.1. Teste de sensibilidade.

O teste de sensibilidade tem como objetivo verificar se os organismos estão em condições para serem utilizados em ensaios de toxicidade. As faixas de sensibilidade foram determinadas em laboratório, através do cálculo da CE(I)50 à substância de referência cloreto de sódio.

Foram realizados quatorze ensaios, para estabelecimento da faixa de sensibilidade ao cloreto de sódio. As concentrações utilizadas nos testes foram de 0,1, 0,25, 0,6; 1,5 g.L⁻¹ NaCl e as planilhas dos testes encontram-se no Apêndice 8.

Os valores obtidos foram: CE(I)50 24 horas 1,82 g.L⁻¹ NaCl e CE(I)50 48 horas 1,57 g.L⁻¹ NaCl, e os resultados estão apresentados na Tabela 16.

TABELA 16 - Concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 24 e 48 H) de cloreto de sódio (g.L⁻¹) para *Ceriodaphnia silvestrii* à 25° C ± 1.

Teste N°	CE(I) 50; 24 H (g . L ⁻¹)	Intervalo de confiança	CE(I) 50; 48 H (g . L ⁻¹)	Intervalo de confiança
1	2,12	1,87 - 2,41	1,42	1,30 - 1,55
2	1,83	1,70 - 1,97	1,36	1,00 - 1,84
3	-	-	1,75	1,63 - 1,88
4	-	-	1,49	1,39 - 1,59
5	1,66	1,60 - 1,73	1,48	1,39 - 1,59
6	-	-	1,49	1,43 - 1,56
7	1,22	1,13 - 1,32	1,89	1,68 - 2,14
8	1,85	1,76 - 1,94	1,38	1,27 - 1,50
9	1,98	1,79 - 2,19	1,99	1,93 - 2,05
10	1,89	1,78 - 2,01	1,38	1,28 - 1,49
11	2,01	1,95 - 2,07	1,54	1,31 - 1,80
12	1,84	1,74 - 1,94	1,52	1,42 - 1,63
13	-	-	1,76	1,65 - 1,88
14	-	-	1,64	1,56 - 1,72
CE medio	1,82		1,57	
DP	0,26		0,19	
CV	14 %		13 %	

DP – Desvio Padrão

CV – Coeficiente de Variação

- Não calculado

Os resultados obtidos mostram que o coeficiente de variação está dentro da precisão analítica esperada para testes de sensibilidade. O valor expresso pelo coeficiente de variação, obtidos nos testes são de 14% e 13% respectivamente.

Na Figura 24 estão apresentados os valores de CE(I)50; 48 horas, incluindo os limites máximos e mínimos de cada teste.

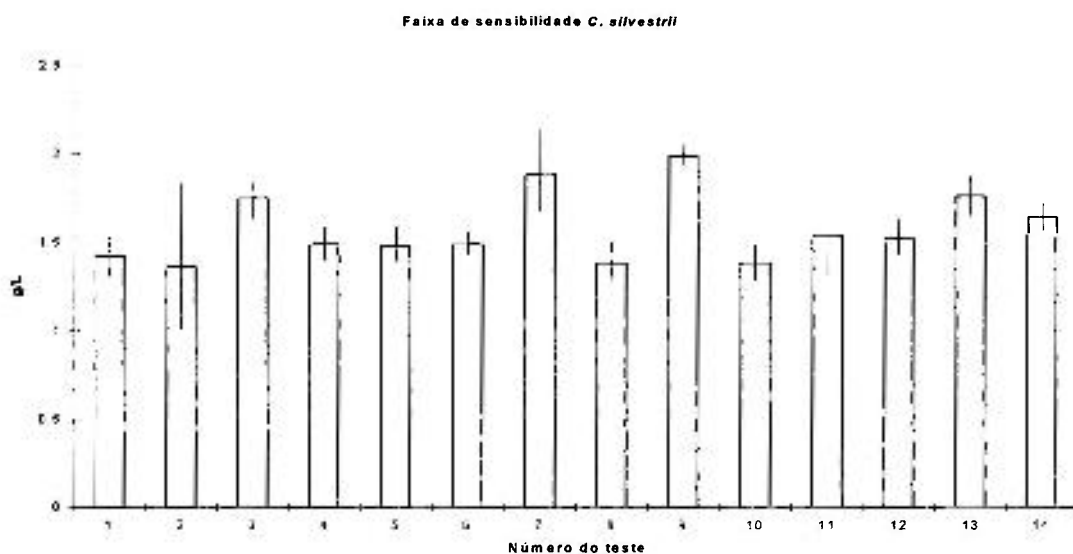


FIGURA 24 - Sensibilidade de *C. silvestrii* ao cloreto de sódio CE(I)50; 48H.

A Figura 25 mostra a carta controle confeccionada a partir dos resultados obtidos nos ensaios de 48 horas, utilizando os primeiros cinco testes definitivos para determinação do valor médio para CE(I)50 48 horas e da faixa de sensibilidade dos organismos para o cloreto de sódio (NaCl), que foi de 1,50 (1,20 – 1,79) g/L⁻¹ NaCl.

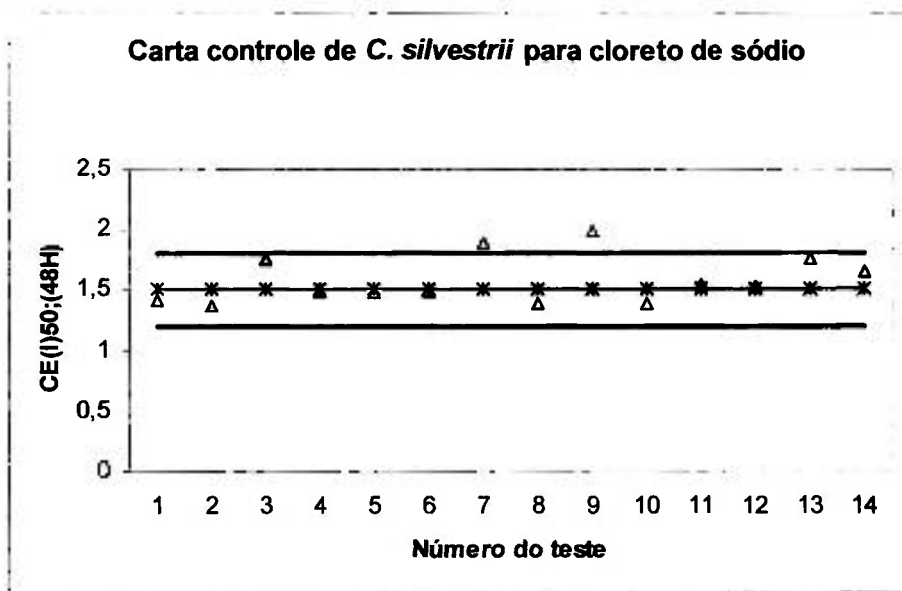


FIGURA 25 - Carta controle CE(l)50; 48H de *Ceriodaphnia silvestrii* para cloreto de sódio (g.L^{-1}).

4.2.2. Critérios para testes crônicos – Ciclo de vida de *Ceriodaphnia silvestrii*.

Para conhecer o ciclo de vida de fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*, bem como estabelecer critérios para a utilização desta espécie em ensaios de toxicidade, foram realizados experimentos para conhecimento de sua biologia (acompanhamento do crescimento, fecundidade e longevidade), em condições controladas de laboratório.

A biologia de *C. silvestrii* foi estudada através do acompanhamento do crescimento, fecundidade e longevidade. A sensibilidade dos cultivos foi acompanhada de modo a verificar se os organismos estavam com condições fisiológicas para a realização dos experimentos.

4.2.2.1. Crescimento Individual

O crescimento individual foi obtido através de observações diárias de alterações de tamanho do corpo conforme Apêndice 9, até a morte de todos os organismos num período de 45 dias.

O comprimento médio de fêmeas neonatas de *C. silvestrii* foi de 0,39 ($\pm 0,01$) mm; 0,73 ($\pm 0,03$) mm para as fêmeas na sua primeira reprodução (primípara) e de 1,06 mm o comprimento máximo da adulta. A Figura 26 mostra o crescimento ajustado da espécie em cultivos individuais a 25°C.

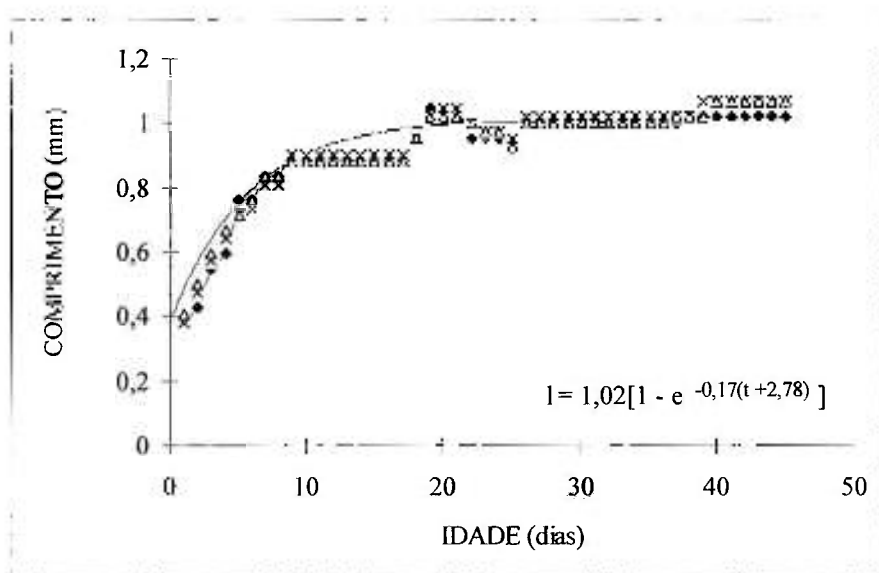


FIGURA 26 – Crescimento (mm) para fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii* cultivadas a 25°C.

4.2.2.2. Fecundidade

Os valores de fecundidade (nº. médio de neonatas/fêmea), obtidos para *C. silvestrii* nos cultivos individuais a 25°C estão apresentados na Figura 27. Os valores mais elevados de fecundidade média foram de 9 neonatas/fêmea no 14º dia do ciclo de vida.

No Apêndice 10 encontra-se demonstrado os valores diários de fecundidade. Verifica-se que o início das posturas ocorre a partir do 5º dia de

cultivo até o 8º dia todas as fêmeas alcançaram três posturas onde produziram em média 15 neonatas por fêmea.

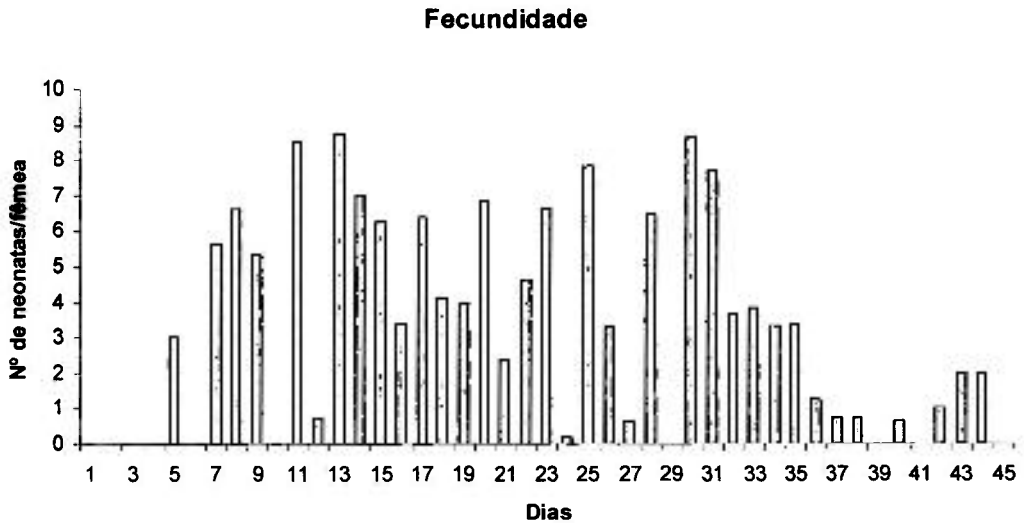


FIGURA 27 - Fecundidade (número de neonatas/fêmea) de *Ceriodaphnia silvestrii* em 45 dias.

O desempenho reprodutivo está apresentado na Figura 28. Observa-se que as fêmeas produzem filhotes durante praticamente todo o ciclo de vida, sendo que após o 35º dia há uma queda brusca e morte dos organismos.

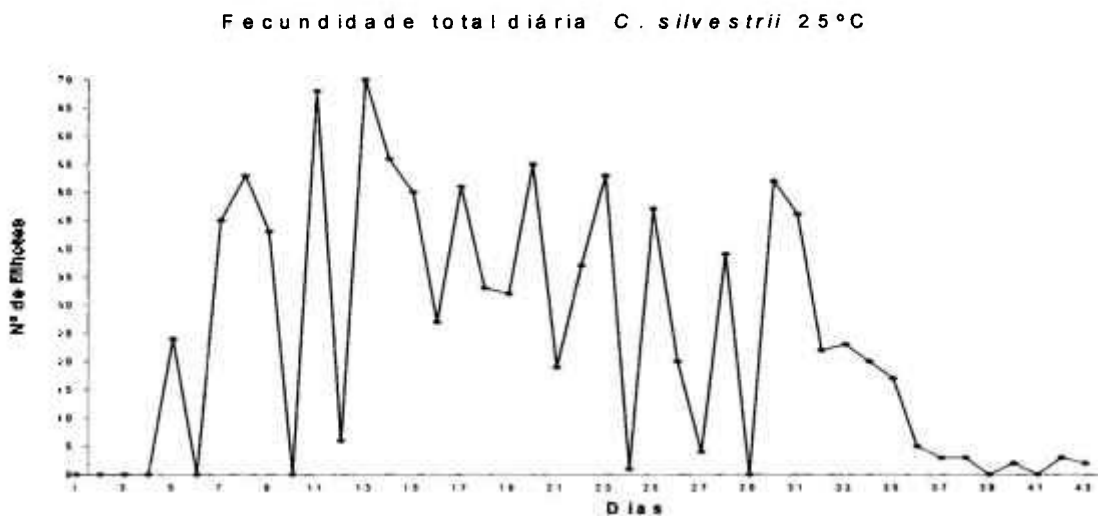


FIGURA 28 - Fecundidade total nos cultivos individuais (n = 10) de *Ceriodaphnia silvestrii*.

A fecundidade acumulada apresentada na Figura 29 mostra o numero de filhotes produzidos por dia até o final do experimento, o total de filhotes produzidos foi de 1031 indivíduos.

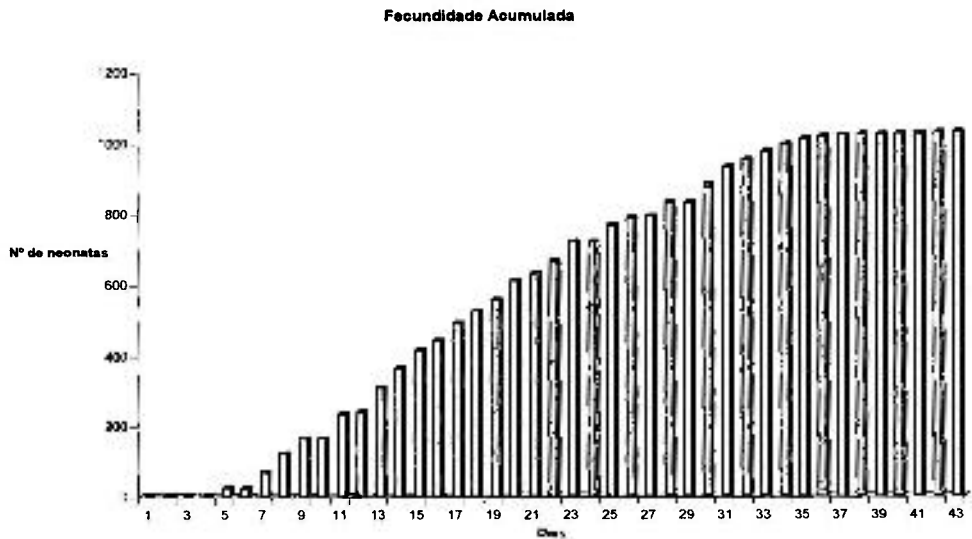


FIGURA 29 - Produção acumulada de neonatas de *C. silvestrii* em 45 dias, em cultivos individuais à 25°C.

4.2.2.3. Longevidade

Longevidade é o parâmetro definido como o tempo de vida do organismo sob determinado conjunto de condições de desenvolvimento. Os resultados de longevidade estão demonstrados na Figura 30. Para longevidade média temos 35 dias e a longevidade máxima 46 dias.

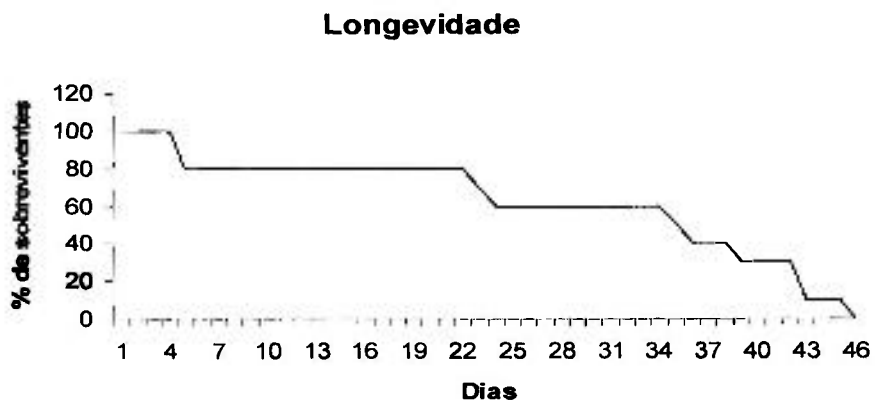


FIGURA 30 – Longevidade (dias) de *C. silvestrii* cultivadas a 25°C.

4.2.2.4. Critérios de aceitabilidade do controle do teste crônico

Um dos critérios de aceitabilidade dos controles em ensaios ecotoxicológicos com *Ceriodaphnia sp.*, propostos pela ABNT (1995) é que 60% ou mais das fêmeas adultas sobreviventes alcancem três posturas até o final do teste, não ultrapassando 8 dias de teste, neste caso para *C. dubia*, e que a mortalidade não exceda 20 %. Deste modo, foi realizada a soma das neonatas produzidas nas três posturas para estabelecimento do número aceitável como critério para este parâmetro. Como resultado obteve-se número total médio de 16 neonatas/fêmea, desvio padrão de ± 2 e coeficiente de variação de 11%. O resultado está apresentado na Tabela 17.

Tabela 17. Número de filhotes produzidos em três posturas nos cultivos individuais de *Ceriodaphnia silvestrii*.

Réplicas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média	DP	CV
Nº. Filhotes	14	13	17	16	15	15	0	0	18	18	16	2	11%

Obs.: A média das três posturas foi feita sem levar em consideração as réplicas 7 e 8 pois morreram antes da primípara (primeira postura).

4.2.2.5. Crescimento populacional - Determinação da taxa intrínseca de aumento natural de *Ceriodaphnia silvestrii*.

O valor estimado para a taxa intrínseca de aumento natural (r) foi de 0,46. A Tabela 18 apresenta os valores obtidos para o cálculo da curva de crescimento populacional, (Figura 31).

TABELA 18 - Valores de N_t (número total), N_0 (número inicial), t (tempo) e r (taxa intrínseca de aumento natural) para *C. silvestrii*.

N_t	N_0	t (dias)	r (dias ⁻¹)
2670	30	12	0.460099

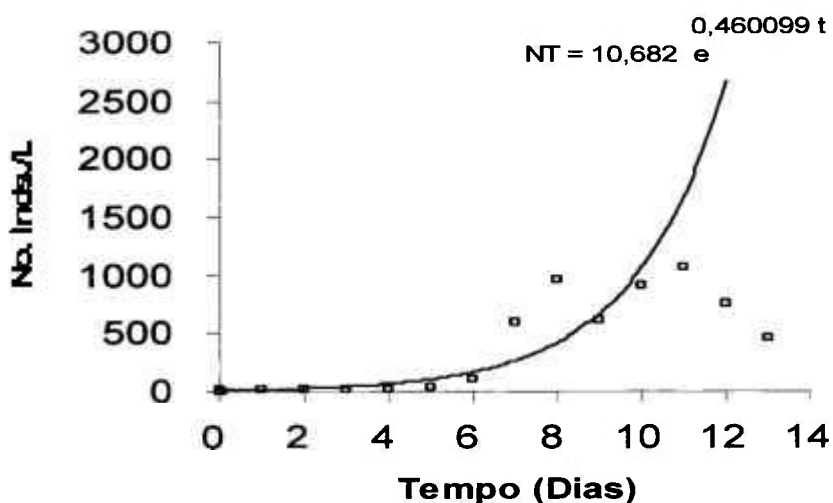


FIGURA 31 - Crescimento populacional para *C. silvestrii*.

A Tabela 19 apresenta o número de indivíduos obtidos no experimento, a partir do qual a curva foi estabelecida.

TABELA 19 - Número total de indivíduos das populações de *C. silvestrii* em culturas com volume de 2 litros de água de cultivo em 14 dias.

Data	Dias	Nº. Indivíduos	Data	Dias	Nº. Indivíduos
24/06	0	30	04/07	7	1180
25/06	1	30	06/07	8	1.932
26/06	2	30	08/07	9	1.238
27/06	3	30	10/07	10	1.806
28/06	4	30	12/07	11	2.140
30/06	5	56	14/07	12	1.500
02/07	6	198	16/07	13	902

4.2.3. Avaliação da toxicidade crônica do cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

A fim de validar os critérios de fecundidade e mortalidade adotados para o controle, foram realizados dois testes crônicos com a substância de referência NaCl, com 10 réplicas para cada uma das cinco concentrações de cloreto de sódio: 0,1; 0,25; 0,6; 1,5 e 1,8 g.L⁻¹, estabelecidas com base nos testes de sensibilidade. A avaliação do crescimento foi feita de modo a

observar efeitos desta substância de referência neste parâmetro biológico. O Apêndice 11 apresenta as planilhas dos Teste 1 e 2.

4.2.3.1. Crescimento individual

O crescimento individual foi obtido através de observações diárias de incrementos do tamanho do corpo dos indivíduos mantidos isoladamente. Foram feitas medidas em três réplicas por tratamento.

As curvas de crescimento foram obtidas plotando-se o comprimento do corpo em milímetros (mm) versus tempo. Para ajuste das retas foi utilizada a equação de BERTALANFFY (1946). A Tabelas 20 apresenta as equações da reta obtidas na transformação de Ford-Walford.

TABELA 20 - Equações da reta e valores de r, obtidos no Teste1 com *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.

Concentração	Equação da Reta	r
Controle	$y = 0,7001x + 0,2696$	0,8254
A - 0,1 g.L ⁻¹	$y = 0,7267x + 0,2442$	0,8363
B - 0,25 g.L ⁻¹	$y = 0,7349x + 0,2370$	0,8956
C - 0,6 g.L ⁻¹	$y = 0,7995x + 0,1912$	0,9430

Os valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem as curvas de crescimento em comprimento estão apresentados na Tabela 21.

TABELA 21 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio no Teste 1.

Concentração	L máx	k	To	Lo	r
Controle	0,89	0,35	-1,76	0,42	0,8254
A - 0,1 g.L ⁻¹	0,88	0,31	-1,88	0,40	0,8363
B - 0,25 g.L ⁻¹	0,89	0,30	-1,99	0,41	0,8956
C - 0,6 g.L ⁻¹	0,95	0,22	-2,43	0,40	0,9430

Os resultados obtidos para o Teste 1 acham-se representados nas Figuras 32, 33, 34 e 35

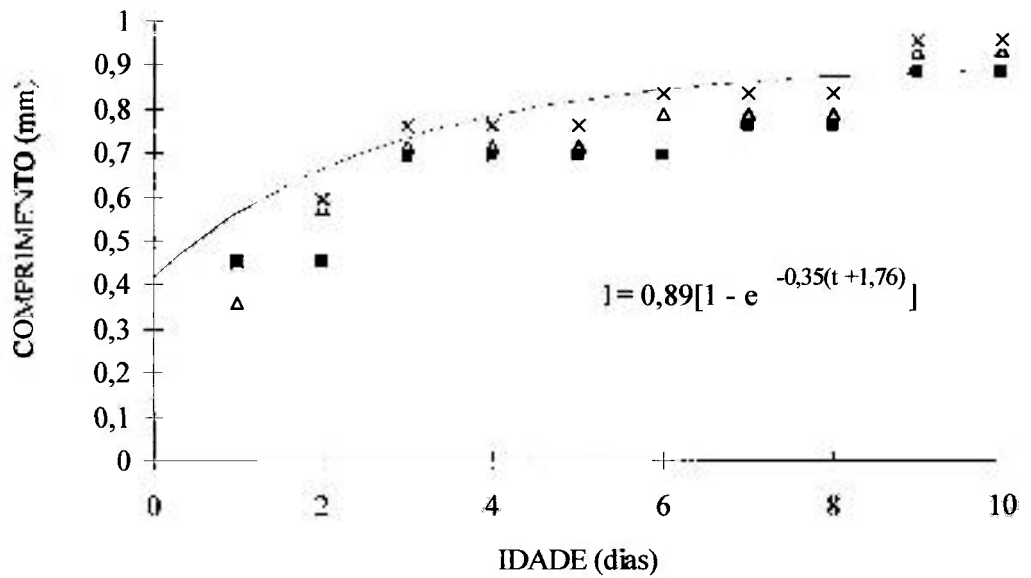


FIGURA 32 - Curva de crescimento para fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. Controle; Teste 1.

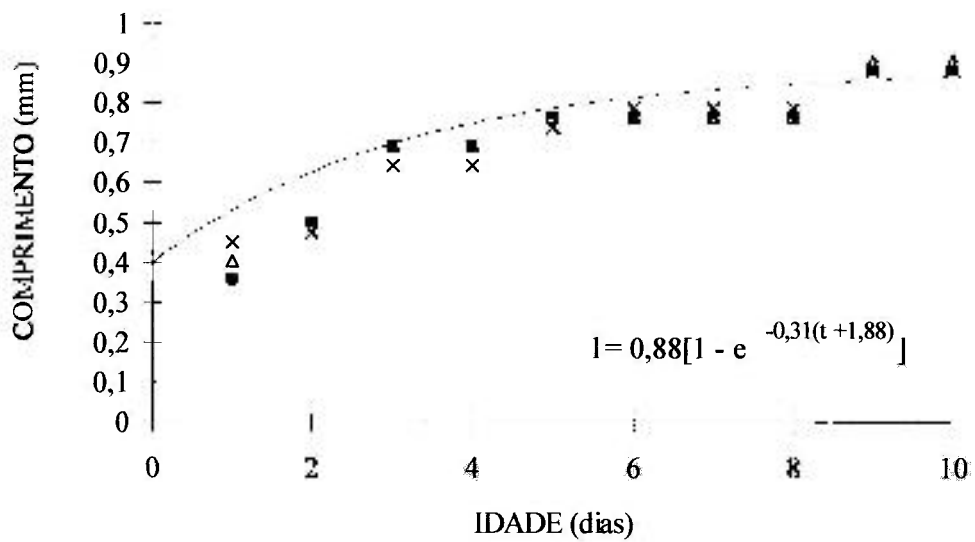


FIGURA 33 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em $0,1g.L^{-1}$ NaCl. Concentração A; Teste 1.

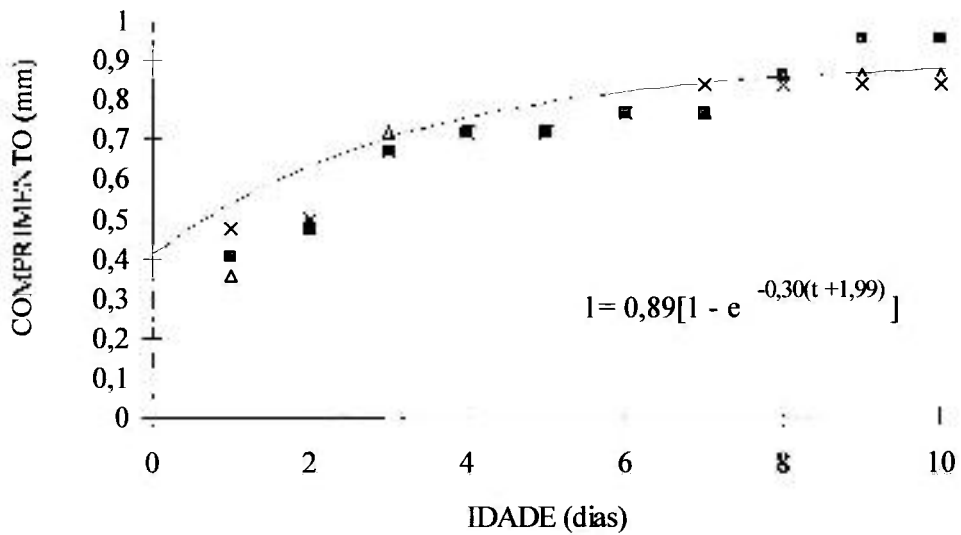


FIGURA 34 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em 0,25 g.L⁻¹ NaCl. Concentração B; Teste 1.

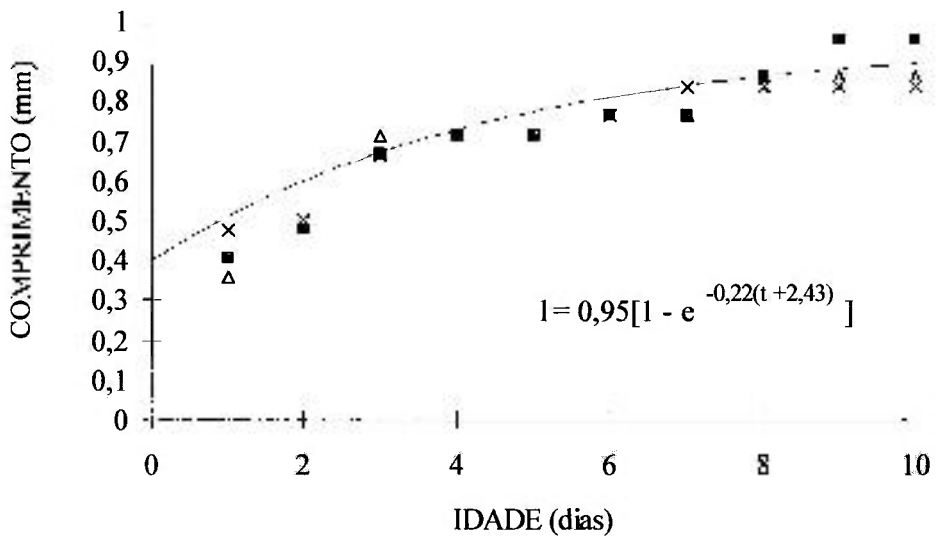


FIGURA 35 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em 0,6 g.L⁻¹ NaCl. Concentração C; Teste 1.

Na Figura 36 podemos comparar as curvas de crescimento obtidas nas concentrações A, B, e C com as do controle. As concentrações D e E obtiveram 100% de mortalidade, deste modo estas concentrações não foram consideradas para elaboração das curvas. Nota-se que o crescimento

consideradas para elaboração das curvas. Nota-se que o crescimento obedece praticamente o mesmo padrão, parecendo não haver diferença entre o crescimento das réplicas nas diferentes concentrações.

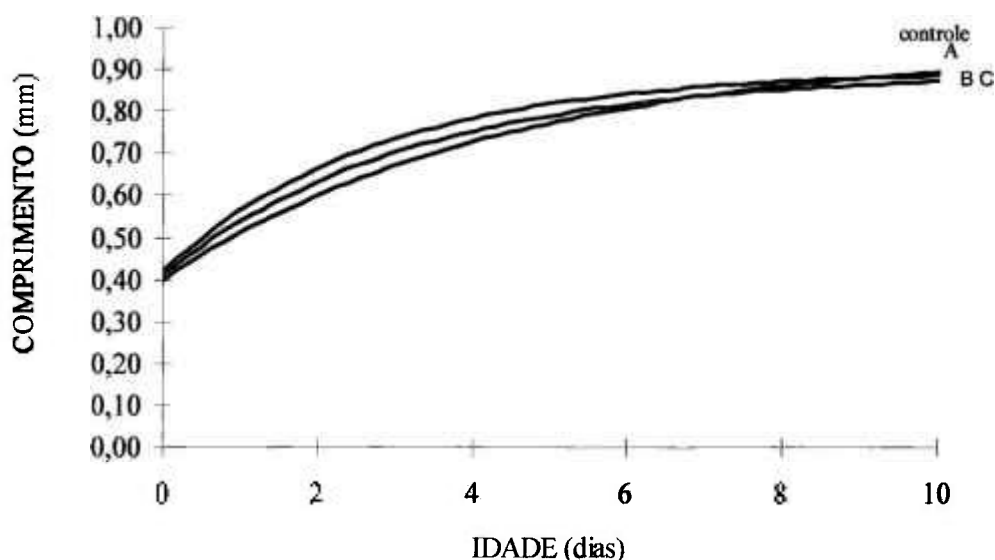


FIGURA 36 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii* em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. Teste 1. (Concentrações: A = 0,1 g.L⁻¹ B = 0,25 g.L⁻¹ C = 0,6 g.L⁻¹).

As primíparas apresentaram o crescimento médio no controle de 0,72 mm, na concentração A de 0,73 mm, na concentração B de 0,71 mm; na concentração C de 0,69 mm e nas demais concentração (D e E) houve morte de 100% dos organismos. A Tabela 22 apresenta as médias das primíparas indicando o desvio padrão e o coeficiente de variação de cada concentração.

A partir dos dados de crescimento obtidos de cada réplica no controle e nas diferentes concentrações foi feita uma análise estatística através do teste de Dunnett a fim de verificar a ocorrência de diferenças significativas no crescimento de cada tratamento. No Apêndice 13a encontra-se a análise estatística realizada segundo programa computacional "TOXSTAT 3.3 Computer Program" (GULLEY et alli, 1991).

TABELA 22 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para *C. silvestrii*. Teste 1

Concentração	Tamanho (mm)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação %
	Médio	Mínimo	Máximo		
Controle	0,72	0,69	0,76	0,036	5,01
A - 0,10 g.L ⁻¹	0,73	0,69	0,73	0,036	4,94
B - 0,25 g.L ⁻¹	0,71	0,71	0,71	0,000	0,00
C - 0,60 g.L ⁻¹	0,69	0,67	0,69	0,013	3,31

Para o Teste 2 foram acompanhados os mesmos parâmetros anteriores e os resultados estão apresentados a seguir. A Tabela 23 apresenta as equações da reta obtidas na transformação de Ford-Walford.

TABELA 23 - Equações da reta e valores de *r*, obtidos no Teste 2 com *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio.

Concentração	Equação da Reta	<i>r</i>
Controle	$y = 0,8149x + 0,1837$	0,8702
A - 0,7 g.L ⁻¹	$y = 0,7027x + 0,2679$	0,9147
B - 1,0 g.L ⁻¹	$y = 0,6856x + 0,2851$	0,8710
C - 1,4 g.L ⁻¹	$y = 0,7753x + 0,2022$	0,9467

Os valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem as curvas de crescimento em comprimento estão apresentados na Tabela 24.

TABELA 24 - Valores dos parâmetros da equação de Von Bertalanffy que descrevem o crescimento individual de *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.

Concentração	L máx	k	To	Lo	<i>r</i>
Controle	0,89	0,35	-2,68	0,42	0,8702
A - 0,1 g.L ⁻¹	0,90	0,35	-1,49	0,37	0,9147
B - 0,25 g.L ⁻¹	0,90	0,37	-1,54	0,40	0,8710
C - 0,6 g.L ⁻¹	0,89	0,25	-2,30	0,40	0,9467

Os resultados para as curvas de crescimento ajustadas estão representadas nas Figuras 37, 38, 39 e 40.

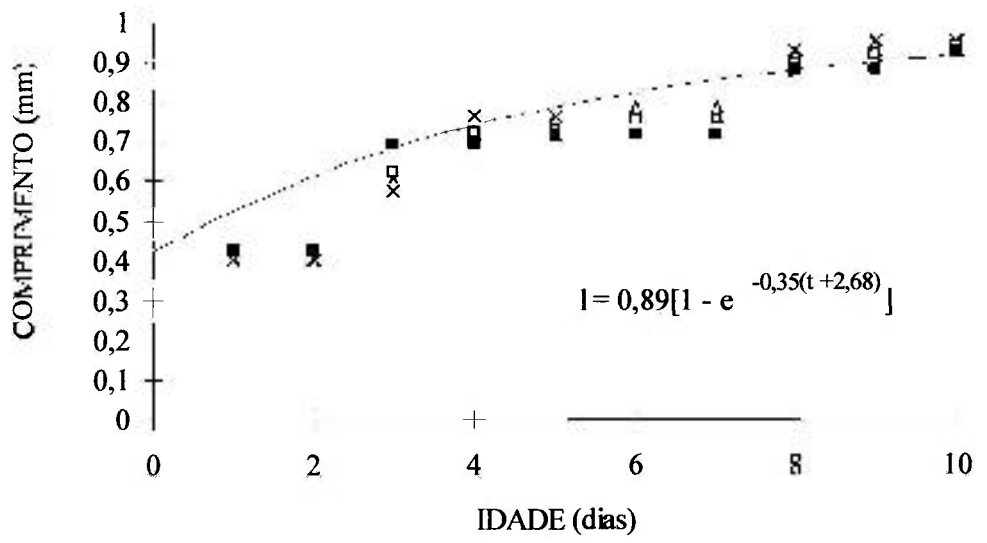


FIGURA 37 - Curva de crescimento para fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. Controle. Teste 2.

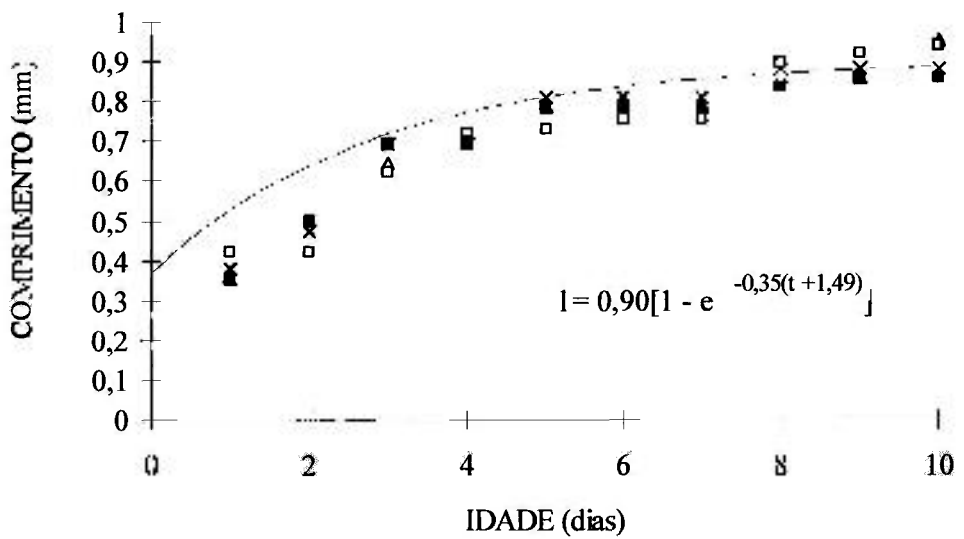


FIGURA 38 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em 0,1g.L⁻¹ NaCl. Concentração A; Teste 2

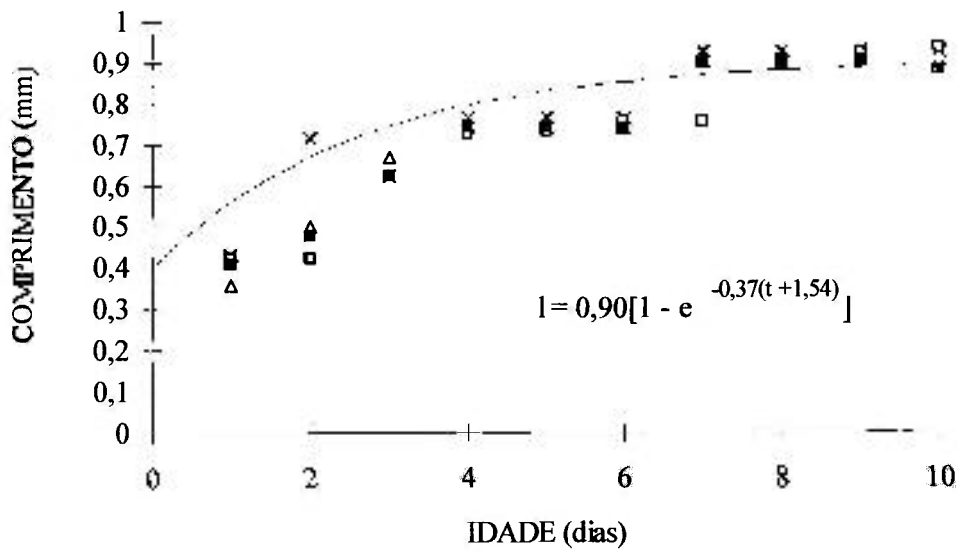


FIGURA 39 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em 0,25 g.L⁻¹ NaCl. Concentração B; Teste 2

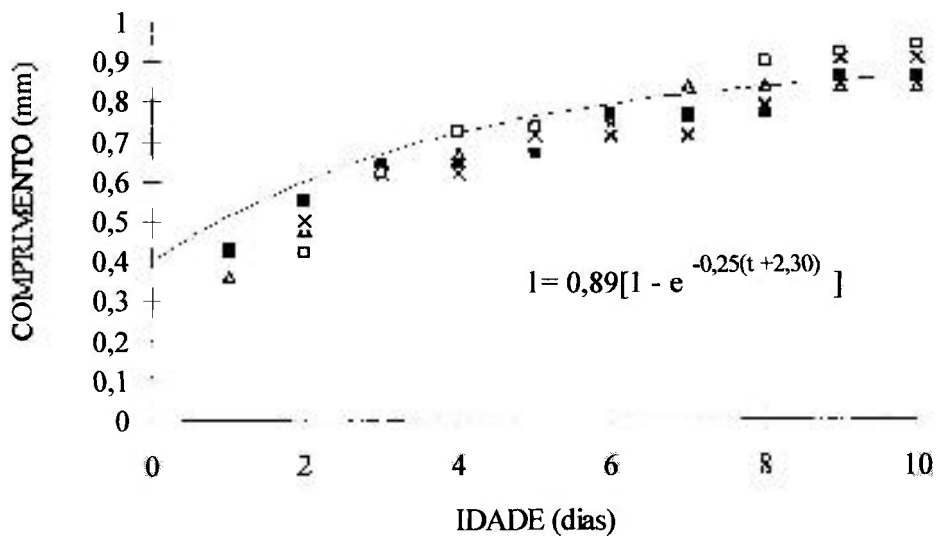


FIGURA 40 - Curva de crescimento para fêmeas de *C. silvestrii* em 0,6 g.L⁻¹ NaCl. Concentração C; Teste 2

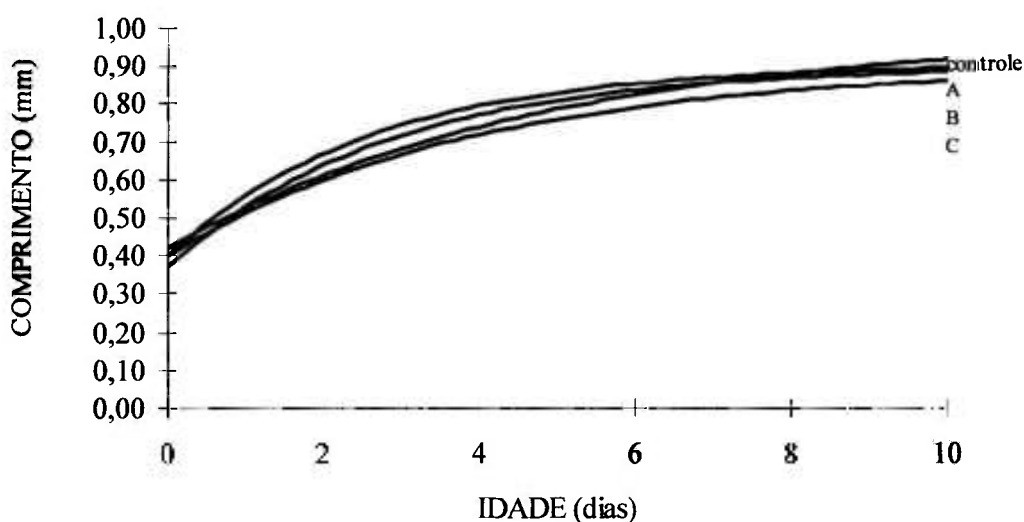


FIGURA 41 - Comparação da curva de crescimento para fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii* em solução de cloreto de sódio em diferentes concentrações. (Concentrações: A = 0,1 g.L⁻¹; B = 0,25 g.L⁻¹; C = 0,6 g.L⁻¹). Teste 2.

As primíparas apresentaram o crescimento médio no controle de 0,72 mm, na concentração A de 0,76 mm, na concentração B de 0,74 mm; na concentração C de 0,70 mm e nas demais concentrações (D e E) houve morte de 100% dos organismos. A Tabela 25 apresenta as médias das primíparas indicando o desvio padrão e o coeficiente de variação de cada concentração.

A partir dos dados obtidos foi feita a análise estatística de Dunnett a fim de verificar a ocorrência de diferenças significativas no crescimento de cada tratamento. No Apêndice 13a encontra-se a análise estatística realizada segundo programa computacional "TOXSTAT 3.3 Computer Program" (GULLEY et alli, 1991).

TABELA 25 – Crescimento médio das primíparas no teste de avaliação da toxicidade crônica de cloreto de sódio para *C. silvestrii*. Teste 2

Concentração	Tamanho (mm)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação %
	Médio	Mínimo	Máximo		
Controle	0,72	0,71	0,76	0,029	3,97
A - 0,10 g.L ⁻¹	0,76	0,69	0,81	0,064	8,42
B - 0,25 g.L ⁻¹	0,74	0,74	0,76	0,012	1,55
C - 0,60 g.L ⁻¹	0,70	0,67	0,74	0,035	4,97

4.2.3.2. Fecundidade

As Figuras 42 e 43 apresentam os resultados obtidos para a fecundidade de *C. silvestrii* quando submetidas a ensaio de toxicidade crônica com cloreto de sódio em diferentes concentrações.

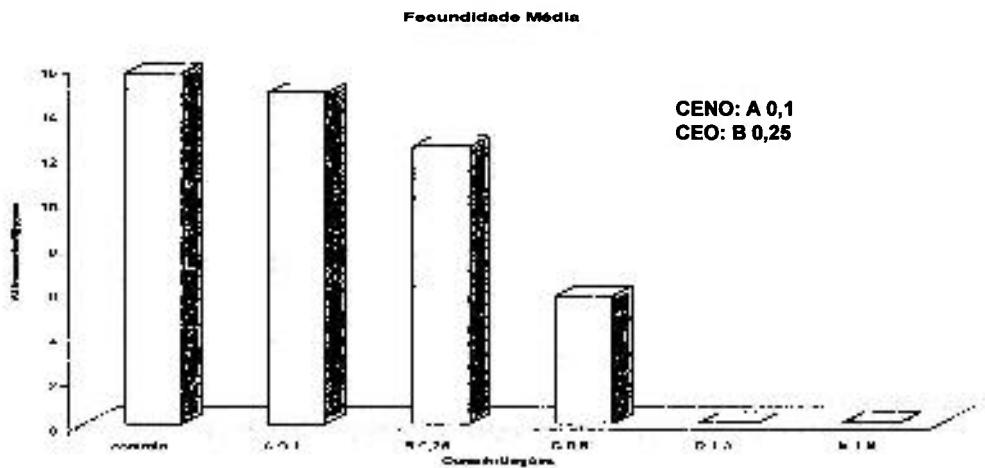


FIGURA 42 - Fecundidade de *C. silvestrii* de (número de neonatas/fêmea). Teste1.

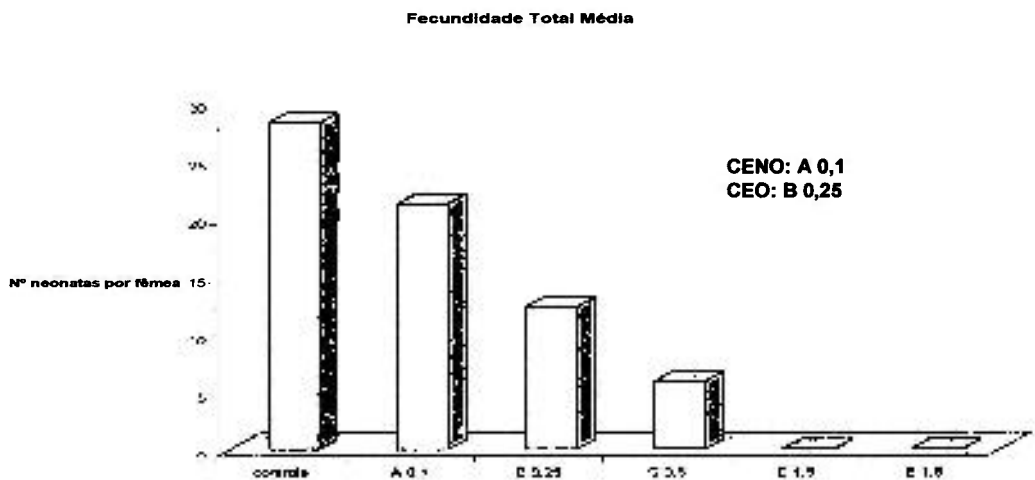


FIGURA 43 – Fecundidade de *C. silvestrii* de (número de neonatas/fêmea). Teste2.

Nas concentrações de 1,5 e 1,8 g.L⁻¹, em ambos os testes não houve reprodução, e a mortalidade foi de 100% ao final do ensaio.

O valor de CENO foi de 0,1 g.L⁻¹ e o de CEO 0,25 g.L⁻¹, conforme apresentado nas Tabelas 26 e 27. Podemos observar que no Teste 1 não foi

possível obter um resultado homogêneo, pois a concentração B (0,25 g.L⁻¹) apresentou fecundidade maior que a concentração A (0,1 g.L⁻¹). Os valores de CENO e CEO foram calculados de acordo com o programa computacional TOXTAT, as análises estatísticas estão apresentadas no Apêndice 13b.

TABELA 26 - Fecundidade total (número de neonatas/fêmea) de *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 1.

Identificação	Média	Mínimo	Máximo	Desvio
Controle	28,8	22,0	37,0	5,0
0,1g.L ⁻¹	14,8	0,00	28,0	13,0
0,25g.L ⁻¹	15,6 *	0,00	32,0	11,6
0,6g.L ⁻¹	5,7 *	0,00	17,0	6,4

* Diferença estatisticamente significativa.

TABELA 27 - Fecundidade total (número de neonatas/fêmea) de *C. silvestrii* para avaliação da toxicidade crônica ao cloreto de sódio. Teste 2.

Identificação	Média	Mínimo	Máximo	Desvio
Controle	28,2	23,0	34,0	3,2
0,1g.L ⁻¹	21,2	16,0	24,0	2,6
0,25g.L ⁻¹	12,3 *	0,00	24,0	7,9
0,6g.L ⁻¹	5,9 *	0,00	14,0	5,8

* Diferença estatisticamente significativa.

4.2.3.3. Critérios de aceitabilidade do controle

Foi avaliado o total de neonatas nas três posturas de cada ensaio de toxicidade crônica com cloreto de sódio, a fim de verificar se este parâmetro estaria de acordo com os critérios estabelecidos no ensaio de ciclo de vida. Os resultados estão apresentados na Tabela 28.

O critério estabelecido para fecundidade de *Ceriodaphnia silvestrii* foi de 16 neonatas em três posturas com desvio padrão de ± 2 . Sendo assim o valor aceitável de fecundidade deve ser maior que 14 neonatas. Apenas o controle do Teste 2 foi aceito pois as fêmeas produziram em três posturas 19 neonatas. Para fins comparativos o Apêndice 12 (Tabela 3), apresenta os valores médios das três posturas nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

TABELA 28 – Total de neonatas em 3 posturas no experimento de ciclo de vida e nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Réplicas	Experimento*	Teste 1**	Teste 2***
1	14	04	20
2	13	02	19
3	17	04	20
4	16	13	19
5	15	19	21
6	15	20	23
7	0	03	12
8	0	0	18
9	18	20	23
10	18	16	18
Média	16	10	19
DP	2	8	3
CV	11%	82%	16%

*Para determinação de critérios do controle; **Teste 1: Controle: 50 % dos indivíduos alcançaram três posturas, pois somente 5 sobreviveram até o final do teste; Teste 2: * Controle: 100 % dos indivíduos alcançaram três posturas.

4.2.4. Avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Para a avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico permetrina foram realizados 6 testes apresentando a média de CE(I)50; 24H de 0,25 e CE(I)50; 48H de 0,16 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

A Tabela 29 apresenta os resultados obtidos nos ensaios com o produto comercial a base de permetrina. As planilhas de controle e acompanhamento dos parâmetros físicos e químicos dos testes estão apresentadas no Apêndice 14. As concentrações utilizadas nos testes definitivos foram 0,01; 0,03; 0,10; 0,32; e 1,0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Não foram apresentados os resultados dos testes preliminares.

TABELA 29 – Toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Teste Nº	CE(l) 50; 24 h ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Intervalo de confiança	CE(l) 50; 48 h ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Intervalo de confiança
1	0,42	0,28-0,64	0,28	0,18-0,44
2	0,36	0,23-0,55	0,30	0,20-0,43
3	0,22	0,16-0,31	0,09	0,06-0,14
4	0,22	0,16-0,32	0,08	0,06-0,12
5	0,28	0,20-0,40	0,22	0,15-0,33
6	0,04	0,03-0,05	0,01	0,01-0,02
CE medio	0,25		0,16	
DP	0,13		0,11	
CV	52%		73%	

DP = Desvio Padrão CV = Coeficiente de Variação

5. DISCUSSÃO

5.1. Teste de sensibilidade

Em ensaios ecotoxicológicos, a garantia da qualidade dos resultados envolve práticas de rotina como a realização de testes agudos com substâncias de referência. Para que os resultados tenham relevância ecológica, tais métodos podem ser desenvolvidos com organismos representativos do ambiente, preferencialmente integrantes de diferentes níveis tróficos, de modo a abranger uma larga faixa de sensibilidade.

Inúmeros animais e vegetais têm sido estudados com a finalidade de se encontrar espécies mais indicadas para espelhar as realidades ecológicas. Neste caso é recomendado que as espécies possuam representatividade e importância ecológica, facilidade de cultivo e ciclo de vida conhecido (MITCHELL, *et. al.* 2002).

Muitas espécies se mostraram potencialmente aptas para o monitoramento ambiental biológico, cumprindo os requisitos mencionados acima. Porém nota-se que a sensibilidade das espécies varia muito entre os diferentes grupos taxonômicos perante as mesmas substâncias químicas ou amostras ambientais. Igualmente dentro do mesmo táxon existem diferenças consideráveis de sensibilidade entre as diversas espécies. Neste sentido é extremamente importante avaliar a sensibilidade de organismos autóctones às diferentes substâncias de referência.

Segundo BOHRER (1995), a utilização de substâncias de referência permite avaliar o estado fisiológico dos organismos submetidos aos ensaios, uma vez que, se o organismo não apresentar condições adequadas, não existe confiabilidade do teste que está sendo realizado. Um controle eficaz dos fatores que podem influenciar a qualidade dos cultivos diminui a variabilidade dos resultados dos testes e o uso de um tóxico como referência para avaliar a sensibilidade permite que os resultados obtidos nos testes apresentem maior confiabilidade. (EPA, 1991)

No presente trabalho foi utilizado como substância de referência o cloreto de sódio, com o objetivo de estabelecer uma faixa de tolerância desta substância para *D. laevis* e *C. silvestrii*, já que esta não é amplamente conhecida. Porém é utilizada como substância de referência em testes de sensibilidade com *C. dúbia*, espécie já normatizada (ABNT, 1995)

Quando a faixa de sensibilidade para uma espécie submetida a testes já é conhecida, sua sensibilidade deve ser avaliada para o controle da qualidade dos

cultivos e dos resultados dos testes realizados. Caso o valor da sensibilidade se encontrar 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 (BOHRER, 1995).

Para *D. laevis*, de acordo com a carta controle estabelecida a sensibilidade (CE(I) 50;48H) foi de 2,48 g/L⁻¹ NaCl, estando a faixa compreendida entre 1,52 e 3,43 g/L⁻¹ NaCl.

BOHRER-MOREL *et. al.*, (2004) apresentam alguns resultados de sensibilidade para espécies de invertebrados autóctones. Os resultados mostram que *D. laevis* é mais sensível ao dicromato de potássio, sendo que o valor obtido para CE(I)50;48H foi de 0,087mg/L⁻¹. Para o cloreto de sódio os valores de CE(I)50;48H foram de 2,54g/L⁻¹ (20°C) e 2,48 g/L⁻¹ (25°C). As faixas de sensibilidade para *D. similis* estão entre 0,040 e 0,11mg/L⁻¹ para dicromato e 2,09 e 3,03g/L⁻¹ (20°C) e 1,74 e 2,54g/L⁻¹ (25°C) para cloreto de sódio. Podemos comparar os resultados apresentados por outros autores na Tabela 30.

TABELA 30 - CE(I)50; 48H de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) e cloreto de sódio (NaCl) para espécies de *Daphnia*.

Substância	Espécie	Valor	°C	Número de Teste	CV (%)	Referência	
NaCl (g.L ⁻¹)							
	<i>D. similis</i>	CE50;48H	2,3 (2,06-2,39)	20	10	5	UTZ (1994)
	<i>D. similis</i>	CE50;48H	2,212 (1,74-2,54)	20	5	12	LAMEIRA (2004)
	<i>D. laevis</i>	CE50;48H	2,540 (2,09- 3,03)	20	6	14	BOHRER-MOREL et al. (2004)
	<i>D. laevis</i>	CE50;48H	2,480 (1,52-3,43)	25	16	22	Neste trabalho
K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg.L ⁻¹)							
	<i>D. magna</i>	CE50;24H	0,9-1,5	20	-	-	AFNOR,1974
	<i>D. magna</i>	CL50;24H	0,9-1,9	20	-	-	DIN, 1981
	<i>D. magna</i>	CE50;24H	0,9-2,0	20	-	-	ISO (1982)
	<i>D. similis</i>	CE50;24H	0,04-0,17	20	-	-	CETESB (1992)
	<i>D. similis</i>	CE50;48H	0,111 (0,80-0,15)	20	5	26	LAMEIRA (2004)
	<i>D. laevis</i>	CE50; 48H	0,087 (0,06-0,11)	20	5	23	BOHRER-MOREL et al. (2004)

°C- Temperatura do teste. AFNOR, 1974 - Dureza da água: 200 mg/L de CaCO₃.

ISO (1982) - dureza da água: 250 (+25) mg/L de CaCO₃.

Para *C. silvestrii* foram realizados testes de sensibilidade utilizando as concentrações já estabelecidas e utilizadas por outros autores (OLIVEIRA-NETO, 2000 e FONSECA, 1991). Nos 14 testes realizados para *C. silvestrii* no presente

trabalho, dois testes (teste nº 7 e 9) ficaram fora da faixa estabelecida de 1,20 e 1,79 g/L⁻¹ de NaCl, com um valor médio de 1,50 g/L⁻¹.

Os resultados apresentados por BOHRER-MOREL *et. al.*, (2004) mostram que *C. silvestrii* é bastante sensível ao dicromato sendo a CE50;48H de 0,130mg/L⁻¹ Para cloreto de sódio o valor de CE50;48H é de 1,50 g/L⁻¹NaCl. As faixas de sensibilidade estão entre 0,12 a 0,18 mg/L⁻¹ para dicromato e de 1,36 e 1,75g/L⁻¹ para cloreto de sódio. Os valores de CE50;48H estão próximos daqueles observados para *C. dubia* em trabalhos de outros autores, como apresentado na Tabela abaixo.

TABELA 31 - CE(I)50; 48H de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) e cloreto de sódio (NaCl) para *Ceriodaphnia silvestrii* e *C. dubia*.

Substância	Espécie	Valor	°C	Nº. Teste	CV (%)	Referência	
NaCl (g.L ⁻¹)	<i>C. dubia</i>	CE50;48H	1,60	25	-	-	CETESB (1992)
	<i>C. dubia</i>	CE50;48H	1,41-1,96	22	6	-	OLIVEIRA-NETO (2000)
	<i>C. dubia</i>	CE50;48H	1,39 (1,32-1,47)	25	5	5	BOHRER (2001)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	1,33-1,82	25	-	-	FONSECA (1997)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	1,14 (0,75-1,43)	25	11	20	RODGHER (1999)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	1,41-1,81	22	6	-	OLIVEIRA-NETO (2000)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	1,50 (1,36-1,75)	25	6	9	BOHRER-MOREL <i>et al.</i> (2004)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	1,50 (1,20-1,79)	25	14	13	Neste Trabalho
K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg.L ⁻¹)		EC50					
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	0,046 (0,027-0,71)	22	11	28	OLIVEIRA-NETO (2000)
	<i>C. silvestrii</i>	CE50;48H	0,130 (0,12-0,18)	25	3	35	BOHRER-MOREL <i>et al.</i> (2004)

°C- Temperatura do teste.

A precisão em testes de sensibilidade é obtida através da repetibilidade (variabilidade intra-laboratorial), descrevendo-se a variação entre as repetições dos testes de diversas substâncias em diferentes laboratórios, frequentemente feitos por muitas pessoas e equipamentos distintos (EPA, 1991).

Os resultados obtidos por BOHRER-MOREL *et. al.*, (2004) e no presente trabalho, mostram que os coeficientes de variação estão dentro da precisão analítica esperada para testes de sensibilidade. A precisão expressa através do coeficiente de variação obtido nos testes foi de 22% para *D. laevis* e de 13% para *C. silvestrii*. De acordo com EPA (1991), resultados entre 8 e 41% são considerados excelentes.

Outras espécies como *Hyaella azteca* (Crustacea Amphipoda) possuem sensibilidade conhecida para NaCl. PRINTES (1996), através de quatorze testes realizados estabeleceu o valor médio da CE(I)50;48H de 1,94 g.L⁻¹ NaCl e a faixa de

sensibilidade compreendida entre 1,59 e 2,29 g.L⁻¹, com baixo coeficiente de variação entre os testes (C.V.= 9%).

BURATINI (2000), avaliou o dicromato de potássio como substância de referência em testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, utilizando três tipos de água de diluição, registrando grandes variações de CE50;48h e também diferenças acentuadas dos coeficientes de variação situados entre 4 % e 33,3.

Várias substâncias tem sido empregadas como substâncias de referência em testes de sensibilidade, dentre as mais utilizadas esta o cloreto de sódio (NaCl). Apesar de não ser considerado um agente potencialmente tóxico, e sim causar problemas de osmorregulação, é uma substancia bastante adequada para testes de sensibilidade, uma vez que os resultados encontrados na literatura possuem coeficientes de variação bem menores do que aqueles com dicromato. Além disso, é uma substância relativamente inofensiva à manipulação, enquanto que o dicromato trata-se de uma substância tóxica que requer cuidados para manipulação e descarte.

5.2. Ciclo de vida de *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii*

5.2.1. Crescimento individual

Nos experimentos de crescimento individual, o tamanho do corpo foi obtido medindo-se o organismo a cada muda, a fim de se estabelecer as curvas de crescimento para condições específicas pré-determinadas. O comprimento médio para neonatas de *D. laevis* com no máximo 12 horas foi de 0,64 ($\pm 0,04$) mm; 2,17 ($\pm 0,11$) mm para a primípara e 2,62 mm o máximo da adulta. O comprimento médio para neonatas de *C. silvestrii* com no máximo 12 horas foi de 0,39 ($\pm 0,01$); 0,73 ($\pm 0,03$) para a primípara e 1,06 mm o comprimento da adulta.

FONSECA (1991, 1996) estudou a biologia de *C. silvestrii* em laboratório, alimentando-as na concentração de 10⁵ cél.ml⁻¹ da alga *Monoraphidium dibowiski* em cultivos a 25°C. Obteve, em média, para *C. silvestrii*, comprimento de 0,9mm sendo que o comprimento máximo foi de 1,0mm e o comprimento da primípara de 0,769 mm.

Para *D. laevis* observa-se um crescimento contínuo durante quase todo o período de teste, com comprimento máximo de 2,0mm. MATSUMURA-TUNDISI & ROCHA (1990) obtiveram para *D. laevis*, cultivadas à 25°C e alimentadas com 10⁵

cel/ml de *Selenastrum capricornutum*, o comprimento máximo de 2,36 mm. Ambos os trabalhos mostram que cladóceros cultivados em temperaturas mais altas propiciam aumento nas taxas de crescimento como demonstrado na Figura 44, onde são comparados os crescimentos entre *Daphnia laevis* cultivadas a 25°C (neste trabalho) e a 20°C por LAMEIRA (2003).

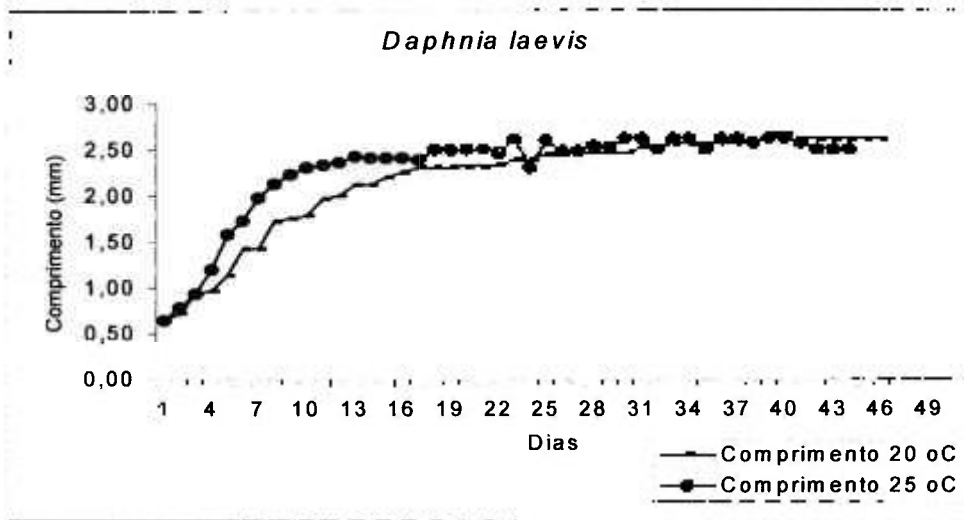


FIGURA 44. Crescimento de *D. laevis* em cultivos à 20°C (LAMEIRA, 2003) e à 25°C.

Foi possível evidenciar diferenças entre o comprimento comparando-se os resultados obtidos com outros da literatura, comprovando as afirmações de VIJVERBERG (1989). O autor diz que a qualidade do alimento influencia na produtividade e no crescimento total do indivíduo por muda. O crescimento e a longevidade são proporcionais, sendo que o crescimento mais rápido pode ser induzido por temperaturas mais elevadas e boas condições de alimento, como qualidade e quantidade.

Observando a Figura 45, onde estão comparados o crescimento das duas espécies (*D. laevis* e *D. similis*) cultivadas nas mesmas condições alimentares e em diferentes temperaturas (20°C e 25°C), notamos que *D. laevis* cultivada a 20°C apresenta uma curva de crescimento muito mais próxima de *D. similis* 20°C, do que a mesma espécie cultivada a 25°C, principalmente nos primeiros 17 dias de vida, apesar de pertencerem à espécies diferentes.

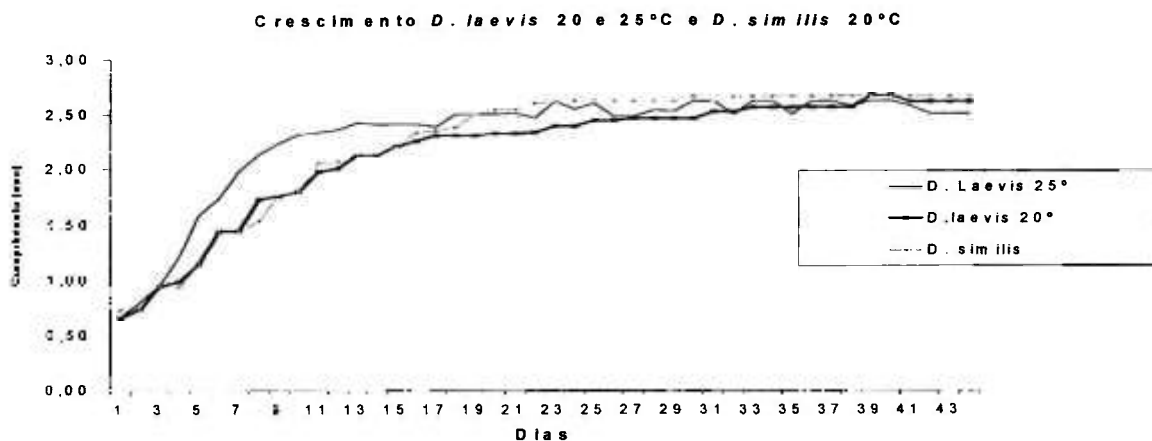


FIGURA 45 -. Crescimento de *D. laevis* a 25°C (neste trabalho) e 20°C (LAMEIRA, 2003) comparado com a espécie *D. similis* a 20°C (LAMEIRA, 2003).

5.2.2. Fecundidade

A fecundidade é um importante parâmetro para o estabelecimento de critérios de aceitabilidade de testes crônicos. Sabe-se que há uma relação evidente entre a fecundidade e o comprimento do organismo. A maioria das espécies de daphnídeos tem tamanho compreendido entre 0,5 e 3mm, mas podem chegar a 18mm de comprimento (PEDROZO & BOHRER, 2002). Comparando-se a fecundidade e comprimento de *D. laevis* cultivadas em temperaturas de 20 e 25°C, vemos que a 25° C as posturas iniciam-se mais cedo e o crescimento é mais rápido (Figura 46 e 47).

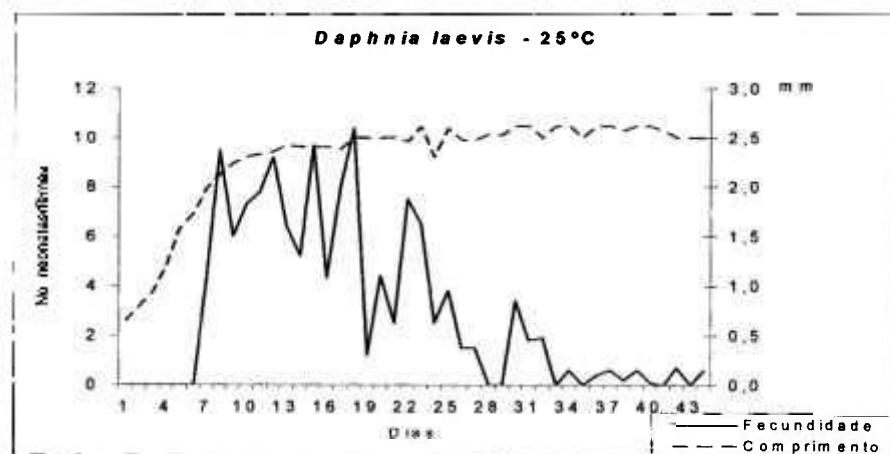


FIGURA 46 -. Crescimento e fecundidade de *D. laevis* a 25°C (MAMONO *et al.*, 2003).

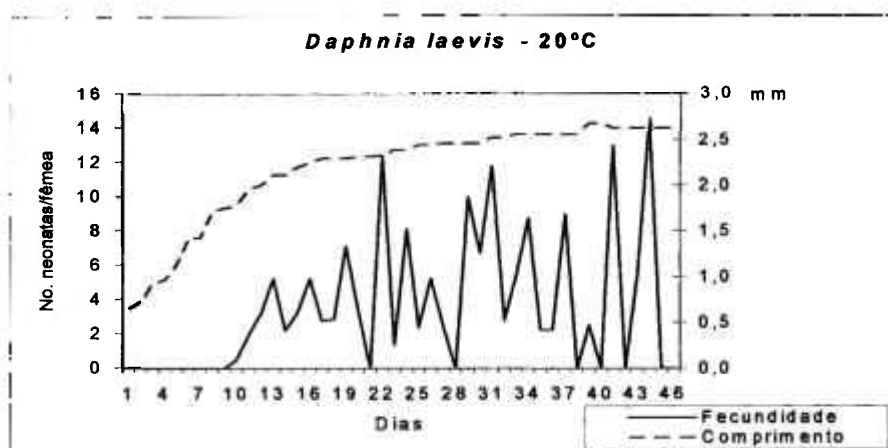


FIGURA 47 - Crescimento e fecundidade de *D. laevis* a 20°C (LAMEIRA, 2003).

Segundo NANDINI *et. al.* (2000), são muitas as variáveis que podem interferir no ciclo de vida de *D. laevis*, porém em seus experimentos notou que a sobrevivência não foi afetada pelo tipo de alimento oferecido e nem sua densidade, porém a reprodução foi influenciada mais significativamente pelo tipo de alga oferecida do que pela sua densidade.

FONSECA (1991, 1996) alimentando *C. silvestrii* na concentração de 10^5 cél.ml⁻¹ da alga *Monoraphidium dibowiski* em cultivos a 25°C obteve fecundidade de 9,46 ovos/fêmea. Trabalhos realizados com *C. silvestrii* oriundas de Barra Bonita/SP (NOGUEIRA *et.al.* 2003), com alimentação (*Chlorella lacustris* e *Scenedesmus acutus*) em temperaturas de 20° e 25°C, mostram diferenças em alguns parâmetros biológicos da espécie como demonstrados Tabela 32.

TABELA 32 – Parâmetros do ciclo de vida de *C. silvestrii* em condições de temperatura e alimentação diferenciadas.

Parâmetros	<i>C. silvestrii</i> 20°C		<i>C. silvestrii</i> 25°C		<i>C. silvestrii</i> 25°C
	NOGUEIRA (2000)		NOGUEIRA (2000)		Neste trabalho
	C	Sa	C	Sa	Sc + ração
Idade da primipara (dias)	4,37	4,15	4,17	2,84	5,0
Fecundidade méd. /fêmea	4,02	4,4	4,9	7,4	6,4
Longevidade média	41	33	34,2	18,9	28,8
Longevidade máxima	50	40	38	25	46

C = *Chlorella lacustris* Sc = *Selenastrum capricornutum* Sa = *Scenedesmus acutus*

Segundo FREY (1947) são dois os principais fatores que influenciam na fecundidade: o tamanho da câmara de incubação e a concentração de alimento. A fecundidade pode variar conforme às condições do ambiente em que se encontram. Ambientes que apresentam fatores inapropriados para seu cultivo podem reduzir o número de filhotes ou ainda induzir a formação de efípios.

5.2.3. Longevidade

Diversos estudos mostram que existe uma relação entre a longevidade e a temperatura. Temperaturas mais altas e boas condições alimentares induzem o crescimento acelerado e conseqüentemente uma longevidade mais curta, enquanto que temperaturas mais baixas existe a redução nas taxas de crescimento e aumento da longevidade. No presente trabalho os resultados mostram que a longevidade média para *D. laevis* foi de 23,8 dias e a máxima de 45 dias; para *C. silvestrii* os resultados foram de 28,8 e 46 dias respectivamente.

MATSUMURA-TUNDISI & ROCHA (1990) analisaram a performance de três espécies de *Daphnias* (*D. laevis*; *D. gessneri* e *D. ambigua*), em relação a longevidade concluiu-se que existe uma relação inversa mais significativa entre temperatura e longevidade em culturas de *D. gessneri*., a 25°C a média é de 21,67 dias e para culturas a 18° C este valor é de 33,88 dias.

FONSECA (1991) obteve longevidade média de 29,8 dias para *C. silvestrii*; NOGUEIRA (2003) cultivou *C. silvestrii* a 20°C e a 25°C obteve como longevidade média 33,6 dias e 18,9 dias respectivamente.

5.2.4. Critérios de aceitabilidade para o controle

A Tabela 33 compara os parâmetros os parâmetros biológicos de *C. silvestrii* e *C. dubia*, resultados de um experimento realizado simultaneamente, nas mesmas condições de alimentação e cultivo no presente trabalho.

Comparando os resultados destes ensaios podemos notar que as duas espécies se mostram muito semelhantes quando cultivadas nas mesmas concentrações de alimento e manutenção, porém apresentam diferenças nos parâmetros de fecundidade por fêmea e longevidade, ressaltando assim a

importância da realização de ensaios anteriores para o estabelecimento de critérios para testes crônicos, uma vez que a norma nacional é para *C. dubia*.

TABELA 33 - Comparação entre o ciclo de vida de *C. silvestrii* e *C. dubia* cultivadas a 25°C alimentadas com alga *Selenastrum capricornutum* na concentração de 1.10^5 cel.ml⁻¹ e ração de peixe fermentada.

Parâmetros	<i>C. silvestrii</i>	<i>C. dubia</i>
Comp. méd. neonata (mm)	0,39	0,44
Comp. méd. primípara (mm)	0,73	0,73
Comp. máx. Adulto (mm)	1,06	0,96
Idade mín. da primípara (dias)	5	5
Idade méd. da primípara (dias)	5	5,4
Fecundidade méd. /fêmea	100,8	65,6
Fecundidade máx./ fêmea/postura	12	12
Longevidade média	28,8	19
Longevidade máxima	46	28

A Tabela 34 compara os parâmetros biológicos de *Daphnia laevis* quando cultivadas em temperaturas de 20°C (LAMEIRA, 2003) e 25°C, nas mesmas condições de alimentação. Nota-se diferença no crescimento, que é mais acelerado quando cultivadas a 25°C e a longevidade média mais curta nesta temperatura. Sendo assim os cultivos em laboratório de *D. laevis* nas temperaturas de 20°C e 25°C terão procedimentos para manutenção diferenciados. O ciclo de vida a 25°C é mais curto, portanto, os cultivos terão duração de 15 dias, idade em que estas já alcançaram seus picos de crescimento e reprodução, enquanto que os realizados a 20°C terão duração de 21 dias.

TABELA 34 - Comparação entre o ciclo de vida de *Daphnia laevis* cultivadas na temperatura de 20 e 25°C.

Parâmetros Biológicos	<i>Daphnia laevis</i> 20°C *	<i>Daphnia laevis</i> 25°C
Comp. Méd. neonata (mm)	0,64	0,64
Comp. Méd. primípara (mm)	2,00	2,17
Comp. Máx. adulto (mm)	2,62	2,62
Idade mín. da primípara (dias)	10	7
Idade méd. da primípara (dias)	11	8
Fecundidade méd. /fêmea	96	143
Fecundidade máx./ fêmea/postura	28	26
Longevidade média	32,3	23,8
Longevidade máxima	46	45

* LAMEIRA 2003.

Alguns estudos mostram que fatores como disponibilidade de alimento, luz, OD, pH e dureza podem influenciar no crescimento, reprodução e sobrevivência de espécies planctônicas (MATSUMURA-TUNDISI & ROCHA, 1990; FONSECA, 1991).

Para *C. silvestrii* a partir dos resultados obtidos no presente trabalho e adotando os critérios de aceitabilidade do controle no teste crônico para *Ceriodaphnia dubia*, com base na ABNT (1995) e OECD (1984), estão sendo propostos os seguintes critérios de performance para *C. silvestrii* 25° C; mortalidade menor ou igual a 20% no final do teste, e média cumulativa do número de neonatas/fêmea após 3 posturas maior que 14, sendo que 60% das fêmeas deverão atingir esta fecundidade.

Para *D. laevis*, a partir dos resultados obtidos no presente trabalho e adotando os critérios de aceitabilidade do controle no teste crônico para *Daphnia* sp., com base na OECD (1984), estão sendo propostos os seguintes critérios de performance para *D. laevis* a 25° C: mortalidade menor ou igual a 20% no final do teste, média cumulativa do número de neonatas/fêmea após 3 posturas maior que 19, sendo que 60% das fêmeas deverão atingir esta fecundidade. Para 20° C os critérios são semelhantes, a exceção da média cumulativa do número de neonatas/fêmea após 3 posturas que deverá ser maior que 18. Os critérios estão sendo validados para que sejam recomendados como performance do controle.

5.2.5. Crescimento populacional – determinação da taxa intrínseca de aumento natural

A taxa intrínseca de aumento de uma população de cladóceros pode ser calculada a partir da idade, fecundidade e taxas de sobrevivência registradas por um conjunto de condições definidas e podem variar de acordo com os parâmetros ambientais (temperatura, disponibilidade de alimento, luz, oxigênio dissolvido e pH) (FONSECA, 1991).

No presente trabalho, o valor estimado para a taxa intrínseca de aumento natural (r) de *D. laevis* foi de 0,40 e para *C. silvestrii* de 0,46.

TAVARES (1988), em experimentos realizados a 24°C (\pm 3° C) obteve taxa intrínseca de aumento natural da população (r) 0,41 para *D. laevis* e 0,28 para *C. silvestrii*. FONSECA (1991) obteve valores de r de 0,26 para *D. laevis* e de 0,32 para *C. silvestrii*.

As taxas intrínsecas de aumento populacional fornecem informações sobre a ação de fatores que controlam o desenvolvimento de uma população. Em laboratório não são consideradas as relações existentes entre alterações de fatores ambientais (dureza; pH; oxigênio dissolvido, etc.), pois as condições são pré-determinadas e constantes. Neste caso, os ensaios irão fornecer as informações sobre a capacidade fisiológica dos organismos obtendo-se desta forma uma taxa máxima de aumento natural. Este é um dado importante, pois é estabelecida uma taxa para as espécies estudadas sob condições padronizadas de laboratório, contribuindo assim para a obtenção de um modelo que pode ser comparado com as observações de campo (BOHRER, 1995). Muitos estudos incluem o desenvolvimento de modelos para avaliar efeitos em populações. A taxa de crescimento populacional pode ser estimada usando medidas convencionais de testes de reprodução combinados com informações adicionais sobre distribuição ao longo do tempo (PRINTES, 2003). No presente trabalho o alimento e espaço foi fator limitante no crescimento populacional das espécies estudadas, sendo que houve aparecimento de machos e efípios nas culturas. Apesar de a reprodução ocorrer por partenogênese e a população na maioria do tempo ser constituída apenas por fêmeas, eventualmente podem apresentar reprodução sexuada, quando há o aparecimento de machos (Figura 48) e formação de ovos denominados efípios (FIGURA 49).

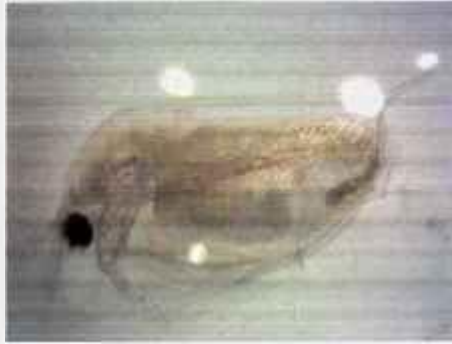


FIGURA 48 - *Daphnia laevis*. Macho. Aumento10X25.



FIGURA 49 – Efípio de *Daphnia laevis*. Aumento10X25.

5.3. Avaliação da Toxicidade

5.3.1 Toxicidade crônica do cloreto de sódio (NaCl).

Ainda no final da década de 70, tornou-se evidente a necessidade de gerar dados mais abrangentes sobre os riscos potenciais de agentes tóxicos à biota aquática, através de testes que envolvessem todo o ciclo vital. Iniciaram-se, então, estudos sobre efeitos crônicos sub-letais. Em relação aos microcrustáceos, tais estudos culminaram com a padronização do teste de reprodução com *Daphnia magna*, através dos procedimentos estabelecidos pela OECD e pela ISSO (BURATINI, 2002).

O cloreto de sódio não é considerado uma substância tóxica, porém todas as substâncias químicas têm um potencial tóxico de ação que depende da concentração e do tempo de exposição.

Por ser utilizado como substância-referência, os resultados obtidos nos testes agudos com cloreto de sódio, serviram como parâmetros para o estabelecimento das concentrações utilizadas no teste crônico, permitindo assim, além de validar os critérios adotados para o controle e conhecer a toxicidade crônica desta substância.

Nos testes de toxicidade crônica observa-se por um período maior o ciclo de vida do organismo exposto a uma substância química. Este teste tem a finalidade de estudar o efeito sub-letal destas substâncias sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos expostos (CETESB,1997; RAND, 1995).

Os valores de CENO e CEO para *D. laevis* foram de 0,7 e 1,0 g.L⁻¹ NaCl e para *C. silvestrii* 0,1 e 0,25 g.L⁻¹ NaCl, respectivamente. Para *C. silvestrii* não houve efeito significativo sobre o crescimento, sendo que somente a fecundidade da espécie foi afetada.

O cloreto de sódio é uma substância utilizada em testes de sensibilidade como substância de referência para organismos já normatizados, como *C. dubia* (ABNT,1995). É uma substância quimicamente estável na água, (KNIE & LOPES, 2004) que atua na osmorregulação e realiza o transporte intracelular e extracelular no metabolismo dos microcrustáceos. Em concentrações elevadas pode causar o desequilíbrio na osmorregulação, principalmente quando sofrem mudas, o que torna as espécies mais vulneráveis, e que, conseqüentemente, prejudica a sobrevivência e reprodução (UTZ, 1994).

No Brasil não existe norma para realização de testes crônicos com *Daphnia*, e pouco se sabe sobre a biologia de espécies autóctones para a realização de tal teste. As normas utilizadas são para testes crônicos com *Ceriodaphnia* (ABNT, 1995), e com *Daphnia sp*, de regiões temperadas (OECD, 1984), com duração de 14 dias. Portanto, existe a necessidade de se adaptar as normas existentes para as espécies nativas, pois os ciclos de vida são diferentes como demonstrado nos resultados do presente trabalho e em dados da literatura.

A interpretação dos resultados baseou-se nas normas NBR 13373 (ABNT, 1995) e EPA (1991) para testes crônicos com *Ceriodaphnia*, onde se observou o número total de jovens produzidos por fêmea adulta. Inicialmente, foram comparados os dados de sobrevivência de cada concentração com os do controle, excluindo-se das análises de reprodução as concentrações onde foi observado efeito agudo. Para detectar diferenças estatisticamente significativa na reprodução

em relação ao controle, o número médio de jovens produzidos em cada concentração foi comparado com o número médio obtido no controle.

Os resultados de testes de toxicidade com microcrustáceos podem ser fortemente influenciados pelas condições dos organismos, incluindo tanto a variabilidade biológica intrínseca, quanto as condições físicas, dependentes de fatores como qualidade da água de cultivo e/ou diluição (BAER et al, 1999). Pode-se observar que os resultados de coeficiente de variação obtidos nos controles dos testes crônicos realizados com *D. laevis*, Teste 1 (17%) e Teste 2 (21%), estavam dentro da faixa de precisão analítica recomendada pela norma EPA, 2000 (entre 8 e 41%). Nos testes com *C. silvestrii*, apenas o Teste 2 (16%) foi aceito, o Teste 1 obteve coeficiente de variação de 82%, sendo inviabilizado pois estava fora da faixa recomendada pela EPA (1991)

5.4. Toxicidade aguda do agrotóxico permetrina.

Devido à ampla distribuição e natureza tóxica, os agrotóxicos podem causar impactos nos ecossistemas aquáticos e exercer efeitos deletérios nos organismos que compõe sua biota (JONSSON & MAIA, 1999). Estes impactos podem ser avaliados, em parte utilizando-se diferentes testes com distintos graus de complexidade.

No presente trabalho a permetrina sob forma de produto comercial mostrou-se muito tóxica para os organismos testados, pois em concentrações muito baixas observou-se efeito agudo. Os valores obtidos para CE(I)50 24 e 48H de *D. laevis* foram respectivamente 1,08 e 0,48 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e para *C. silvestrii* 0,25 e 0,16 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Em função dos resultados de toxicidade apresentados, optou-se pela não realização de testes para avaliação da toxicidade crônica, que apresentam duração de sete a dez dias.

Valores de CE(I)50 para permetrina são conhecidos, entre outros organismos aquáticos, para: *Ceriodaphnia dubia* (0,55 $\mu\text{g.L}^{-1}$), *Daphnia magna* (1,06-0,43 $\mu\text{g.L}^{-1}$); *Anopheles stephensi* (6,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e *Tilapia aurea* (6,23-6,54 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Estes dados demonstram que a permetrina é um produto extremamente tóxico para a maioria dos organismos, especialmente microcrustáceos. Os resultados obtidos para *D. laevis* e *C. silvestrii* estão próximos aos encontrados na literatura, porém *C. silvestrii* é mais sensível. A Tabela 35 mostra os valores encontrados para organismos aquáticos.

SILVA (2005) em ensaios de toxicidade aguda utilizando o mesmo produto obteve resultados para *D. similis* de CE(I)50;24H, 0,0011 ppm (1,10 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e para CE(I)50;48H, 0,0003 ppm (0,30 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e, de *C. dubia*, CE(I)50;24H de 0,0002 (0,20 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e CE(I)50;48H de 0,0001 (0,10 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

TABELA 35. CE(l)50 de permetrina para diferentes organismos encontrados na literatura.

Organismo	Duração	Concentração µg/L	Referências
<i>Anopheles stephensi</i>	24H	6,2 – 110,7	MALCOLM, 1998
<i>Chironomus xanthus</i>	96H	0,40	SILVA, 2005
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	-	0,55	MOKRY & HOAGLAND, 1990
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	24 e 48H	0,20 e 0,10	SILVA, 2005
<i>Daphnia magna</i>	24H	1,25	MOKRY & HOAGLAND, 1990
<i>Daphnia magna</i>	48H	0,43	MOKRY & HOAGLAND, 1990
<i>Daphnia similis</i>	24 e 48H	0,11 e 0,30	SILVA, 2005
<i>Salvelinus fontinalis</i>		Menor que 1 - 12	STRATTON, G. W. & GILES, 1990
<i>Tilapia aurea</i>	48	6,23 – 6,54	SETAC, 2003
<i>C. silvestrii</i>	24 e 48 H	0,25 e 0,16	Presente trabalho
<i>D. laevis</i>	24 e 48 H	1,08 e 0,48	Presente trabalho

Os pesticidas ou agrotóxicos incluem um grande número de compostos químicos usados nos setores agrícola e agropecuário para o controle e erradicação de vetores de doenças e pragas que representem algum problema para o homem. Entre os produtos classificados como pesticidas temos, quanto à ação ou efeito sobre o organismo-alvo, os herbicidas, inseticidas, acaricidas, fungicidas, rodenticidas e anti-helmínticos. Outro critério ligado à classificação destes compostos é a sua persistência ou não no ambiente, que está relacionado com a sua categoria química: organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretróides, entre outros (DORES & DE LAMONICA-FREIRE 1999; LARINI, 1999).

O consumo de agrotóxicos no Brasil cresceu cerca de 44% em 10 anos (NUNES & RIBEIRO, 1999). A problemática associada ao uso de pesticidas advém do intenso uso que se faz destas substâncias e da sua inadequada utilização; podendo deixar resíduos no solo, na água ou tecidos vivos ocasionando efeitos prejudiciais ou até a morte de diversos organismos ou que ainda podem posteriormente ser veiculados para campos e rios, contribuindo para a contaminação da água. Ainda outro inconveniente, é o fato de não haver conhecimento das interações entre os vários pesticidas e outros compostos que possam existir previamente na água, ocasionando efeitos prejudiciais aos organismos da biota aquática. (DORES & DE LAMONICA-FREIRE, 1999)

Muitos são os impactos que os agrotóxicos causam no ambiente aquático. Nos organismos podemos observar efeitos agudos que levam o organismo a morte

em curtos intervalos de tempo ou efeitos crônicos como a bioacumulação. O efeito de bioacumulação pode ocorrer quando o organismo fica exposto a concentrações destas substâncias que não leva a morte, mas causa um efeito cumulativo na cadeia alimentar, podendo causar doenças como o câncer, distúrbios mutagênicos ou influencia na taxa de reprodução. Daí a importância da realização de testes crônicos para conhecer os efeitos no ciclo de vida destes organismos.

O registro de novos agrotóxicos é cada vez mais complexo e exige controles ambientais e toxicológicos cada vez mais rigorosos para minimizar a presença de seus resíduos e sua ação nociva ao homem e ao ecossistema em geral. Atualmente a EPA exige ensaios de toxicidade e persistência no ambiente para registro de novos agrotóxicos, e que normalmente são muito demorados. A introdução de compostos mais seguros e eficazes no mercado é muito lenta e onerosa (NUNES & RIBEIRO, 1999).

Dentre os inseticidas organossintéticos incluem-se os piretróides. Os piretróides sintéticos surgiram na década de 70, tem pouca seletividade, resistência custo e persistência variável, segundo LARINI, (1999) são considerados não-persistentes.

Os principais compostos piretróides são: Aletrina, Esbiotrina, Permetrina, Fenotrina, Cipermetrina, Deltametrina, Fenpropanato, Cialotrina, Flumetrina, Resmetrina, Bifentrina e Transflutrina. A maioria é insolúvel em água e bastante solúvel em solventes orgânicos (LARINI 1999). A Permetrina possui nome químico 3 - fenoxibenzil ± cis-trans - 3 (2,2 - diclorovinil) 2-2-dimetilciclopropanocarboxilato. ($C_{21}H_{12}Cl_2O_3$).

São substâncias bastante utilizadas na agricultura (cultivo de algodão, arroz, café, soja, milho, trigo e fumo), na medicina veterinária (na eliminação de ectoparasitas) nas campanhas de saúde pública (eliminação de insetos em geral (LARINI, 1999) e no tratamento de madeiras e construções para controle de cupins, com aplicação aérea ou diretamente no solo segundo FMC (ficha do produto)).

Estão disponíveis no mercado em formulações do tipo concentrado ou em volume muito baixo, como aerossóis, loções e xampus. Muitos dos produtos domésticos utilizados como inseticidas possuem como princípio ativo, compostos piretróides. (SCHIO, 2001)

Considerando o grau de toxicidade e a ação tóxica dos piretróides, eles são divididos em duas classes, I e II. Na Classe I incluem-se a Aletrina, Permetrina,

Resmetrina, Fenotrina e outros compostos que causam efeitos neurológicos, provavelmente de origem periférica como agressividade, tremores, convulsões etc, em experimentos feitos com ratos. Na Classe II incluem-se o Fenpropanato, Cipermetrina, Deltametrina, Cialotrina, Flumetrina que causam efeitos de origem central, como salivacão excessiva, movimentos irregulares dos membros, convulsões e sensibilidade aumentada (LARINI, 1999).

Nos insetos, atuam no sistema nervoso central de forma semelhante aos organoclorados, promovendo paralisia e morte do artrópode. São biodegradáveis, não acumulativos, e raramente provocam intoxicações agudas em aves e mamíferos, sendo para estes hipersensibilizantes e irritantes das mucosas. Entretanto, são extremamente tóxicos para os animais aquáticos. Possuem ainda as vantagens de serem muito ativos (bastam pequenas doses) e desalojantes, apresentando como única desvantagem o custo elevado.

Além do princípio ativo presente nos pesticidas existem outras substâncias, não inseticidas que entram nas formulações dos produtos disponíveis no mercado. São os adjuvantes de formulações, tais como solventes: facilitam a diluição dos inseticidas, são geralmente utilizados o querosene, o xileno e óleos minerais e vegetais, emulsificantes, agentes espalhantes: atuam diminuindo a tensão superficial da água durante a aplicação de óleos larvicidas, agentes umectantes: atuam umidificando e permitindo a mistura de inseticidas pós molháveis à água e sinergistas. Os agentes sinergistas potencializam a ação do inseticida. São compostos não tóxicos, que aumentam a atividade dos inseticidas com os quais são usados.

A Portaria número 518 do Ministério da Saúde de 25 de março de 2004 inclui princípios ativos de agrotóxicos nos parâmetros de potabilidade de água. Segundo esta portaria os valores máximos permissíveis para permetrina é de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

Apesar de seu uso ser de extrema importância e de ter contribuído muito para o aumento da produtividade agrícola nas últimas décadas, pouco se sabe sobre os aspectos toxicológicos e implicações do seu uso, para outros organismos, principalmente o efeito sobre espécies autóctones brasileiras. Neste sentido este trabalho procurou contribuir para o conhecimento do efeito de um agrotóxico incluído na Portaria 518 sobre organismos presentes em nossos ecossistemas aquáticos.

6. CONCLUSÕES

- Sob as condições de cultivo, o comprimento médio da espécie *D. laevis* é de 0,64mm ao nascer, 2,17 mm na primeira reprodução e 2,62 mm do adulto.
- Sob as condições de cultivo, o comprimento médio da espécie *C.silvestrii* é de 0,39mm ao nascer, 0,73mm na primeira reprodução e 1,06mm do adulto.
- Sob as condições de cultivo, a reprodução de *D. laevis* inicia-se por volta do 7º e a de *C.silvestrii* inicia-se no 5º dia, sendo que alcançam as três primeiras posturas entre 8 e 10 dias, portanto, para ensaios crônicos a duração dos testes será entre 8 e 10 dias, sendo que o teste deverá ser finalizado quando a espécie alcançar três posturas.
- Sob as condições de cultivo, a longevidade média de *D. laevis* foi de 28,3 dias e a máxima de 45 dias e, para *C. silvestrii*, de 28,8 dias e a máxima de 46 dias.
- A faixa de sensibilidade (CE(I)50);48H) de *D. laevis* para o cloreto de sódio situa-se no intervalo entre 1,52 e 3,43 g.L⁻¹ NaCl, sendo a média 2,27 g.L⁻¹.
- A faixa de sensibilidade de *C. silvestrii* (CE(I)50);48H) para o cloreto de sódio situa-se no intervalo entre 1,20 e 1,79 g.L⁻¹, sendo que a média de 1,57g.L⁻¹.
- Para testes crônicos com *D. laevis*, os resultados mostram o uso dos organismos cultivados a 25°C permite resultados mais rápidos em decorrência do crescimento mais acelerado e as posturas iniciarem-se mais cedo.

- Como critério de aceitabilidade dos controles em testes crônicos, fica estabelecido que o valor aceitável de fecundidade em três posturas de *C. silvestrii* deverá ser maior que 14 neonatas/ fêmea e de *D. laevis* maior que 19 neonatas/, sendo que 60% das fêmeas deverão alcançar estes valores em 3 posturas até o final do teste, que não deve exceder 10 dias.
- O valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) para o crescimento de *D. laevis* foi de $0,7 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl e o valor de CEO (Concentração de Efeito Observado) foi de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl.
- Para *C. silvestrii* não foi verificado efeito crônico do Cloreto de Sódio sobre o crescimento nas concentrações testadas.
- O valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) para a reprodução de *D. laevis* foi de $0,7 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl e o valor de CEO (Concentração de Observado) foi de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl.
- O valor de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) para a reprodução de *C. silvestrii* foi de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl e o valor de CEO (Concentração de Observado) foi de $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ NaCl.
- A toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *D. laevis* expressa pela CE(I)50;24H foi de $1,08 \mu\text{g.L}^{-1}$ e a CE(I)50;48H de $0,48 \mu\text{g.L}^{-1}$.
- A toxicidade aguda do agrotóxico permetrina para *C. silvestrii* expressa pela CE(I)50;24H foi de $0,25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e a CE(I)50;48H de $0,16 \mu\text{g.L}^{-1}$.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Água - Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro. NBR 12713:1995.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Água - Ensaio de toxicidade parte 3: Toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* (Crustácea, Cladocera)**. Rio de Janeiro. NBR 13373:1995.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard guide for conducting renewal life cycle toxicity tests with *Daphnia magna***. Philadelphia: ASTM. 1988.

BAER, K.N.; ZIEGENFUSS, M.C.; BANKS, S.D. AND LING, Z. **Suitability of high-hardness COMBO medium for ecotoxicity testing using algae, daphnids and fish**. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v.63.1999.

BERTALANFFY, L. Von. **A quantitative theory of organic growth**. Hum. Biol. 1946.

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 zooplancônica**. São Carlos, UFSCar. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 1995.

BOHRER-MOREL-, M.B.; CAPOLETI, C.; LAMEIRA, V.; MAMONO, P.C.; SILVA, A.M.; PIRES L.E.B. **Ecotoxicological evaluation of internal waters in Brazil: Use of autochthonous species of invertebrates**. Em prep. 2005.

BURATINI - MENDES , S.V. **Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia***. Dissertação de mestrado. Ciências da Engenharia Ambiental. São Carlos. 2002.

BURATINI, S.V. **A utilização do cloreto de potássio como substância de referência no controle da sensibilidade das culturas de *Daphnia similis***. (In) Resumos: VI Encontro de Ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e Desenvolvimento Sustentável: Perspectivas para o Século XXI". São Carlos, 2000.

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos**. São Paulo. 1992.

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos**. São Paulo. 1997.

DAMATO, M. **Estudo da influência do nível de tratamento de efluentes de refinaria de petróleo na sua toxicidade, empregando diferentes espécies indicadoras**. Tese Doutorado. Universidade de São Paulo (POLI/USP), São Paulo. 1997.

DORES, E.F.G.C. & DE-LAMONICA-FREIRE, E. M^a. **Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: Vias de contaminação e dinâmica dos pesticidas no**

ambiente aquático. In: Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente. Curitiba, V9, p. 1-18, Jan/Dez. 1999.

DUMONT, H.J. **On the diversity of the Cladóceras in the tropics.** (in): Studies on the ecology of tropical zooplankton. Developments in Hydrobiology. Hidrobiologia 272: 27-38. 1994.

ELMOOR-LOUREIRO, L.M.A. **Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil.** Editora Universal. Brasília. 1997.

EPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms.** Eds W.B. Horning and C.I. (EPA/600/4-85/014). 1985.

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 - 600/4 - 90/027). 1991.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia.** Ed. Interciência/FINEP. 1988.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na Bacia do Rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados.** Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 1997.

FONSECA, A.L. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubia silvestris* (Crustacea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poeciledae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais.** Dissertação de Mestrado em Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 1991.

FREY, F. E. J. **Effects of the environment on animal activity.** University Toronto Press. Canada. 1947.

GUERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P.A.; ARAUJO, R.P.A.; RAMOS, M.L.L.C. **Procedimentos para a utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos.** São Paulo. CETESB. 1990.

GULLEY, D.D.; BOELTER, A.M.; BERGMAN, H.L. **TOXTAT 3.3 Computer Program.** 1991.

GÜNTZEL, A. M. **Variações espaço –temporais da comunidade zooplanctônica nos Reservatórios do Médio e Baixo Rio Tietê/Paraná, SP.** Tese de Doutorado. Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos. 2000.

HAMILTON, M.A; RUSSO, R.C.; THURTON, R.V. **Trimed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays.** Environ., New York, volume 11, número 7. 1977.

HEBERT, P. D. N. **The population biology of *Daphnia* (Crustacea, Daphnidae).** University of Windsor, Canada. 1977.

HELLAWELL, J.M. **Biological indicators of freshwater pollution and environmental management**. ed. Elsevier Applied Science Publishers, New York, 1986.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Determination de inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)**. Première édition, Paris, (ISO 6341). 1982.

JONSSON, C. M. & MAIA, A. H. N. **Toxicidade dos herbicidas clomazone e quinclorac para o invertebrado aquático *Daphnia similis* na presença e ausência de sedimento**. In: Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente. Curitiba, V9, p. 145-153, Jan/Dez. 1999.

KNIE, J.L.W & LOPES, E. W.B. **Testes Ecotoxicológicos. Métodos, técnicas e aplicações**. Fundação do Meio Ambiente. FATMA/Agência Alemã de Cooperação Técnica – GTZ. Santa Catarina. 2005.

KOROVCHINSKY, N.M. **Invertebrates of the litoral zone of Lake Glubokoe**. Hydrobiologia 141/ Dev. Hydrobiol. 36: 83-88. 1986.

KUMAR, S. **The effects of dieldrin, dimethoate and permethrin on *tetrahymena pyriformis***. Environ. Poll. (G.B.) 57, 275. 1989.

LAMEIRA, V. **Validação de *Daphnia laevis* (CRUSTACEA: BRANCHIPODA) em ensaios de ecotoxicidade**. Trabalho de Conclusão de curso. Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade de Santo Amaro, UNISA. 2003.

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas**. Editora Manole Ltda. 1º ed. 1999.

MALCOLM, C. A. **Reduced susceptibility to permethrin and its relationship to DDT resistance in larvae of *Anopheles stephensi***. Med. Vet. Entom. 1988.

MAMONO, P.C.; BOHRER, M.B.C.; LAMEIRA, V. **Critérios biológicos para aceitabilidade de testes de toxicidade crônica com *Daphnia laevis* (crustacea: branchiopoda)**. Resumo: VI Congresso SETAC América Latina. Sociedade de Toxicologia e Química Ambiental. Buenos Aires/Argentina. 2003.

MATSUMURA-TUNDISI, T. **Occurrence of Species of the Genus *Daphnia* in Brazil**. Revista Brasileira de Hydrobiologia. 1984.

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. 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº. 518**, 25 de março de 2004.

MITCHELL, J.A.K.; BURGESS, J.E. & STUETZ, R.M. **Developments in ecotoxicity testing**. Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology 1: 169-198. 2002

MOKRY, L. E. & HOAGLAND, K. D. **Acute toxicity of five synthetic pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia***. Environ. Toxicol. Chem., 9, 1045. 1990.

NANDINI, S.; SARMA, S.S.S.; RAMIREZ-GARCÍA, P. **Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*.** *Crustaceana* 73 (10), pp. 1273-1286. 2000.

NOGUEIRA, P. F. M., SANTOS, M. A. P. F. & MELÃO M. G.G., 2003. **Efeitos da temperatura e alimento sobre as características bionômicas de *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Daphnidae).** In: Congresso Brasileiro de Limnologia, IX, 20-25 julho. Universidade Federal de Juiz de Fora, *Resumos* Juiz de Fora. 2003.

NUNES, G. S. & RIBEIRO, M. L. **Pesticidas: Uso, Legislação e Controle.** In: *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*. Curitiba, V9, p. 31-44, Jan/Dez. 1999.

OECD, *Guidelines for testing of chemicals. Daphnia sp., Acute immobilization test and reproduction test.* OECD, Paris, France. 1984.

OLIVEIRA-NETO, A. L. **Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr, Pb) em organismos planctônicos lacustres da região subtropical.** Tese de Doutorado, USP-Escola de Engenharia de São Carlos. 2000.

PEDROZO, C. DA S.; BOHRER, M. B. C. **Effects of culture medium and food quantity on the growth, fecundity and longevity of the cladoceran *Daphnia similis* Claus.** Resumo publicado na ACTA. Universidade do Rio Grande do Sul. 2002.

PLATTE, E.B. **Otimização da alimentação de *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea) em culturas de laboratório para utilização em testes de toxicidade crônica.** Porto Alegre: UFRGS. Trabalho de Conclusão Curso - Bacharelado em Zoologia, 1993.

PRINTES, L.B. **Biomonitoramento da microrregião carbonífera do baixo Jacuí, RS, através de testes de toxicidade com Cladocera e implantação de cultivos e definição da faixa de sensibilidade de *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda) ao Cloreto de Sódio (NaCl).** Dissertação Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1996.

PRINTES, L.B. **The value of acetylcholinesterase activity in *Daphnia* as a biomarker of environmental contamination.** Tese Doutorado. The University of Reading. 2003.

RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications.** Washington USA, Hemisphere Publishing. 1985.

RAND, G.M., WELLS, P.G. & MACCARTY, L.S. **Introduction to Aquatic Toxicology.** (In): RAND, G.M. **Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment.** Washington USA: Taylor & Francis. 1995.

ROCHA, O & SENDACZ, S. **Composition, Biomass and Productivity of zooplankton.** in *Natural Lakes and reservoirs of Brazil*. In: J.G. Tundisi; C.E.M. Bicudo and T. Matsumura-Tundisi eds. *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro, ABC/SBL. 1995.

ROCHA, O. & MATSUMURA-TUNDISI, T. **Growth rate, longevity and reproductive performance of *Daphnia laevis* Birge, *Daphnia gessneri* Herbst and *Daphnia ambigua* Scourfield in laboratory cultures.** Universidade de São Carlos: Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, laboratório de limnologia. São Carlos. Rev. Brasil. Biol., 50(4): 915-921. 1990.

ROCHA, O. **Perfil do conhecimento de biodiversidade em águas doces no Brasil.** Relatório Final. Avaliação do Estado do Conhecimento da Diversidade Biológica do Brasil. COBIO/MMA – GTB/CNPq – NEPAM/UNICAMP. 2000.

RUPPERT, E.E. & BARNES, R.D. **Zoologia dos invertebrados.** 6th edição. 1995.

SAMPAIO, E. V. **Composição, abundância e diversidade das comunidades zooplancônicas em reservatórios do sudeste do Brasil (Bacias dos Rios Paranapanema e Alto São Francisco).** Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. 2002.

SCHIO, R. **Caracterização toxicológica de produtos domésticos que geram resíduos sólidos perigosos e sua destinação no município de Campo Grande/MS.** 2001

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

STRATTON, G. W. AND GILES, J. **Importance of bioassay.** (in): Toxicity tests using algae and aquatic invertebrates. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44, 420. 1990.

TAVARES, L.H.S. **Utilização do plâncton na alimentação de larvas e alevitos de peixes.** Tese de Doutorado. São Carlos/UFSCar. 1988.

TUNDISI, J.G.; BICUDO, C.E.M.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnology in Brazil.** Brazilian Academy of Sciences & Brazilian Limnological Society. 1995.

UTZ, L.R.P. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica de acetato e cloreto de potássio para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) com fins a sua utilização em fluidos de perfuração de poços de petróleo e determinação da faixa de sensibilidade de cloreto de sódio para *Daphnia similis* Claus, 1876.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1994.

VIJVERBERG, J. **Culture techniques for studies on the growth, development and reproduction of copepods and cladocerans under laboratory and in situ conditions: a review.** Freshwater Biology, v. 21, 1989.

WALFORD, L.A. **A New Graphic Method of Describing The Growth Animals.** Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., v. 90, n. 2, p. 141 – 147, 1964.

WEBER, C. I. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.** 4ª. Ed. Washington, D.C. 1993.

WETZEL, R.G., LIKENS, G.E. **Limnological Analyses**. 2nd Ed. New York: Springer-Verlag. 1991.

APÊNDICE 1

Planilhas dos testes de avaliação da sensibilidade para *D. laevis* 25°C



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE Nº. 2

Início do teste: 18/06/02		Final do teste: 20/06/02	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7.1	8.0	165
Amostra		Responsável	
Origem	Lote	Patricia	
NaCl			

Concentração (g L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas				48 horas				ini	fin	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	Total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle							0	0	0	0	0	0	7.03	-	193	-	7.8	-
A. 1.65							0	0	1	1	2	10	-	-	-	-	-	-
B. 2.7							5	4	5	4	18	90	-	-	-	-	-	-
C. 4.5							5	5	5	5	20	100	-	-	-	-	-	-
D. 7.5							5	5	5	5	20	100	-	-	-	-	-	-
Resultados	EC(I)50:24H: Não Lido																Método estatístico utilizado: Spearman	
	EC(I)50:48H: 2,11 (1,99- 2,24) g.L ⁻¹																	

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE Nº. 03

Início do teste: 21/06/02		Final do teste: 23/06/02	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,02	7,8	168
Amostra		Origem	Lote
Tipo		NaCl	Patricia
Responsável			

Concentração (g L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin			
	1	2	3	4	Total	%	1	2	3	4	total	%							
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,02	7,45	-	-	7,8	7,2
A. 2,8	0	0	0	0	0	0	2	3	2	10	50	2	3	7,02	7,42	-	-	7,5	7,2
B. 3,1	1	1	4	2	8	40	2	2	4	10	50	2	4	7,10	7,29	-	-	7,5	7,2
C. 4,0	4	2	4	2	12	60	4	4	4	15	75	4	4	7,13	7,43	-	-	7,61	7,2
D. 5,5	4	4	2	4	14	70	5	5	5	20	100	5	5	7,14	7,41	-	-	7,60	7,2
E. 7,5	5	5	5	5	20	100	5	5	5	20	100	5	5	7,00	7,37	-	-	7,60	7,2
Resultados	EC(1)50:24H: 4,04 (3,66-4,46) g.L ⁻¹						EC(1)50:48H: 2,95						Método estatístico utilizado: Spearman						

OBSERVAÇÕES:

Não Foi verificado o parâmetro de condutividade

No teste com duração de 48 horas não foi possível calcular os limites máximos e mínimos.

HDR Água Destilada Reconstituída





LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE Nº. 04

Início do teste: 14/05/03		Final do teste: 16/05/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,02	7,6	170
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	
Responsável			Patrícia

Concentração (g .L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas				48 horas				Total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	1	2	3	4										
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	7,02	7,40	-	-	7,6	7,3
A. 1,9	0	0	1	0	1	5	0	2	1	3	15	3	7,3	7,36	-	-	7,6	7,3
B. 2,2	1	2	0	0	3	15	2	2	2	9	45	2	7,3	7,21	-	-	7,6	7,3
C. 2,5	0	0	2	1	3	15	2	2	3	9	45	2	7,3	7,29	-	-	7,6	7,3
D. 2,8	0	0	1	0	1	5	1	3	1	5	25	3	7,3	7,35	-	-	7,6	7,3
E. 3,1	0	1	0	0	1	5	4	3	1	14	70	3						
Resultados	EC(I)50:24H: Não calculável												EC(I)50:48H: 2,76 (2,47-3,07) g.L ⁻¹		Método estatístico utilizado: Spearman			

OBSERVAÇÕES:

Não Foi verificado o parâmetro de condutividade

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 05.

Início do teste: 19/06/03		Final do teste: 21/03/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,08	8,1	154,8
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	
Responsável			Patrícia

Concentração (g/L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,30	170	-	7,0	-
A. 1,00	0	0	2	0	0	0	1	2	1	2	6	30	7,3	7,36	-	-	-	-
B. 1,65	0	0	2	0	2	10	2	3	3	2	10	50	7,3	7,21	-	-	-	-
C. 2,00	0	2	0	0	2	10	2	3	3	2	10	50	7,3	7,29	-	-	-	-
D. 2,70	3	5	5	4	17	85	5	5	5	5	20	100	7,3	7,35	-	-	-	-
Resultados	EC(I)50:24H: 2,35 (2,25 – 2,45) g. L ⁻¹						EC(I)50:48H: 1,84 (1,56 – 2,18) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

Problemas com o padrão do Condutivímetro

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 06

Início do teste: 28/05/03		Final do teste: 30/05/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	6,99	8,0	163,5
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	Patricia
			Responsável

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS ou mS/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	7,0	7,3	163	170	7,46	-
A. 0,5							0	0	0	0	0	0	7,0	7,41	121,1	133	7,46	-
B. 1,00							0	0	0	0	0	0	7,0	7,22	2,5	2,51	7,46	-
C. 2,00							3	0	2	2	7	7	7,0	7,31	2,6	2,68	7,46	-
D. 4,00							5	5	5	5	20	100	7,0	7,4	7,32	7,65	7,46	-
E. 8,00							5	5	5	5	20	100	7,0	7,3	141,3	145,2	7,46	-
Resultados	EC(I)50;24H: Não Lido						EC(I)50;48H: 2,22 (1,91 - 2,59) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº 07

Início do teste: 19/08/03		Final do teste: 21/08/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,2	-	170
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	
Responsável			Patrícia e Renato

Concentração (g.L ⁻¹)	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							1	2	3	4	1		7,0	7,2	170	165	-	-
A. 1,00							0	0	0	0	0	0	7,35	7,8	2,28	2,7	-	-
B. 1,40							0	0	2	0	2	10	7,41	7,9	2,82	2,5	-	-
C. 2,00							0	1	2	1	4	20	7,38	7,9	3,61	3,5	-	-
D. 2,60							1	1	2	3	7	35	7,39	7,7	4,41	4,56	-	-
E. 3,50							4	4	5	3	16	80	7,37	7,8	6,20	6,00	-	-
Resultados	EC(I)50:24H: Não Lido						EC(I)50:48H: 2,81 (2,51 – 3,16) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

Equipamento para medida de oxigênio com defeito.

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 08.

Início do teste: 02/03/04		Final do teste: 04/03/04			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Amostra
HDR	7,01	70	200	NaCl	Substância
					Lote
					Responsável
					Patrícia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin				
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%								
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	7,10	7,13	2,06	7,0	7,0	
A 1,0	0	1	0	0	1	5	0	1	1	1	1	1	3	15	7,11	7,15	2,1	2,0	7,0	
B 1,37	1	0	0	0	2	10	1	1	1	1	2	5	25	25	7,13	7,08	2,6	2,8	7,0	
C 1,87	0	0	0	1	1	5	0	0	3	2	5	25	25	7,12	7,2	3,53	3,6	7,0	7,0	
D 2,55	1	1	2	2	6	30	4	4	5	2	15	75	75	7,10	7,0	4,66	4,7	7,0	7,0	
E 3,5	5	3	4	4	16	80	5	5	5	5	20	100	100	7,13	7,2	6,22	6,3	7,0	7,0	
Resultados	EC(I)50:24H: 2,88 (2,52 - 3,28) g.L ⁻¹						EC(I)50:48H: 2,06 (1,78 - 2,38) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman							

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 09.

Início do teste: 04/05/04		Final do teste: 06/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,00	7,69	140,6
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Substância	Patricia/Vanessa
			Responsável

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	15	7,00	7,23	142,9	200	7,69	7,14
A 1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	10	7,30	7,31	1614	3160	7,69	7,14
B 1,37	1	0	0	0	1	5	4	4	2	5	15	75	7,40	7,37	2340	4680	7,69	7,14
C 1,87	2	1	1	1	5	25	5	5	4	5	19	95	7,43	7,35	2880	5690	7,69	7,14
D 2,55	3	1	2	1	7	35	5	5	5	5	20	100	7,31	7,33	4080	7480	7,69	7,14
E 3,5	5	4	5	3	17	85	5	5	5	5	20	100	7,29	7,19	5750	5420	7,69	7,14
Resultados	EC(I)50:24H: 2,64 (2,33 – 3,00) g.L ⁻¹						EC(I)50:48H: 1,23 (1,14-1,33) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 10.

Início do teste: 11/05/04		Final do teste: 13/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,07	8,07	180,7
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Substância	
			Responsável
			Patrícia/Natália

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin			
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%							
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	10	7,07	7,05	180	191,6	8,07	7,00
A 1,0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2	2	5	25	7,11	7,07	1637	1512	8,84	7,00
B 1,37	0	0	0	1	1	5	2	3	2	2	2	9	45	7,18	7,15	2200	2070	8,92	7,00
C 1,87	0	1	1	0	2	10	2	3	3	2	2	10	50	7,20	7,10	2900	2600	8,95	6,89
D 2,55	1	1	1	2	5	25	3	3	2	4	4	12	60	7,21	7,15	3930	3630	8,96	6,89
E 3,5	2	1	1	3	7	35	5	4	4	3	3	16	80	7,27	7,15	5160	4630	8,98	6,89
Resultados	EC(I)50;24H: Não Calculável						EC(I)50;48H: 1,79 (1,40-2,29) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman						

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 11.

Início do teste: 12/05/04		Final do teste: 14/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,04	9,51	191,3
Amostra		Origem	Lote
Tipo		Substância	-
Responsável			Patrícia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,04	7,21	191,3	157,7	9,51	-
A 1,0	0	0	0	1	1	5	0	0	0	2	2	10	7,11	6,89	1637	1570	8,92	6,97
B 1,37	2	1	0	0	4	20	2	1	0	1	4	20	7,18	7,05	2200	2050	8,95	6,97
C 1,87	0	3	4	0	7	35	0	3	4	0	7	35	7,20	7,10	2900	2910	8,95	6,97
D 2,55	3	5	3	5	16	80	5	5	5	5	20	100	7,30	7,19	3970	3860	8,96	6,97
E 3,5	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,48	7,29	5410	5280	8,98	6,97
Resultados	EC(1)50:24H: 1,96 (1,74-2,19) g.L ⁻¹						EC(1)50:48H: 1,87 (1,68-2,09) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 12.

Início do teste: 17/05/04		Final do teste: 19/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,04	9,51	191,3
Amostra		Origem	Lote
Tipo		Substância	Responsável
		NaCl	Patrícia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,36	191	161,9	9,51	8,01
A 1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5	7,19	7,26	1579	700,1	8,24	7,07
B 1,37	1	0	0	0	1	5	1	0	0	1	2	10	7,22	7,46	2120	2230	8,22	7,60
C 1,87	2	2	1	1	6	30	3	4	2	1	10	50	7,22	7,49	2830	2970	8,20	7,66
D 2,55	3	1	2	2	8	40	2	2	3	3	10	50	7,11	7,50	3780	3990	8,18	7,68
E 3,5	3	4	2	4	13	75	5	5	5	5	20	100	7,30	7,50	5000	5270	8,16	7,67
Resultados	EC(I)50;24H: 2,87 (2,17-3,81) g.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 2,13 (1,89-2,40) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia laevis* 25°C

TESTE Nº. 13.

Início do teste: 26/05/04		Final do teste: 28/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,05	8,03	213
Amostra		Origem	Lote
Tipo		Substância	-
Substância		NaCl	Patricia/Vanessa/Natalia
Responsável			

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,04	213	221	8,03	8,07
A 1,0	1	0	0	0	1	5	1	1	0	0	2	10	7,35	7,6	1830	1831	8,08	8,07
B 1,37	1	0	0	1	2	10	1	0	2	1	4	20	7,35	7,50	2500	2490	8,07	8,07
C 1,87	0	1	1	0	2	10	1	2	2	0	4	20	7,36	7,55	3420	3390	8,08	8,07
D 2,55	2	1	2	1	6	30	2	1	2	1	6	30	7,38	7,61	4560	4540	8,06	8,07
E 3,5	2	4	5	4	15	75	5	4	5	4	18	90	7,39	7,63	6110	6060	8,06	8,07
Resultados	EC(I)50:24H: 2,93 (2,46-3,49) g.L ⁻¹						EC(I)50:48H: 2,56 (2,24-2,92) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE Nº.14

Início do teste: 22/06/04		Final do teste: 24/06/04			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Responsável
HDR	7,03	7,75	162,1	NaCl	Patricia/Vanessa
			Amostra	Lote	
			Substância	-	

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,03	7,24	162,1	188,2	7,75	7,51
A 1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	10	7,31	7,38	188,4	254,0	7,78	7,46
B 1,37	2	0	0	1	3	15	4	1	1	2	8	40	7,36	7,47	254,0	340,0	7,78	7,55
C 1,87	2	0	0	1	3	15	2	1	1	2	6	30	7,37	7,50	341,0	460,0	7,77	7,48
D 2,55	1	2	2	0	5	25	1	3	2	1	7	35	7,39	7,56	459,0	460,0	7,78	7,51
E 3,5	4	3	3	0	11	55	5	4	3	2	14	70	7,45	7,59	602,0	603,0	7,78	7,54
Resultados	EC(1)50;24H: 3,32 (2,72-4,05) g.L ⁻¹						EC(1)50;48H: 2,70 (2,05-3,55) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída

APÊNDICE 2

Acompanhamento do crescimento individual em experimento com *D. laevis* 25°C

Apêndice 2

Acompanhamento diário do crescimento individual (mm) de *D. laevis* 25°C.

Dias	Tam. médio	Réplica 1	Réplica 2	Replica 3
0.	0,64	0,67	0,67	0,6
1.	0,79	0,76	0,79	0,81
2	0,94	0,9	0,86	1,05
3	1,2	1,17	1,24	1,19
4	1,58	1,79	1,38	1,57
5	1,73	1,93	1,55	1,71
6	1,98	2,02	2,05	1,86
7	2,13	*2,21	*2,05	2,12
8	2,23	2,38	2,05	*2,26
9	2,31	2,38	2,23	2,31
10	2,33	2,38	2,23	2,38
11	2,36	2,38	2,31	2,38
12	2,42	2,5	2,38	2,38
13	2,41	2,46	2,38	2,38
14	2,41	2,46	2,38	2,38
15	2,41	2,46	2,38	2,38
16	2,38	2,38	2,38	2,38
17	2,5	2,5	2,58	2,42
18	2,5	2,5	2,58	2,42
19	2,5	2,5	2,58	2,42
20	2,51	2,4	2,74	2,38
21	2,46	2,31	2,62	2,45
22	2,62	2,58	2,58	2,69
23	2,3	2,38	2,14	2,38
24	2,6	2,48	2,79	2,52
25	2,48	2,52	2,52	2,38
26	2,48	2,52	2,52	2,38
27	2,54	2,52	2,43	2,64
28	2,52	2,52	2,43	2,62
29	2,62	2,52	2,43	2,62
30	2,62	2,52	2,43	2,62
31	2,5	2,52	2,43	2,5
32	2,62	2,52	2,43	2,62
33	2,62	2,52	2,43	2,62
34	2,5	2,52	2,43	2,5
35	2,62	2,52	2,43	2,62
36	2,62	2,52	2,43	2,62
3,7	2,57	2,52	2,43	2,57
38	2,62	2,52	2,43	2,62
39	2,62	2,52	2,43	2,62
40	2,57	2,52	2,43	2,57
41	2,5	2,52	2,43	2,5
42	2,5	2,52	2,43	2,5
43	2,5	2,52	2,43	2,5

* = Primípara

Média primípara : 2,17 mm
Desvio padrão: 0,11
Coeficiente de Variação: 5%

Comprimento inicial 0,64 mm
Desvio padrão: 0,04
Coeficiente de Variação: 6%

APÊNDICE 3

Fecundidade de *D. laevis*

APÊNDICE 3

Fecundidade diária de *D. laevis* 25°C(+1).

Dia	Replicas										Sobrevivência	Fecundidade		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		Média/dia/fêmea	Total/dia	acumulada
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	60
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	73
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
6	1*	9*	0	0	0	8*	8*	7*	0	9*	10	4	42	42
7	8	18	6*	7*	8*	16	0	8	8*	18	10	10	95	137
8	19	19	0	0	7	0	14	1	0	19	10	6	60	197
9	+	0	2	9	0	14	15	10	11	0	9	8	73	270
10	+	19	0	18	12	13	0	1	14	19	8	10	78	348
11	+	0	0	10	6	12	13	20	13	0	8	12	92	440
12	+	13	0	12	0	0	0	16	10	13	8	8	64	504
13	+	0	0	7	6	0	12	0	27	0	8	7	52	556
14	+	8	0	8	0	21	22	19	0	8	8	12	0	653
15	+	0	+	0	8	5	0	10	20	0	7	6	43	696
16	+	6	+	11	0	20	0	6	23	6	7	11	80	776
17	+	0	+	26	4	24	0	25	0	+	6	17	104	880
18	+	0	+	0	0	0	0	0	12	+	6	2	12	892
19	+	0	+	17	2	15	0	6	0	+	6	7	44	936
20	+	+	+	1	11	1	+	0	12	+	5	5	25	961
21	+	+	+	18	0	12	+	0	27	+	5	15	75	1036
22	+	+	+	25	16	11	+	0	1	+	5	13	65	1101
23	+	+	+	0	0	0	+	0	25	+	5	5	25	1126
24	+	+	+	11	6	9	+	0	0	+	5	8	38	1164
25	+	+	+	2	0	0	+	0	13	+	5	3	15	1179
26	+	+	+	+	6	0	+	+	0	+	3	5	15	1194
27	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	3	0	0	1194
28	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	3	0	0	1194
29	+	+	+	+	11	2	+	+	0	+	3	11	34	1228
30	+	+	+	+	3	0	+	+	+	+	2	9	18	1246
31	+	+	+	+	19	+	+	+	+	+	1	19	19	1265
32	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	1	0	0	1265
33	+	+	+	+	6	+	+	+	+	+	1	6	6	1271
34	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	1	0	0	1271
35	+	+	+	+	4	+	+	+	+	+	1	4	4	1275
36	+	+	+	+	6	+	+	+	+	+	1	6	6	1281
37	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	1	0	0	1281
38	+	+	+	+	9	+	+	+	+	+	1	9	9	1290
39	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	1	0	0	1290
40	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	1	0	0	1290
41	+	+	+	+	7	+	+	+	+	+	1	7	7	1297
43	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	1297

+ representa morte do organismo

* Representa primípara

APÊNDICE 4

- Acompanhamento do crescimento de *D. laevis* em ensaios de toxicidade crônica com cloreto de sódio. Teste 1 e 2.
- Planilhas dos testes de avaliação da toxicidade crônica para *D. laevis*. Teste 1 e 2.

Apêndice 4

TABELA 1- Crescimento de *D. laevis* em teste crônico com cloreto de sódio. Teste 1

Crescimento CONTROLE					Tamanho real (mm)	Crescimento (mm) Controles					
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	CV
1	3,6	3	3	0,76	0,86	0,86	0,71	0,71	0,76	0,08248	10,83%
2	4,4	5,2	4,2	1,10	1,05	1,05	1,24	1,00	1,10	0,12599	11,50%
3	6,7	6,5	6,5	1,56	1,60	1,60	1,55	1,55	1,56	0,02749	1,76%
4	6,7	6,5	6,5	1,56	1,60	1,60	1,55	1,55	1,56	0,02749	1,76%
5	8	8,1	8	1,91	1,90	1,90	1,93	1,90	1,91	0,01375	0,72%
6	8,6	8,7*	8,4*	2,04	2,05	2,05	2,07	2,00	2,04*	0,03637	1,78%
7	8,8	8,7	8,6	2,07	2,10	2,10	2,07	2,05	2,07	0,02381	1,15%
8	8,8	8,7	8,6	2,07	2,10	2,10	2,07	2,05	2,07	0,02381	1,15%
9	9,5	9,4	9,3	2,24	2,26	2,26	2,24	2,21	2,24	0,02381	1,06%
10	9,5	9,4	9,3	2,24	2,26	2,26	2,24	2,21	2,24	0,02381	1,06%

Crescimento A					Tamanho real (mm)	Crescimento (mm) Concentração A 0,7 g/L					
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	CV
1	3,1	3	3	3,03	0,72	0,74	0,71	0,71	0,72	0,01375	1,90%
2	4,6	5,2	5	4,93	1,17	1,10	1,24	1,19	1,17	0,07274	6,19%
3	6,4	6,5	5,2	6,03	1,44	1,52	1,55	1,24	1,44	0,17224	11,99%
4	6,4	6,5	6,3	6,40	1,52	1,52	1,55	1,50	1,52	0,02381	1,56%
5	7,4	7,5	7,6	7,50	1,79	1,76	1,79	1,81	1,79	0,02381	1,33%
6	8	8	7,6	7,87	1,87	1,90	1,90	1,81	1,87*	0,05499	2,94%
7	8	8	7,7	7,90	1,88	1,90	1,90	1,83	1,88	0,04124	2,19%
8	8	8	8,6	8,20	1,95	1,90	1,90	2,05	1,95	0,08248	4,22%
9	8,5	8,7	8,6	8,60	2,05	2,02	2,07	2,05	2,05	0,02381	1,16%
10	9	8,7	9	8,90	2,12	2,14	2,07	2,14	2,12	0,04124	1,95%

Crescimento B					Tamanho real (mm)	Crescimento (mm) Concentração B 1,0 g/L					
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	CV
1	3	3,1	3	3,03	0,72	0,71	0,74	0,71	0,72	0,01375	1,90%
2	3,6	3,5	3,5	3,53	0,84	0,86	0,83	0,83	0,84	0,01375	1,63%
3	4,6	4,1	4,3	4,33	1,03	1,10	0,98	1,02	1,03	0,05992	5,81%
4	6,6	6,5	6,5	6,53	1,56	1,57	1,55	1,55	1,56	0,01375	0,88%
5	6,6	6,5	6,5	6,53	1,56	1,57	1,55	1,55	1,56	0,01375	0,88%
6	8	7,8	7,9	7,90	1,88	1,90	1,86	1,88	1,88	0,02381	1,27%
7	8	7,8	7,9	7,90	1,88	1,90	1,86	1,88	1,88	0,02381	1,27%
8	8,5	8	8,2	8,23	1,96	2,02	1,90	1,95	1,96*	0,05992	3,06%
9	8,5	8	8,2	8,23	1,96	2,02	1,90	1,95	1,96	0,05992	3,06%
10	8,5	8,2	8,3	8,33	1,98	2,02	1,95	1,98	1,98	0,03637	1,83%

Crescimento C					Tamanho real (mm)	Crescimento (mm) Concentração C 1,4 g/L					
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	CV
1	3,1	3	3	3,03	0,72	0,74	0,71	0,71	0,72	0,01375	1,90%
2	5,2	5,2	5,3	5,23	1,25	1,24	1,24	1,26	1,25	0,01375	1,10%
3	6,9	6	6,2	6,37	1,52	1,64	1,43	1,48	1,52	0,11252	7,42%
4	6,9	6,1	6,2	6,40	1,52	1,64	1,45	1,48	1,52	0,10378	6,81%
5	7,8	7,6	7,6	7,67	1,83	1,86	1,81	1,81	1,83*	0,02749	1,51%
6	7,8	8	7,9	7,90	1,88	1,86	1,90	1,88	1,88	0,02381	1,27%
7	8,1	8	8,1	8,07	1,92	1,93	1,90	1,93	1,92	0,01375	0,72%
8	8,1	8	8,1	8,07	1,92	1,93	1,90	1,93	1,92	0,01375	0,72%
9	8,1	8,9	8,1	8,37	1,99	1,93	2,12	1,93	1,99	0,10997	5,52%
10	8,5	8,9	8,8	8,73	2,08	2,02	2,12	2,10	2,08	0,04956	2,38%

Crescimento D		Tamanho real (mm)				Crescimento (mm)				Concentração D 1,9 g/L	
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV	
1	3,2	3,1	3,1	3,13	0,75	0,76	0,74	0,74	0,75	0,01375	1,84%
2	3,2	3,1	3,1	3,13	0,75	0,76	0,74	0,74	0,75	0,01375	1,84%
3	4,2	4,6	3,1	3,97	0,94	1,00	1,10	0,74	0,94	0,18494	19,58%
4	5,2	5,3	5,1	5,20	1,24	1,24	1,26	1,21	1,24	0,02381	1,92%
5	6	6	7	6,33	1,51	1,43	1,43	1,67	1,51	0,13746	9,12%
6	7	6,9	7	6,97	1,66	1,67	1,64	1,67	1,66	0,01375	0,83%
7	7,1	6,9	7	7,00	1,67	1,69	1,64	1,67	1,67*	0,02381	1,43%
8	7,1	7	7	7,03	1,67	1,69	1,67	1,67	1,67	0,01375	0,82%
9	7,1	8,1	8	7,73	1,84	1,69	1,93	1,90	1,84	0,13113	7,12%
10	8	8,2	8	8,07	1,92	1,90	1,95	1,90	1,92	0,02749	1,43%

TABELA 2 - Crescimento de *D. laevis* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 2

Crescimento CONTROLE		Tamanho real (mm)				Crescimento(mm) Controle				DP	CV
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV	
1	3	3	3,1	3,03	0,72	0,71	0,71	0,74	0,72	0,01375	1,90%
2	4,2	4,2	4,4	4,27	1,02	1,00	1,00	1,05	1,02	0,02749	2,71%
3	6,5	6,6	6,8	6,63	1,58	1,55	1,57	1,62	1,58	0,03637	2,30%
4	6,5	6,6	8,1	7,07	1,68	1,55	1,57	1,93	1,68	0,2134	12,68%
5	8,2	8,1	8,8	8,37	1,99	1,95	1,93	2,10	1,99*	0,09014	4,53%
6	8,8	8,8	8,8	8,80	2,10	2,10	2,10	2,10	2,10	0	0,00%
7	8,8	8,8	9,6	9,07	2,16	2,10	2,10	2,29	2,16	0,10997	5,09%
8	9,7	9,6	9,7	9,67	2,30	2,31	2,29	2,31	2,30	0,01375	0,60%
9	9,7	9,7	9,7	9,70	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31	0	0,00%
10	9,7	9,7	9,7	9,70	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31	0	0,00%

Crescimento A		Tamanho real (mm)				Crescimento (mm)				Concentração A 0,7 g/L	
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV	
1	3,2	3	3	3,07	0,73	0,76	0,71	0,71	0,73	0,02749	3,77%
2	4,3	4,2	4,5	4,33	1,03	1,02	1,00	1,07	1,03	0,03637	3,53%
3	6,2	6,5	6,6	6,43	1,53	1,48	1,55	1,57	1,53	0,04956	3,24%
4	6,2	6,5	6,6	6,43	1,53	1,48	1,55	1,57	1,53	0,04956	3,24%
5	7,1	7,4	7,6	7,37	1,75	1,69	1,76	1,81	1,75	0,05992	3,42%
6	8,3	8,2	7,8	8,10	1,93	1,98	1,95	1,86	1,93*	0,06299	3,27%
7	8,3	8,2	7,8	8,10	1,93	1,98	1,95	1,86	1,93	0,06299	3,27%
8	8,2	8,2	7,8	8,07	1,92	1,95	1,95	1,86	1,92	0,05499	2,86%
9	8,8	9,3	9,1	9,07	2,16	2,10	2,21	2,17	2,16	0,05992	2,78%
10	9	9,3	9,1	9,13	2,17	2,14	2,21	2,17	2,17	0,03637	1,67%

Crescimento B		Tamanho real (mm)				Crescimento (mm)				Concentração B 1,0 g/L	
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV	
1	3	3,1	3,1	3,07	0,73	0,71	0,74	0,74	0,73	0,01375	1,88%
2	3,5	3,6	3,6	3,57	0,85	0,83	0,86	0,86	0,85	0,01375	1,62%
3	4,5	4,6	4,3	4,47	1,06	1,07	1,10	1,02	1,06	0,03637	3,42%
4	6,6	6,8	6,8	6,73	1,60	1,57	1,62	1,62	1,60	0,02749	1,71%
5	6,6	6,7	6,8	6,70	1,60	1,57	1,60	1,62	1,60	0,02381	1,49%
6	7,8	7,9	7,9	7,87	1,87	1,86	1,88	1,88	1,87	0,01375	0,73%
7	8,2	8	8,3	8,17	1,94	1,95	1,90	1,98	1,94*	0,03637	1,87%
8	8,5	8,2	8,9	8,53	2,03	2,02	1,95	2,12	2,03	0,08362	4,12%
9	8,8	9,3	9,1	9,07	2,16	2,10	2,21	2,17	2,16	0,05992	2,78%
10	9	9,3	9,1	9,13	2,17	2,14	2,21	2,17	2,17	0,03637	1,67%

Crescimento C 1,4 g/L		Tamanho real (mm)				Crescimento (mm)				Concentração C 1,4 g/L		
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV		
1	3	3	3	3,00	0,71	0,71	0,71	0,71	0	0,00%		
2	4,7	5	5,3	5,00	1,19	1,12	1,19	1,26	1,19	0,07143	6,00%	
3	5,8	5,9	5,9	5,87	1,40	1,38	1,40	1,40	1,40	0,01375	0,98%	
4	6,9	6,7	6,8	6,80	1,62	1,64	1,60	1,62	1,62	0,02381	1,47%	
5	7,9	7,6	7,9	7,80	1,86	1,88	1,81	1,88	1,86	0,04124	2,22%	
6	7,9	7,6	7,9	7,80	1,86	1,88	1,81	1,88	1,86	0,04124	2,22%	
7	8,1	8	8	8,03	1,91	1,93	1,90	1,90	1,91*	0,01375	0,72%	
8	8,1	8,8	8	8,30	1,98	1,93	2,10	1,90	1,98	0,10378	5,25%	
9	8,7	8,8	8	8,50	2,02	2,07	2,10	1,90	2,02	0,10378	5,13%	
10	8,7	8,8	8,6	8,70	2,07	2,07	2,10	2,05	2,07	0,02381	1,15%	

Crescimento D		Tamanho real (mm)				Crescimento (mm)				Concentração D 1,9 g/L		
DIA	1	2	3	MD	1	2	3	MD	DP	CV		
1	3,1	3,1	3	3,07	0,73	0,74	0,74	0,71	0,73	0,01375	1,88%	
2	3,1	3,1	3	3,07	0,73	0,74	0,74	0,71	0,73	0,01375	1,88%	
3	4	4,5	4	4,17	0,99	0,95	1,07	0,95	0,99	0,06873	6,93%	
4	5,1	5,7	5,1	5,30	1,26	1,21	1,36	1,21	1,26	0,08248	6,54%	
5	6	6,3	6,2	6,17	1,47	1,43	1,50	1,48	1,47	0,03637	2,48%	
6	6	6,3	6,2	6,17	1,47	1,43	1,50	1,48	1,47	0,03637	2,48%	
7	6	6,3	6,2	6,17	1,47	1,43	1,50	1,48	1,47*	0,03637	2,48%	
8	7,8	7,6	7,8	7,73	1,84	1,86	1,81	1,86	1,84	0,02749	1,49%	
9	7,8	7,6	7,8	7,73	1,84	1,86	1,81	1,86	1,84	0,02749	1,49%	
10	8	7,8	8	7,93	1,89	1,90	1,86	1,90	1,89	0,02749	1,46%	

* Primípara



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Daphnia laevis*

Teste n.º 01

Início do Teste: 27/03/04		Final do Teste: 05/04/2004			
Água de cultivo e/ou diluição					
Lote	pH	OD mg.L ⁻¹	Condutividade µS ₂₅ /cm	Origem	Responsável
HDR	7,02	7,08	168	Substância NaCl	Patrícia
			Lote	Amostra	
			1		

Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Comprimento			
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3	
27/03	7,02	7,70	7,80	7,64	168,0	278,0	3,6	3,0	3,0	
28/03							4,4	5,2	4,2	
29/03	7,05	7,23	8,0	7,21	294,0	171,6	6,7	6,5	6,5	
30/03							6,7	6,5	6,5	
31/03	7,02	7,80	7,70	8,0	170,0	195,0	.	.	2	5	7	5	.	6	.	.	8,0	8,1	8,0	
01/04							5	6	6	.	.	.	8,6	8,7	8,4	
02/04	7,00	8,0	7,71	7,65	176,0	179,0	7	8	7	6	7	8	6	7	8	.	8,8	8,7	8,6	
03/04							8,8	8,7	8,6
04/04	7,00	7,57	8,10	7,32	152,0	177,5	9	6	11	5	6	9	6	8	9	6	9,5	9,4	9,3	
05/04							.	.	14	8	.	9	.	3	12	.	9,5	9,4	9,3	
Total							21	20	34	24	20	31	18	24	29	18	Objetiva 40 X			

Concentração: A 0,7 g/L														Substância: NaCl													
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade						Comprimento										
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3								
27/03	7,50	7,90	7,47	7,65	1400	2550	3,1	3,0	3,0								
28/03							4,6	5,2	5,0								
29/03	7,34	7,18	7,86	7,33	2550	1478	6,4	6,5	5,2								
30/03							6,4	6,5	6,3								
31/03	7,25	7,92	7,64	8,61	1417	1975	.	.	2	7,4	7,5	7,6								
01/04							5	3	.	.	.	8,0	8,0	7,6								
02/04	7,27	8,00	7,75	7,22	1600	1900	8	.	9	8	7	3	6	4	.	8,0	8,0	7,7									
03/04							.	9	8,0	8,0	8,6									
04/04	7,03	7,46	8,03	8,00	2100	1440	9	10	10	8	7	7	9	8	7	8,5	8,7	8,6									
05/04							13	.	11	12	13	.	.	11	.	9,0	8,7	9,0									
Total							35	19	32	28	34	24	10	15	23	14	Objetiva 40 X										

Concentração: B 1,0 g/L														Substância: NaCl													
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade						Comprimento										
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3								
31/03	7,51	7,79	7,47	7,87	2200	3670	3,0	3,1	3,0								
01/04							3,6	3,5	3,5								
02/04	7,31	7,26	7,89	7,21	3500	2210	4,6	4,1	4,3								
03/04							6,6	6,5	6,5								
04/04	7,21	7,86	7,72	8,30	1951	2100	.	.	2	6,6	6,5	6,5								
05/04							.	.	.	3	8,0	7,8	7,9								
06/04	7,26	8,31	7,98	7,37	2470	2700	8,0	7,8	7,9								
07/04							14	9	7	7	10	16	8	7	6	8,5	8,0	8,2									
08/04	7,22	7,54	8,03	8,10	3200	2000	6	.	8	3	9	8,5	8,0	8,2									
09/04							8	7	6	4	8,5	8,2	8,3									
Total							22	16	15	14	15	16	16	10	15	14	Objetiva 40 X										

Concentração: C 1,4 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade						Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
27/03	7,68	7,90	7,47	7,52	2630	4630	3,1	3,0	3,0				
28/03							5,2	5,2	5,3				
29/03	7,30	7,23	7,95	7,53	4700	2720	6,9	6,0	6,2				
30/03							6,9	6,1	6,2				
31/03	7,19	7,88	7,73	7,98	2690	2700	5	6	5	7,8	7,6	7,6				
01/04							7,8	8,0	7,9				
02/04	7,200	7,900	7,74	7,53	3660	3680	8	7	5	6	12	7	5	5	1	.	8,1	8,0	8,1				
03/04							8,1	8,0	8,1				
04/04	7,61	7,49	8,01	7,79	4,0		9	8	9	7	6	8	11	9	6	7	8,7	8,9	8,1				
05/04							13	16	11	6	.	.	8	9	.	7	8,5	8,9	8,8				
Total							35	37	30	19	18	21	28	28	21	19	Objetiva 40 X						

Concentração: D 1,9 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin											Replica 1	Replica 2	Replica 3				
27/03	7,53	8,02	7,47	8,06	3610	6340	3,2	3,1	3,1				
28/03							3,2	3,1	3,0				
29/03	7,30	7,46	7,91	7,47	6200	3580	+	.	+	+	.	.	4,2	4,6	3,0				
30/03							+	.	+	+	.	.	5,2	5,3	5,1				
31/03	7,18	8,09	7,69	7,97	3500	3200	+	.	+	+	.	.	6,0	6,0	7,0				
01/04							+	.	+	+	.	.	7,0	6,9	7,0				
02/04	7,20	8,75	7,85	7,60	3900	2970	+	3	+	4	4	+	+	+	.	.	7,1	6,9	7,0				
03/04							+	.	+	+	.	7	7,1	7,0	7,0				
04/04	7,64	7,44	8,00	8,60	5,31	3,61	+	.	+	8	6	+	8	+	3	7	7,1	8,1	8,0				
05/04							+	4	+	.	10	+	4	+	5	.	8,0	8,2	8,0				
Total							0	07	0	12	20	0	16	0	16	14	Objetiva 40 X						

Concentração: E 2,6 g/L										Substância: NaCl									
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Comprimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
27/03	7,66	8,05	7,47	7,95	3970	8600	3,1	3,0	3,0
28/03							3,1	3,7	3,2
29/03							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
30/03																			
31/03																			
01/04																			
02/04																			
03/04																			
04/04																			
05/04																			
Total							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Objetiva 40 X		



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Daphnia laevis*

Teste n.º 02

Início do Teste:		Final do Teste:									
Água de cultivo e/ou diluição		Amostra									
Lote	pH	OD mg.L ⁻¹	Conductividade µS ₂₅ /cm	Origem	Tipo	Lote	Responsável				
HDR	7,00	7,82	175	Substância	NaCl	1	Patrícia				

Concentração: CONTROLE																			
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Comprimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
12/04	7,00	7,40	7,82	7,61	175,0	201,0	3,0	3,0	3,1
13/04							4,2	4,2	4,4
14/04	7,02	7,20	7,80	8,00	1900	935	6,5	6,6	6,8
15/04							6,5	6,6	6,8
16/04	7,0	7,20	7,60	8,0	172,0	185,0	.	.	.	7	.	.	7	.	5	.	8,2	8,1	8,1
17/04							7	6	10	6	7	.	8,8	8,8	8,6
18/04	7,03	7,23	8,20	7,21	179,0	171,6	.	.	.	14	.	.	13	6	.	11	8,8	8,8	8,6
19/04							6	9	11	6	12	9,7	9,6	8,6
20/04	7,00	7,20	8,00	7,97	177,0	201,0	9	.	.	12	.	8	9	12	8	.	9,7	9,7	9,5
21/04							8	7	10	8	11	9	9,7	9,7	9,5
Total							30	22	31	41	20	28	29	24	26	32	Objetiva 40 X		

Concentração: A 0,7 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade					10	Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9		Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,1	7,7	7,4	7,67	1400	2510	3,2	3,0	3,0				
13/04							4,3	4,2	4,5				
14/04	7,2	7,18	7,4	7,86	2560	1670	6,2	6,5	6,6				
15/04							6,2	6,5	6,6				
16/04	7,24	7,10	8,30	7,32	2170	1310	7,1	7,4	7,6				
17/04							.	8	11	10	10	8,3	8,2	7,8				
18/04	7,14	7,95	7,92	8,01	6,98	9,53	6	.	.	6	6	8,3	8,2	7,8				
19/04							5	7	8	6	6	8,2	8,2	7,8				
20/04	7,30	7,40	7,78	7,95	1170	2310	9	.	8	8,8	9,3	9,1				
21/04							.	9	.	8	9,0	9,3	9,1				
Total							20	24	27	30	22	25	27	19	24	24	Objetiva 40 X						

Concentração: B 1,0 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin											Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,30	7,81	7,41	7,81	2200	3590	3,0	3,1	3,1				
13/04							3,5	3,6	3,6				
14/04	7,31	7,23	7,40	7,89	3500	2630	4,5	4,6	4,3				
15/04							6,6	6,8	6,8				
16/04	7,24	7,10	8,30	7,32	2170	1310	6,6	6,7	6,8				
17/04							.	3	7,8	7,9	7,9				
18/04	7,40	8,30	7,95	8,33	1200	2160	5	8,2	8,0	8,3				
19/04							12	8	8	9	6	11	13	9	10	.	8,5	8,2	8,9				
20/04	7,31	7,40	7,69	7,77	2210	3610	.	.	8	8,5	8,2	8,9				
21/04							12	6	6	11	5	.	6	7	15	8	8,5	8,2	8,9				
Total							24	17	22	18	16	11	21	16	22	22	Objetiva 40 X						

Concentração: C 1,4 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,51	8,0	7,47	7,82	2600	4630	3,0	3,0	3,0				
13/04							4,7	5,0	5,3				
14/04	7,30	7,21	7,40	7,53	3900	3970	5,8	5,9	5,9				
15/04							6,9	6,7	6,8				
16/04	7,22	7,60	8,05	7,76	4200	3630	7,9	7,6	7,9				
17/04							7,9	7,6	7,9				
18/04	7,13	8,21	7,59	8,39	2100	2700	8	.	10	6	11	5	8	10	7	8,1	8,0	8,0					
19/04							.	10	.	.	.	5	.	.	8	8,1	8,8	8,0					
20/04	7,21	7,41	7,91	7,99	2970	3550	2	.	8	.	.	.	7	7	6	8,7	8,8	8,0					
21/04							.	8	+	2	5	6	5	3	4	8,7	8,8	8,6					
Total							10	18	18	08	16	16	20	20	18	15	Objetiva 40 X						

Concentração: D 1,9 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Comprimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,53	8,10	7,44	7,99	3700	5210	3,1	3,1	3,0				
13/04							3,1	3,1	3,0				
14/04	7,27	7,40	7,43	7,91	5700	4580	4,0	4,5	4,0				
15/04							5,1	5,7	5,1				
16/04	7,18	8,0	8,2	7,91	5310	4630	+	6,0	6,3	6,2				
17/04							+	.	.	.	4	.	.	.	5	6,0	6,3	6,2					
18/04	7,17	7,95	7,56	8,51	3130	4630	+	5	+	5	6,0	6,3	6,2					
19/04							+	.	+	11	6	+	5	+	6	7,8	7,6	7,8					
20/04	7,17	7,48	7,99	7,49	3270	3920	+	.	+	+	7	7,8	7,6	7,8					
21/04							+	3	+	8	8	+	10	+	+	8,0	7,8	8,0					
Total							0	08	0	19	18	0	15	0	11	12	Objetiva 40 X						

Concentração: E 2,6 g/L										Substância: NaCl												
Data	pH			OD			Cond			Fecundidade										Comprimento		
	Ini	Fin		Ini	Fin		Ini	Fin		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
12/04	7,66	8,05		7,47	7,95		3970	8600		3,0	3,0	3,0
13/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+	3,0	3,1	3,0	
14/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
15/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
16/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
17/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
18/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
19/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
20/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
21/04										+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Total										0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
										Objetiva 40 X												

APÊNDICE 5

- Acompanhamento da fecundidade na avaliação de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *D. laevis* 25°C. Teste 1 e 2.
- Média das três posturas nos ensaios de toxicidade crônica com *D. laevis* 25°C. Teste 1 e 2.

TABELA 03 – Média das três posturas nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Daphnia laevis*.

Réplicas	Teste 1					Teste 2				
	Concentrações					Concentrações				
	Controle	A	B	C	D	Controle	A	B	C	D
1	21	26	22	19	0	22	20	24	10	0
2	20	19	16	21	7	22	24	17	18	08
3	20	21	15	19	0	31	27	22	18	0
4	16	28	14	19	12	33	22	18	08	19
5	20	21	15	18	20	20	22	16	16	18
6	22	16	16	21	0	28	19	11	16	0
7	18	10	16	20	16	29	17	21	20	15
8	21	15	16	19	0	29	22	16	20	0
9	29	23	10	15	16	24	19	25	18	11
10	18	14	15	12	14	32	13	22	15	12
Média	20,5	19,3	15,5	18,3	8,5	27	20,5	19,2	15,9	8,3

*Cont = Controle * Concentrações: A = 0,7 g.L-1 B = 1,0 g.L-1 C = 1,4 g.L-1 D = 1,9 g.L-1

Teste 1:

*Controle: 100 % dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração A: 70% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração B: 80% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração C: 100% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração D: 0% dos indivíduos alcançou três posturas e apenas quatro indivíduos permaneceram vivos até o final do teste.

Teste 2

*Controle: 100 % dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração A: 90% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração B: 50% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração C: 50% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração D: 10% dos indivíduos alcançaram três posturas e apenas quatro indivíduos permaneceram vivos até o final do teste.

APÊNDICE 6

- ♦ **Análise Estatística dos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *D. laevis*.**

File: PAT DL C. 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	3.350	12.100	19.100	12.100	3.350
OBSERVED	2	17	16	11	4

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 3.2576
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's test for normality

D = 2058.700

W = 0.951

Critical W (P = 0.05) (n = 50) = 0.947

Critical W (P = 0.01) (n = 50) = 0.930

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

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 9.16

Closest, conservative, Table H statistic = 11.1 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 5, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 5, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

Bartlett's test for homogeneity of variance
Calculated B1 statistic = 9.91

Table Chi-square value = 13.28 (alpha = 0.01, df = 4)
Table Chi-square value = 9.49 (alpha = 0.05, df = 4)

Data PASS B1 homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

Cochran's test for homogeneity of variance

Calculated G statistic = 0.3402
Table value = 0.49 (alpha = 0.01, df = 5,10)
Table value = 0.42 (alpha = 0.05, df = 5,10)

Data PASS homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

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

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

Levene's test for homogeneity of variance

ANOVA TABLE

SOURCE DF SS MS F

Between 4 196.280 49.070 3.862
Within (Error) 45 571.800 12.707

Total 49 768.080

Critical F value = 2.61 (0.05,4,40)
Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

SRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	18.000	34.000	23.900
2	0,7 gL	10	10.000	35.000	23.400
3	1,0 gL	10	10.000	22.000	15.500
4	1,4 gL	10	18.000	37.000	25.600
5	1,9 gL	10	0.000	20.000	7.500

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

SRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	31.878	5.646	1.785	23.62
2	0,7 gL	77.822	8.822	2.790	37.70
3	1,0 gL	8.500	2.915	0.922	18.81
4	1,4 gL	48.489	6.963	2.202	27.20
5	1,9 gL	62.056	7.878	2.491	105.03

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	2312.680	578.170	12.638
Within (Error)	45	2058.700	45.749	
Total	49	4371.380		

Critical F value = 2.61 (0.05,4,40)
 Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

File: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

H_0 : Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
-------	----------------	------------------	-----------------------------------	--------	-----

1	CONTROLE	23.900	23.900	
2	0,7 gL	23.400	23.400	0.165
3	1,0 gL	15.500	15.500	2.777
4	1,4 gL	25.600	25.600	-0.562
5	1,9 gL	7.500	7.500	5.422

Dunnnett table value = 2.23 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,4)

le: PAT DL C. Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	0,7 gL	10	6.745	28.2	0.500
3	1,0 gL	10	6.745	28.2	8.400
4	1,4 gL	10	6.745	28.2	-1.700
5	1,9 gL	10	6.745	28.2	16.400

APÊNDICE 6a

- **Análise estatística do comprimento das primíparas nos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *D. laevis*.**

Dl comprimento primipara PATDis
 File: D11 NaCl PAT DIS Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	3	1.900	2.070	1.990
2	0,7	3	1.830	1.900	1.877
3	1,0	3	1.570	1.900	1.790
4	1,4	3	1.810	1.860	1.827
5	1,9	3	1.640	1.690	1.667

Dl comprimento primipara PATDis
 File: D11 NaCl PAT DIS Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	0.007	0.085	0.049	4.29
2	0,7	0.002	0.040	0.023	2.15
3	1,0	0.036	0.191	0.110	10.64
4	1,4	0.001	0.029	0.017	1.58
5	1,9	0.001	0.025	0.015	1.51

Dl comprimento primipara PATDis
 File: D11 NaCl PAT DIS Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	0.168	0.042	4.502
Within (Error)	10	0.093	0.009	
Total	14	0.262		

Critical F value = 3.48 (0.05,4,10)
 Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

Dl comprimento primipara PATDis
 File: D11 NaCl PAT DIS Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 H_0 : Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	1.990	1.990		
2	0,7	1.877	1.877	1.436	
3	1,0	1.790	1.790	2.535	*
4	1,4	1.827	1.827	2.070	
5	1,9	1.667	1.667	4.098	*

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

Dl comprimeto primipara PATDis

File: D11 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST

TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	3			
2	0,7	3	0.195	9.8	0.113
3	1,0	3	0.195	9.8	0.200
4	1,4	3	0.195	9.8	0.163
5	1,9	3	0.195	9.8	0.323

D1 2 comprimento primipara PATDis

File: D12 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	Controle	3	1.930	2.100	1.993
2	0,7	3	1.860	1.980	1.930
3	1,0	3	1.860	1.880	1.870
4	1,4	3	1.810	1.880	1.850
5	1,9	3	1.430	1.500	1.470

D1 2 comprimento primipara PATDis

File: D12 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	Controle	0.009	0.093	0.054	4.66
2	0,7	0.004	0.062	0.036	3.24
3	1,0	0.000	0.010	0.006	0.53
4	1,4	0.001	0.036	0.021	1.95
5	1,9	0.001	0.036	0.021	2.45

D1 2 comprimento primipara PATDis

File: D12 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	0.504	0.126	41.359
Within (Error)	10	0.030	0.003	
Total	14	0.534		

Critical F value = 3.48 (0.05,4,10)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

D1 2 comprimento primipara PATDis

File: D12 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

H_0 : Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	1.993	1.993		
2	0,7	1.930	1.930	1.405	
3	1,0	1.870	1.870	2.737	*
4	1,4	1.850	1.850	3.180	*
5	1,9	1.470	1.470	11.612	*

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

D1 2 comprimento primipara PATDis

File: D12 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST

TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	3			
2	0,7	3	0.111	5.6	0.063
3	1,0	3	0.111	5.6	0.123
4	1,4	3	0.111	5.6	0.143
5	1,9	3	0.111	5.6	0.523

APÊNDICE 7

- **Planilhas dos testes de avaliação da toxicidade aguda para *D. laevis*.**



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N° 1

Início do teste: 24/03/04		Final do teste: 26/03/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,00	7,88	153
Amostra		Origem	Lote
Tipo		Permetrina	-
Substância		Patricia	
Responsável		Patricia	

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	5	7.0	7.07	153	171.3	7.88	7.86
A.0,1	0	0	1	1	2	10	0	0	1	1	2	10	7.0	7.19	153	173	7.88	7.86
B.0,2	1	2	0	1	4	20	1	2	1	1	5	25	7.0	7.28	153	172.9	7.88	7.86
C.0,4	1	1	0	2	4	20	2	1	1	4	8	40	7.0	7.24	153	175.9	7.88	7.86
D.0,9	3	0	2	2	7	35	1	4	3	5	13	65	7.0	7.15	153	176.9	7.88	7.86
E.2,0	3	4	2	2	11	55	2	5	5	5	17	85	7.0	6.99	153	199.0	7.88	7.86
Resultados	EC(0)50;24H: 0,88 (0,56 – 1,38) µ g.L ⁻¹						EC(0)50;48H: 0,39 (0,29-0,52) µ g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 2

Início do teste: 04/05/04		Final do teste: 06/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,06	7,26	172,9
Amostra		Responsável	
Origem	Tipo	Lote	
Permetrina	Substância	-	Patrícia/Vanessa

Concentração (µg L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	5	7,05	7,42	172,9	189,7	7,26	6,80
A. 0,1	2	0	1	0	3	15	1	0	3	0	4	20	7,10	7,25	169,0	168,0	7,66	6,80
B. 0,2	0	1	2	0	3	15	0	0	4	0	4	20	7,20	7,19	160,9	164,3	7,66	6,80
C. 0,4	0	1	2	1	4	20	0	1	4	0	5	25	7,17	7,18	160,7	152,1	7,66	6,80
D. 0,9	4	1	3	2	10	50	5	3	5	2	15	75	7,17	7,16	168,1	163,5	7,66	6,80
E. 2,0	4	5	5	4	18	90	5	5	5	5	20	100	7,19	7,14	165,0	162,4	7,66	6,80
Resultados	EC(1)50;24H: 0,8 (0,6-1,2) µg.L ⁻¹						EC(1)50;48H: 0,6 (0,4-0,8) µg.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 3

Início do teste: 12/05/04		Final do teste: 14/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,04	9,51	191,3
Amostra		Origem	Lote
		Permetrina	-
		Substância	Patricia/Vanessa

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,04	-	191,3	-	9,51	-
A. 0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	7,16	-	187,8	-	8,69	-
B. 0,2	0	1	0	0	1	5	1	2	1	2	6	30	7,30	-	185,8	-	8,69	-
C. 0,4	1	0	1	1	3	15	3	0	5	5	13	65	7,27	-	183,8	-	8,69	-
D. 0,9	2	1	2	0	5	25	4	2	4	5	15	75	7,30	-	184,8	-	8,69	-
E. 2,0	1	5	3	3	12	60	5	5	5	5	20	100	7,24	-	182,7	-	8,69	-
Resultados	EC(1)50;24H: 1,29 (1,09-2,32) µg.L ⁻¹						EC(1)50;48H: 0,30 (0,20-0,45) µg.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 4

Início do teste: 17/05/04		Final do teste: 19/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,01	8,01	197,5
Amostra		Origem	Lote
		Permetrina	-
		Substância	Responsável
			Patrícia

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo																pH	Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	24 horas								48 horas									ini	fin	ini	fin	
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%										
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,42	197,5	189,0	8,01	8,17
A. 0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,10	7,26	187,1	163,0	8,01	8,17
B. 0,2	0	0	0	1	1	5	0	0	1	3	4	20	0	1	3	4	7,30	7,29	185,0	164,7	8,30	8,17
C. 0,4	2	0	1	1	4	20	3	2	1	2	8	40	2	1	2	8	7,37	7,17	185,9	152,1	8,27	8,17
D. 0,9	3	1	2	2	8	40	4	3	2	5	14	70	3	2	5	14	7,30	7,19	187,3	163,3	8,31	8,17
E. 2,0	5	3	3	4	15	75	5	5	5	5	20	100	5	5	5	20	7,24	7,21	182,0	170,1	8,37	8,17
Resultados	EC(1)50:24H: 1,09 (0,73-1,63) µ g.L ⁻¹								EC(1)50:48H: 0,49 (0,36-0,66) µ g.L ⁻¹								Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 5

Início do teste: 25/05/04		Final do teste: 27/05/04																
Água de cultivo e/ou de diluição																		
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)															
HDR	7,00	8,58	201,3															
Amostra		Origem	Lote															
		Permetrina	-															
		Tipo	Substância															
Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH	Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	24 horas				48 horas				ini	fin	ini	fin		ini	fin			
	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	7,19	201,3	200,1	8,58	8,60
A. 0,1	2	0	0	0	2	10	1	0	2	1	5	25	7,30	7,21	212,0	200,6	8,57	8,60
B. 0,2	0	1	2	1	4	20	1	1	2	1	5	25	7,07	7,21	210,0	207,3	8,57	8,60
C. 0,4	1	1	2	1	5	25	2	2	4	1	9	45	7,02	7,16	213,2	205,7	8,67	8,60
D. 0,9	4	3	1	1	9	45	5	3	4	4	16	80	7,24	7,15	201,0	203,2	8,61	8,60
E. 2,0	5	5	4	4	18	90	5	5	5	5	20	100	7,19	7,13	200,3	207,1	8,61	8,60
Resultados	EC(1)50;24H: 0,75 (0,54-1,05)µ g.L ⁻¹				EC(1)50;48H: 0,43 (0,30-0,62)µ g.L ⁻¹				Método estatístico utilizado: Spearman									

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 6

Início do teste: 13/07/04		Final do teste: 15/07/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,0	8,0	161,0
Amostra		Origem	Lote
Tipo		Permetrina	-
Substância		Patricia	
Responsável		Patricia	

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,14	161	177	8,0	8,26
A.0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	7,08	160	176	8,0	8,31
B.0,2	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	3	15	7,0	7,08	160	176	8,0	8,31
C.0,4	1	0	0	0	1	5	1	1	2	1	5	25	7,02	7,09	160	17608	8,0	8,31
D.0,9	1	0	1	1	3	15	3	1	2	3	9	45	7,01	7,08	160	176,6	8,0	8,31
E.2,0	4	3	3	2	12	60	5	5	5	5	20	100	7,0	7,06	160	177,1	8,0	8,31
Resultados	EC(1)50:24H: 1,67 (1,23-2,28) µ g.L-1						EC(1)50:48H: 0,70 (0,54-0,90) µ g.L-1						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia Laevis* 25°C

TESTE N.º 7

Início do teste: 11/08/05		Final do teste: 13/08/05	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,0	8,0	161
Amostra		Responsável	
Tipo		Lote	
Substância		Patricia	
Origem		-	
Permetrina		-	

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	5	7,0	7,07	161	171,3	8,0	7,86
A.0,1	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	5	25	7,0	7,19	153	173	7,88	7,86
B.0,2	2	1	0	0	3	15	2	1	4	0	7	35	7,0	7,28	153	172,9	7,88	7,86
C.0,4	0	1	2	2	5	25	0	1	4	2	7	35	7,0	7,24	153	175,9	7,88	7,86
D.0,9	5	1	3	2	11	55	5	2	5	3	15	75	7,0	7,15	153	176,9	7,88	7,86
E.2,0	5	4	5	4	18	90	5	5	5	5	20	100	7,0	6,99	153	199,0	7,88	7,86
Resultados	EC(I)50;24H: 1,19 (0,63-2,26) µg.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 0,45 (0,28-0,73) µg.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

APÊNDICE 8

- **Planilhas dos testes de avaliação da sensibilidade para *C. silvestrii*.**



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 1

Início do teste: 21/05/02		Final do teste: 23/05/02	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,02	7,80	146,2
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Tipo	solução
		Responsável	
		Patricia	

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas				48 horas				total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	1	2	3	4										
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,02	7,64	146,2	146,0	7,80	7,40	
A. 1,00	0	0	0	0	0	2	3	1	1	7	35	7,01	7,59	-	1813	7,6	7,40	
B. 1,30	0	1	0	0	1	2	3	1	1	7	35	7,01	7,47	-	2260	7,6	7,40	
C. 1,60	1	1	2	1	5	4	2	4	4	14	70	7,20	7,54	-	-	7,6	7,40	
D. 1,90	2	1	2	2	7	4	4	4	2	14	70	7,03	7,54	-	-	7,6	7,40	
E. 2,20	3	3	3	2	11	5	5	5	2	17	85	7,07	7,56	-	-	7,6	7,40	
Resultados	EC(1)50;24H: 2,12 (1,87 - 2,41) g.L ⁻¹				EC(1)50;48H: 1,42 (1,30 - 1,55) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman							

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 2

Início do teste: 14/05/02		Final do teste: 16/05/02	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,02	7,60	-
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Tipo	solução
		Responsável	
		Patrícia/Carla	

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,02	7,15	-	-	7,6	7,3
A. 1,00	0	0	0	0	0	0	4	5	2	1	8	40	7,01	7,30	-	-	7,6	7,3
B. 1,30	0	0	1	0	1	5	3	1	2	1	11	55	7,01	7,35	-	-	7,6	7,3
C. 1,60	1	1	0	4	6	30	2	4	3	4	13	65	7,20	7,28	-	-	7,6	7,3
D. 1,90	2	2	4	2	10	50	2	2	4	3	11	55	7,20	7,22	-	-	7,6	7,3
E. 2,20	4	5	4	4	17	85	4	5	4	5	18	90	7,07	7,23	-	-	7,6	7,3
Resultados	EC(I)50;24H: 1,83 (1,70 – 1,97) g.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 1,36 (1,00 – 1,84) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

As amostras foram reunidas para medida do parâmetro Oxigênio dissolvido

O parâmetro condutividade não foi verificado

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 3

Início do teste: 24/05/02		Final do teste: 26/05/02	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,02	7,6	-
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Tipo	solução
		Responsável	
		Patrícia / Carla	

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin	ini	fin
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,02	7,15	-	-	7,6	7,3
A. 1,00	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	5	7,02	7,30	-	-	7,6	7,3
B. 1,30	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	5	7,01	7,35	-	-	7,6	7,3
C. 1,60	1	0	0	1	2	10	2	3	2	2	9	45	7,20	7,28	-	-	7,6	7,3
D. 1,90	1	1	2	2	6	30	1	3	3	3	10	50	7,20	7,22	-	-	7,6	7,3
E. 2,20	1	4	1	1	7	35	4	5	5	4	18	90	7,07	7,23	-	-	7,6	7,3
Resultados	EC(I)50,24H: Não calculável						EC(I)50,48H: 1,75 (1,63 - 1,88) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

As amostras foram reunidas para medida do parâmetro Oxigênio dissolvido

O parâmetro condutividade não foi verificado

HDR Água Destilada Reconstituída



Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 4

Início do teste: 20/03/03		Final do teste: 22/03/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,04	7,61	649
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Tipo	solução
			Responsável
			Angélica

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	7,04	-	649	-	7,61	-
A. 1,00	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	7,04	-	-	-	7,55	-
B. 1,30	-	-	-	-	-	-	3	0	0	3	6	30	7,03	-	-	-	7,55	-
C. 1,60	-	-	-	-	-	-	2	4	3	2	11	55	7,01	-	-	-	7,55	-
D. 1,90	-	-	-	-	-	-	4	5	5	4	18	90	7,04	-	-	-	7,55	-
E. 2,20	-	-	-	-	-	-	5	5	5	5	20	100	7,00	-	-	-	7,55	-
Resultados	EC(I)50;24H: Não verificado												EC(I)50;48H: 1,49 (1,39 – 1,59) g.L ⁻¹		Método estatístico utilizado: Spearman			

OBSERVAÇÕES:

Os parâmetros finais e condutividade não foram verificados

Não foi feita a leitura do teste no período de 24 horas.

HDR, Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 5

Início do teste: 19/08/03		Final do teste: 21/08/03	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,0	-	180
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Tipo	solução
			Responsável
			Patricia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas				48 horas				total	%	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	1	2	3	4										
Controle	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	7,00	7,60	180	196,2	-	-
A. 1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	0	7,35	7,90	2280	2500	-	-
B. 1,20	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0	2	7,48	7,90	2310	2500	-	-
C. 1,40	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	1	3	7,41	7,80	2820	2500	-	-
D. 1,65	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	4	1	7,42	7,90	3210	2500	-	-
E. 2,00	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	5	5	7,38	7,90	3610	2500	-	-
Resultados	EC(I)50,24H: Não Verificado												EC(I)50,48H: 1,48 (1,39 – 1,59) g.L-1		Método estatístico utilizado: Spearman			

OBSERVAÇÕES:

Não foi feita a leitura do teste no período de 24 horas.

O parâmetro oxigênio dissolvido não foi verificado devido a problemas no equipamento

As amostras foram reunidas para medir o parâmetro condutividade

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 06

Início do teste: 02/03/04		10:20		Final do teste: 04/03/04		11:00	
Água de cultivo e/ou de diluição							
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Tipo	Lote	Responsável
HDR	7,01	7,0	206	NaCl	Substância	-	Patricia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,01	7,13	206	198	7,0	7,8
A 1,0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	5	7,10	7,15	2590	1950	7,0	7,8
B 1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	5	7,37	6,96	2370	2500	7,0	7,8
C 1,6	0	2	1	1	4	20	3	5	4	4	16	80	7,30	6,99	3100	3000	7,0	7,8
D 1,9	1	1	3	3	8	40	4	5	5	5	19	95	7,36	6,99	3800	3800	7,0	7,8
E 2,2	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,35	6,97	4000	4001	7,0	7,8
Resultados	EC(J)50;24H: 1,85 (1,76-1,94) g.L ⁻¹						EC(J)50;48H: 1,49 (1,43-1,56) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 07

Início do teste: 12/05/04		Final do teste: 14/05/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,05	8,86	183,1
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Substância	Patricia/Vanessa
		Responsável	Patricia/Vanessa

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,04	7,70	191,3	192,0	9,51	-
A 1,0	4	0	1	0	5	25	5	1	3	1	10	50	7,10	7,41	1650	1531	8,72	-
B 1,3	1	0	0	2	3	15	2	1	2	1	6	30	7,26	7,33	2120	2010	8,74	-
C 1,6	3	1	1	0	5	25	3	1	1	0	5	25	7,25	7,33	2550	2350	8,76	-
D 1,9	3	1	2	2	8	40	3	1	3	2	9	45	7,24	7,33	3000	2790	8,77	-
E 2,2	4	3	5	2	14	70	4	4	5	4	17	85	7,25	7,36	3430	3140	8,77	-
Resultados	EC(I)50;24H: 1,98 (1,79-2,19) g.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 1,89 (1,68-2,14) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE N° 08

Início do teste: 17/05/04		Final do teste: 19/05/04			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Amostra
HDR	7,04	8,59	152,3	NaCl	Substância
					Lote
					Responsável
					Patricia/Natalia /Vanessa

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,04	7,36	152,3	161,9	8,59	-
A 1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	7,27	7,25	1592	1628	8,24	-
B 1,3	0	0	0	0	0	0	3	2	2	1	8	40	7,32	7,29	2010	2070	8,22	-
C 1,6	0	1	3	2	6	30	5	5	1	3	14	70	7,30	7,29	2440	2510	8,20	-
D 1,9	2	2	1	1	6	30	5	5	5	4	19	95	7,27	7,285	2900	2940	8,16	-
E 2,2	4	5	3	5	18	90	5	5	5	5	20	100	7,29	7,34	3320	3380	8,16	-
Resultados	EC(1)50;24H: 1,89 (1,78-2,01) g.L ⁻¹						EC(1)50;48H: 1,38 (1,27-1,50) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 09

Início do teste: 26/05/04		Final do teste: 28/05/2004	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,05	8,03	213
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Substância	
		Responsável	
		Patrícia/Vanessa/Natalia	

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	7,05	7,21	213,0	198	8,03	8,21
A 1,0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	8	40	7,32	7,46	1783	1732	8,12	8,21
B 1,3	0	0	0	0	0	0	1	3	0	1	5	25	7,29	7,53	2380	2360	8,12	8,21
C 1,6	0	0	0	1	1	5	1	2	1	1	5	25	7,32	7,56	2920	2980	8,10	8,21
D 1,9	1	1	0	1	3	15	1	1	1	2	5	25	7,34	7,57	3450	3480	8,08	8,21
E 2,2	5	5	4	5	19	95	5	5	4	5	19	95	7,37	7,59	3950	3880	8,07	8,21
Resultados	EC(1)50;24H: 2,01 (1,95-2,07) g.L ⁻¹						EC(1)50;48H: 1,99 (1,93-2,05) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 10

Início do teste: 05/07/04		Final do teste: 07/07/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,03	7,71	198,0
Amostra		Origem	Lote
Tipo		NaCl	-
Substância		Patricia/Vanessa	
Responsável			
Patricia/Vanessa			

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH			Cond. (µS/cm)			OD (mg/L)		
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin	ini	fin			
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%									
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,03	7,49	198,0	168	7,71	7,62			
A 1,0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	10	7,18	7,49	2000	1900	7,67	7,64			
B 1,3	0	0	0	0	0	0	2	1	0	4	7	35	7,34	7,52	2570	2440	7,65	7,64			
C 1,6	0	1	1	2	4	20	3	3	5	4	15	75	7,34	7,58	3110	2950	7,66	7,64			
D 1,9	3	3	2	2	10	50	5	5	5	5	20	100	7,38	7,66	3660	3480	7,66	7,64			
E 2,2	4	5	5	5	19	95	5	5	5	5	20	100	7,41	7,68	4190	3990	7,66	7,64			
Resultados	EC(I)50;24H: 1,84 (1,74-1,94) g.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 1,38 (1,28-1,49) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman								

OBSERVAÇÕES:

HDR, Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 11

Início do teste: 21/07/04		Final do teste: 23/07/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,03	8,38	204
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	Substância
			-
Responsável			Vanessa/Natalia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas				48 horas				ini	fin	ini	fin	ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle							0	1	0	2	3	15	7,03	-	204	-	8,38	
A 1,0							1	0	3	1	5	25	7,38	7,78	1915	1930	8,35	
B 1,3							2	2	2	2	8	40	7,43	7,74	2440	2430	8,33	
C 1,6							2	2	4	2	10	50	7,45	7,74	2930	2920	8,39	
D 1,9							1	3	5	3	12	60	7,46	7,71	3440	3430	8,37	
E 2,2							5	5	2	5	17	85	7,48	7,72	3950	3950	8,35	
Resultados	EC(1)50,24H: Não lido											EC(1)50,48H: 1,54 (1,31-1,80) g.L ⁻¹						
Método estatístico utilizado: Spearman																		

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii*, 25°C

TESTE Nº 12

Início do teste: 04/08/04		Final do teste: 06/08/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,08	7,88	189,7
Amostra		Origem	Lote
		NaCl	-
		Substância	Patricia
		Responsável	Patricia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle							0	0	0	0	0	0	7,08	-	189,7	-	7,88	-
A 1,0							0	0	0	0	0	0	7,29	-	2050	-	7,76	-
B 1,3							1	2	1	3	7	35	7,32	-	2660	-	7,75	-
C 1,6							1	2	2	3	8	40	7,34	-	3300	-	7,77	-
D 1,9							4	3	5	5	17	75	7,37	-	3960	-	7,79	-
E 2,2							5	5	5	5	20	100	7,39	-	4590	-	7,77	-
Resultados	EC(I)50;24H: Não Lido											EC(I)50;48H: 1,52 (1,42-1,63) g.L ⁻¹		Método estatístico utilizado: Spearman				

OBSERVAÇÕES:

Os parâmetros finais não foram lidos por motivo de falta de energia.

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº 13

Início do teste: 11/08/04		Final do teste: 13/08/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,06	-	210
Amostra		Origem	Lote
Tipo		NaCl	-
Substância		Patricia/Vanessa	
Responsável			

Concentração (µL ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle							0	0	0	0	0	0	7,01	7,13	206	198	7,0	7,8
A 1,0							1	0	0	0	1	5	7,10	7,15	2590	1950	7,0	7,8
B 1,3							0	1	1	0	2	10	7,37	6,96	2370	2500	7,0	7,8
C 1,6							2	1	0	1	3	15	7,30	6,99	3100	3000	7,0	7,8
D 1,9							5	3	5	1	14	70	7,36	6,99	3800	3800	7,0	7,8
E 2,2							5	5	5	4	19	95	7,35	6,97	4000	4001	7,0	7,8
Resultados	EC(1)50:24H: Não lido						EC(1)50:48H: 1,76 (1,65-1,88) g.L-1						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:

HDR Água Destilada Reconstituída



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº. 14

Início do teste:		Final do teste:			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Amostra
HDR				NaCl	Substância
					Lote
					Responsável
					Patricia

Concentração (g.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)		
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin			
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%							
Controle							0	0	0	0	0	0	0	7,00	7,50	212	235	8,06	8,0
A 1,0							0	0	0	0	0	0	0	7,30	7,50	2010	2100	8,01	8,0
B 1,3							0	1	0	0	1	5	0	7,35	7,70	2550	3060	8,07	8,0
C 1,6							3	1	2	1	7	35	0	7,36	7,71	3100	3210	8,07	8,0
D 1,9							5	4	4	5	18	90	0	7,41	7,77	3610	3790	8,07	8,0
E 2,2							5	5	5	5	20	100	0	7,53	7,39	4100	4380	8,09	8,0
Resultados	EC()50;24H: Não lido						EC()50;48H: 1,64 (1,56-1,72) g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman						

OBSERVAÇÕES:

HDR: Água Destilada Reconstituída

APÊNDICE 9

Acompanhamento do crescimento individual em experimentos com *C. silvestrii*.

APÊNDICE 9

TABELA 1. Acompanhamento diário do comprimento individual (mm) de *C. silvestrii* cultivadas a 25°C

Dias	Tam. médio	Réplica 1	Réplica 2	Replica 3
0	0,39	0,38	0,38	0,40
1	0,47	0,43	0,48	0,50
2	0,57	0,55	0,57	0,60
3	0,63	0,60	0,64	0,67
4	0,73	0,76	0,71	0,71
5	0,75	0,76*	0,74*	0,76*
6	0,83	0,83	0,81	0,83
7	0,83	0,83	0,81	0,83
8	0,90	0,90	0,90	0,88
9	0,90	0,90	0,90	0,88
10	0,90	0,90	0,90	0,88
11	0,90	0,90	0,90	0,88
12	0,90	0,90	0,90	0,88
13	0,90	0,90	0,90	0,88
14	0,90	0,90	0,90	0,88
15	0,90	0,90	0,90	0,88
16	0,90	0,90	0,90	0,88
17	0,95	0,95	0,95	0,95
18	1,03	1,05	1,02	1,02
19	1,04	1,05	1,05	1,02
20	1,04	1,05	1,05	1,02
21	0,98	0,95	1,00	1,00
22	0,97	0,95	0,98	0,98
23	0,97	0,95	0,98	0,98
24	0,94	0,93	0,95	0,93
25	1,01	1,00	1,02	1,00
26	1,01	1,00	1,02	1,00
27	1,01	1,00	1,02	1,00
28	1,01	1,00	1,02	1,00
29	1,01	1,00	1,02	1,00
31	1,01	1,00	1,02	1,00
32	1,01	1,00	1,02	1,00
33	1,01	1,00	1,02	1,00
34	1,01	1,00	1,02	1,00
35	1,01	1,00	1,02	1,00
36	1,01	1,00	1,02	1,00
37	1,02	1,00	1,02	1,02
38	1,02	1,02	1,02	1,02
39	1,04	1,02	1,07	1,02
40	1,06	1,02	1,07	1,07
41	1,06	1,02	1,07	1,07
42	1,06	1,02	1,07	1,07
43	1,05	1,02	1,07	1,07
44	1,05	1,02	1,07	1,07
45	1,05	1,02	1,07	1,07

* = Primípara

Média primípara : 0,73 mm
Desvio padrão: 0,03
Coeficiente de Variação: 4%

Comprimento inicial 0,39 mm
Desvio padrão: 0,01
Coeficiente de Variação: 3%

APÊNDICE 10

Fecundidade de *C. silvestrii*.

APÊNDICE 10

TABELA 1. Dados sobre fecundidade de *C. silvestrii* cultivadas a 25°C.

Dia	Replicas										Sobrevivência	Fecundidade		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		Média/dia/fêmea	Total/dia	acumulada
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	60
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	73
4	4	1	4	3	1	3	+	+	4	4	8	3	24	24
5	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	8	0	0	0
6	5	7	6	7	8	5	+	+	7	0	8	6	45	45
7	7	7	6	8	9	6	+	+	10	0	8	7	53	98
8	5	5	7	6	6	7	+	+	7	0	8	5	43	141
9	0	0	0	0	0	0	+	+	0	1	8	0	1	142
10	9	8	7	12	10	9	+	+	9	3	8	8	67	209
11	0	0	1	0	2	0	+	+	0	0	8	0	3	212
12	8	9	9	9	6	8	+	+	11	10	8	9	70	282
13	7	9	6	7	8	7	+	+	4	8	8	7	56	338
14	6	7	7	9	8	9	+	+	4	0	8	6	0	653
15	0	0	5	5	4	0	+	+	3	10	8	3	27	696
16	6	7	5	5	5	7	+	+	6	10	8	6	51	776
17	6	0	11	0	11	0	+	+	5	0	8	4	33	880
18	0	9	0	8	0	11	+	+	0	4	8	4	32	892
19	7	9	9	9	9	8	+	+	4	0	8	7	55	936
20	0	0	7	0	8	0	+	+	0	4	8	2	19	961
21	4	8	0	8	0	8	+	+	5	4	8	5	37	1036
22	9	8	3	8	10	9	+	+	+	6	7	8	53	1101
23	0	1	+	0	0	0	+	+	+	0	6	0	1	1126
24	10	9	+	8	8	6	+	+	+	6	6	8	47	1164
25	0	0	+	6	7	5	+	+	+	2	6	3	20	1179
26	0	0	+	0	0	4	+	+	+	0	6	1	4	1194
27	7	7	+	8	6	9	+	+	+	2	6	5	39	1194
28	0	0	+	0	0	0	+	+	+	0	6	0	0	1194
29	12	10	+	9	8	10	+	+	+	3	6	7	52	1228
30	12	6	+	7	10	5	+	+	+	6	6	6	46	1246
31	5	0	+	0	6	0	+	+	+	11	6	3	22	1265
32	0	8	+	4	2	7	+	+	+	2	6	4	23	1265
33	6	0	+	4	9	0	+	+	+	1	6	2	20	1271
34	0	6	+	2	0	9	+	+	+	+	5	3	17	1271
35	1	+	+	0	1	3	+	+	+	+	4	1	5	1275
36	0	+	+	3	0	0	+	+	+	+	4	1	3	1281
37	0	+	+	0	0	3	+	+	+	+	4	1	3	1281
38	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	3	0	0	1290
39	0	+	+	2	0	+	+	+	+	+	3	2	2	1290
40	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	3	0	0	1290
41	0	+	+	2	1	+	+	+	+	+	3	3	3	1297
42	+	+	+	+	2	+	+	+	+	+	1	2	2	1297
43	+	+	+	+	2	+	+	+	+	+	1	2	2	1303
44	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	0	0	1303
45	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	1303

APÊNDICE 11

- Acompanhamento do crescimento de *C. silvestrii* em ensaios de toxicidade crônica com cloreto de sódio. Teste 1 e 2.
- Planilhas dos testes de avaliação da toxicidade crônica para *C. silvestrii*. Teste 1 e 2.

Apêndice 11

TABELA 01 - Crescimento de *C. silvestrii* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 1

DIA	Crescimento CONTROLE				Tamanho real (mm)	Controle Tamanho (mm)					CV
	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	
1	1,9	1,5	1,9	1,77	0,42	0,45	0,36	0,45	0,42	0,05499	13,07%
2	1,9	2,4	2,5	2,27	0,54	0,45	0,57	0,60	0,54	0,07654	14,18%
3	2,9	3	3,2	3,03	0,72	0,69	0,71	0,76	0,72	0,03637	5,04%
4	2,9	3	3,2	3,03	0,72	0,69	0,71	0,76	0,72	0,03637	5,04%
5	2,9	3	3,2	3,03	0,72	0,69	0,71	0,76	0,72	0,03637	5,04%
6	2,9	3,3	3,5	3,23	0,77	0,69	0,79	0,83	0,77	0,07274	9,45%
7	3,2	3,3	3,5	3,33	0,79	0,76	0,79	0,83	0,79	0,03637	4,58%
8	3,2	3,3	3,5	3,33	0,79	0,76	0,79	0,83	0,79	0,03637	4,58%
9	3,7	3,9	4	3,87	0,92	0,88	0,93	0,95	0,92	0,03637	3,95%
10	3,7	3,9	4	3,87	0,92	0,88	0,93	0,95	0,92	0,03637	3,95%

DIA	Crescimento A 0,1 g/L				Tamanho real (mm)	A 0,1 g/L Tamanho (mm)					CV
	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	
1	1,5	1,7	1,9	1,70	0,40	0,36	0,40	0,45	0,40	0,04762	11,76%
2	2,1	2	2	2,03	0,48	0,50	0,48	0,48	0,48	0,01375	2,84%
3	2,9	2,9	2,7	2,83	0,67	0,69	0,69	0,64	0,67	0,02749	4,08%
4	2,9	2,9	2,7	2,83	0,67	0,69	0,69	0,64	0,67	0,02749	4,08%
5	3,2	3,2	3,1	3,17	0,75	0,76	0,76	0,74	0,75	0,01375	1,82%
6	3,2	3,2	3,3	3,23	0,77	0,76	0,76	0,79	0,77	0,01375	1,79%
7	3,2	3,2	3,3	3,23	0,77	0,76	0,76	0,79	0,77	0,01375	1,79%
8	3,2	3,2	3,3	3,23	0,77	0,76	0,76	0,79	0,77	0,01375	1,79%
9	3,7	3,8	3,7	3,73	0,89	0,88	0,90	0,88	0,89	0,01375	1,55%
10	3,7	3,8	3,7	3,73	0,89	0,88	0,90	0,88	0,89	0,01375	1,55%

DIA	Crescimento B 0,25 g/L				Tamanho real (mm)	B 0,25 g/L Tamanho (mm)					CV
	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	
1	1,7	1,5	2	1,73	0,41	0,40	0,36	0,48	0,41	0,05992	14,52%
2	2	2,1	2,1	2,07	0,49	0,48	0,50	0,50	0,49	0,01375	2,79%
3	2,8	3	2,8	2,87	0,68	0,67	0,71	0,67	0,68	0,02749	4,03%
4	3	3	3	3,00	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0	0,00%
5	3	3	3	3,00	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0	0,00%
6	3,2	3,2	3,2	3,20	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0	0,00%
7	3,2	3,2	3,5	3,30	0,79	0,76	0,76	0,83	0,79	0,04124	5,25%
8	3,6	3,6	3,5	3,57	0,85	0,86	0,86	0,83	0,85	0,01375	1,62%
9	4	3,6	3,5	3,70	0,88	0,95	0,86	0,83	0,88	0,06299	7,15%
10	4	3,6	3,5	3,70	0,88	0,95	0,86	0,83	0,88	0,06299	7,15%

DIA	Crescimento C 0,6 g/L				Tamanho real (mm)	C 0,6 g/L Tamanho (mm)					CV
	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	
1	1,9	1,5	1,7	1,70	0,40	0,45	0,36	0,40	0,40	0,04762	11,76%
2	2,2	1,9	2,1	2,07	0,49	0,52	0,45	0,50	0,49	0,03637	7,39%
3	2,8	2,7	2,6	2,70	0,64	0,67	0,64	0,62	0,64	0,02381	3,70%
4	2,8	2,7	3	2,83	0,67	0,67	0,64	0,71	0,67	0,03637	5,39%
5	2,8	3	3	2,93	0,70	0,67	0,71	0,71	0,70	0,02749	3,94%
6	3,4	3	3	3,13	0,75	0,81	0,71	0,71	0,75	0,05499	7,37%
7	3,4	3,4	3	3,27	0,78	0,81	0,81	0,71	0,78	0,05499	7,07%
8	3,4	3,7	3,5	3,53	0,84	0,81	0,88	0,83	0,84	0,03637	4,32%
9	3,8	3,7	3,7	3,73	0,89	0,90	0,88	0,88	0,89	0,01375	1,55%
10	3,8	3,7	3,7	3,73	0,89	0,90	0,88	0,88	0,89	0,01375	1,55%

DIA	Crescimento D 1,6 g/L			Tamanho real (mm)			D 1,6 g/L Tamanho (mm)				
	1	2	3 MD	1	2	3	MD	DP	CV		
	1	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749
2	1,7	1,7	1,5	1,63	0,38	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
3	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
4	1,7	1,7	1,5	1,63	0,38	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
5	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
6	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
7	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
8	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
9	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%
10	1,7	1,7	1,5	1,63	0,39	0,40	0,40	0,36	0,39	0,02749	7,07%

Apêndice 11

TABELA 2 - Crescimento de *C. silvestrii* em teste crônico com cloreto de sódio – Teste 2

Crescimento CONTROLE					Tamanho real (mm)	Controle Tamanho (mm)					DP	CV
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD			
1	1,8	1,8	1,7	1,77	0,42	0,43	0,43	0,40	0,42	0,01375	3,27%	
2	1,8	1,8	1,7	1,77	0,42	0,43	0,43	0,40	0,42	0,01375	3,27%	
3	2,9	2,5	2,4	2,60	0,62	0,69	0,60	0,57	0,62	0,06299	10,18%	
4	2,9	3	3,2	3,03	0,72	0,69	0,71	0,76	0,72	0,03637	5,04%	
5	3	3	3,2	3,07	0,73	0,71	0,71	0,76	0,73	0,02749	3,77%	
6	3	3,3	3,2	3,17	0,75	0,71	0,79	0,76	0,75	0,03637	4,82%	
7	3	3,3	3,2	3,17	0,75	0,71	0,79	0,76	0,75	0,03637	4,82%	
8	3,7	3,7	3,9	3,77	0,90	0,88	0,88	0,93	0,90	0,02749	3,07%	
9	3,7	3,9	4	3,87	0,92	0,88	0,93	0,95	0,92	0,03637	3,95%	
10	3,9	3,9	4	3,93	0,94	0,93	0,93	0,95	0,94	0,01375	1,47%	

Crescimento A 0,1 g/L					Tamanho real (mm)	A 0,1 g/L Tamanho (mm)					DP	CV
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD			
1	1,5	1,5	1,6	1,53	0,37	0,36	0,36	0,38	0,37	0,01375	3,77%	
2	2,1	2	2	2,03	0,48	0,50	0,48	0,48	0,48	0,01375	2,84%	
3	2,9	2,7	2,9	2,83	0,67	0,69	0,64	0,69	0,67	0,02749	4,08%	
4	2,9	2,9	2,9	2,90	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	1,4E-16	0,00%	
5	3,3	3,3	3,4	3,33	0,79	0,79	0,79	0,81	0,79	0,01375	1,73%	
6	3,3	3,3	3,4	3,33	0,79	0,79	0,79	0,81	0,79	0,01375	1,73%	
7	3,3	3,3	3,4	3,33	0,79	0,79	0,79	0,81	0,79	0,01375	1,73%	
8	3,5	3,6	3,7	3,60	0,86	0,83	0,86	0,88	0,86	0,02381	2,78%	
9	3,6	3,6	3,7	3,63	0,87	0,86	0,86	0,88	0,87	0,01375	1,59%	
10	3,6	4	3,7	3,77	0,90	0,86	0,95	0,88	0,90	0,04956	5,53%	

Crescimento B 0,25 g/L					Tamanho real (mm)	B 0,25 g/L Tamanho (mm)					DP	CV
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD			
1	1,7	1,5	1,8	1,67	0,40	0,40	0,36	0,43	0,40	0,03637	9,17%	
2	2	2,1	3	2,37	0,56	0,48	0,50	0,71	0,56	0,13113	23,27%	
3	2,6	2,8	2,6	2,67	0,63	0,62	0,67	0,62	0,63	0,02749	4,33%	
4	3,1	3,1	3,2	3,13	0,75	0,74	0,74	0,76	0,75	0,01375	1,84%	
5	3,1	3,1	3,2	3,13	0,75	0,74	0,74	0,76	0,75	0,01375	1,84%	
6	3,1	3,1	3,2	3,13	0,75	0,74	0,74	0,76	0,75	0,01375	1,84%	
7	3,8	3,8	3,9	3,83	0,91	0,90	0,90	0,93	0,91	0,01375	1,51%	
8	3,8	3,8	3,9	3,83	0,91	0,90	0,90	0,93	0,91	0,01375	1,51%	
9	3,8	3,8	3,9	3,83	0,91	0,90	0,90	0,93	0,91	0,01375	1,51%	
10	3,7	3,8	3,9	3,80	0,90	0,88	0,90	0,93	0,90	0,02381	2,63%	

Crescimento C 0,6 g/L					Tamanho real (mm)	C 0,6 g/L Tamanho (mm)					DP	CV
DIA	1	2	3	MD		1	2	3	MD			
1	1,8	1,5	1,8	1,70	0,40	0,43	0,36	0,43	0,40	0,04124	10,19%	
2	2,3	2	2,1	2,13	0,51	0,55	0,48	0,50	0,51	0,03637	7,16%	
3	2,7	2,7	2,6	2,67	0,63	0,64	0,64	0,62	0,63	0,01375	2,17%	
4	2,7	2,8	2,6	2,70	0,64	0,64	0,67	0,62	0,64	0,02381	3,70%	
5	2,8	3,1	3	2,97	0,71	0,67	0,74	0,71	0,71	0,03637	5,15%	
6	3,2	3,1	3	3,10	0,74	0,76	0,74	0,71	0,74	0,02381	3,23%	
7	3,2	3,5	3	3,23	0,77	0,76	0,83	0,71	0,77	0,05992	7,78%	
8	3,2	3,5	3,3	3,33	0,79	0,76	0,83	0,79	0,79	0,03637	4,58%	
9	3,6	3,5	3,8	3,63	0,87	0,86	0,83	0,90	0,87	0,03637	4,20%	
10	3,6	3,5	3,8	3,63	0,87	0,86	0,83	0,90	0,87	0,03637	4,20%	

DIA	Crescimento D 1,5 g/L				Tamanho real (mm)	D 1,5 g/L Tamanho (mm)					
	1	2	3	MD		1	2	3	MD	DP	CV
1	1,5	1,7	1,5	1,57	0,37	0,36	0,40	0,36	0,37	0,02749	7,37%
2	1,9	1,7	1,5	1,70	0,40	0,45	0,40	0,36	0,40	0,04762	11,76%
3	1,9	1,7	1,5	1,70	0,40	0,45	0,40	0,36	0,40	0,04762	11,76%
4	1,6	1,7	2	1,77	0,42	0,38	0,40	0,48	0,42	0,04956	11,78%
5	1,6	1,5	2	1,70	0,40	0,38	0,36	0,48	0,40	0,06299	15,56%
6	1,6	1,5	1,9	1,67	0,40	0,38	0,36	0,45	0,40	0,04956	12,49%
7	1,6	1,5	1,7	1,60	0,38	0,38	0,36	0,40	0,38	0,02381	6,25%
8	1,6	1,5	1,7	1,60	0,38	0,38	0,36	0,40	0,38	0,02381	6,25%
9	1,6	1,5	1,7	1,60	0,38	0,38	0,36	0,40	0,38	0,02381	6,25%
10	1,6	1,5	1,7	1,60	0,38	0,38	0,36	0,40	0,38	0,02381	6,25%



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia silvestrii*

Teste nº 01

Início do Teste: 27/03/04		Final do Teste: 05/04/2004	
Água de cultivo e/ou diluição			
Lote	pH	OD mg.L ⁻¹	Condutividade µS ₂₅ /cm
HDR	7,02	7,08	168
Amostra		Origem	Lote
		Substância	1
		Tipo	NaCl
		Responsável	Patrícia

Data	pH				OD				Cond				Fecundidade										Crescimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
	27/03	7,02	8,30	7,08	7,80	168	307			1,9	1,5	1,9			
28/03									1,9	2,4	2,5				
29/03	7,05	7,11	8,0	7,45	294	175,6			2,9	3,0	3,2				
30/03									.	2	4	2,9	3,0	3,2				
31/03	7,02	7,20	7,70	7,81	170	161,3			4	+	+	3	5	4	3	+	4	3	2,9	3,0	3,2				
01/04									+	+	+	.	.	8	+	+	6	6	2,9	3,3	3,5				
02/04	7,00	7,02	8,0	7,9	159	107			+	+	+	3	6	.	+	.	.	3,2	3,3	3,5					
03/04									+	+	+	7	.	8	+	+	10	.	3,2	3,3	3,5				
04/04	7,01	7,25	7,56	7,34	170	174			+	+	+	.	8	8	+	+	.	3,7	3,9	4,0					
05/04									+	+	+	9	9	.	+	+	9	11	3,7	3,9	4,0				
Total												4	2	4	22	28	28	3	0	29	37	Objetiva 40 X			

Concentração: A 0,1 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade						Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
27/03	7,03	8,20	7,47	7,70	321	705	1,5	1,7	1,9			
28/03							2,1	2,0	2,0			
29/03	7,50	7,27	7,92	7,45	632	372	.	.	.	+	2,9	2,9	2,7			
30/03							.	.	.	+	2,9	2,9	2,7			
31/03	7,14	7,40	7,56	7,70	381	407	6	5	2	+	3,2	3,2	3,1			
01/04							.	.	+	+	3,2	3,2	3,3			
02/04	7,30	7,40	7,90	7,45	370	700	6	4	+	+	3,2	3,2	3,3			
03/04							.	6	+	+	3,2	3,2	3,3			
04/04	7,15	7,48	7,59	7,36	380	361	7	.	+	+	3,7	3,8	3,7			
05/04							7	10	+	+	3,7	3,8	3,7			
Total							26	25	02	0	27	0	27	0	28	13				Objetiva 40 X			

Concentração: B 0,25 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin											Replica 1	Replica 2	Replica 3				
27/03	7,10	8,20	7,47	7,70	642	1110	1,7	1,5	2,0			
28/03							2,0	2,1	2,1			
29/03	7,50	7,27	7,92	7,45	632	372	2,8	3,0	2,8			
30/03							.	+	2	3,0	3,0	3,0			
31/03	7,14	7,40	7,56	7,70	381	407	3	+	+	3	2	3	7	.	.	.	3,0	3,0	3,0				
01/04							+	+	+	4	4	5	3,2	3,2	3,4			
02/04	7,31	7,42	7,95	7,57	6,98	1200	+	+	+	8	8	+	3	4	8	.	.	3,2	3,2	3,5			
03/04							+	+	+	10	.	+	.	6	.	.	.	3,6	3,6	3,5			
04/04	7,21	7,36	7,51	7,18	670	740	+	+	+	5	8	+	7	.	12	.	.	4,0	3,6	3,5			
05/04							+	+	+	.	10	+	7	7	.	.	.	4,0	3,6	3,6			
Total							03	0	02	12	32	08	22	20	27					Objetiva 40 X			

Concentração: C 0,6 g/L												Substância: NaCl							
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
27/03	7,13	8,21	7,47	7,78	1200	2290	1,9	1,5	1,7
28/03							2,2	1,9	2,1
29/03	7,30	7,42	7,99	7,23	2240	1340	.	+	.	.	.	+	.	.	+	.	2,8	2,7	2,6
30/03							.	+	.	.	.	+	.	.	+	.	2,8	2,7	3,0
31/03	7,22	7,60	7,59	7,79	1251	2100	3	+	3	+	2	+	1	+	3	2,8	3,0	3,0	
01/04							6	+	3	+	4	+	+	.	6	3,4	3,0	3,0	
02/04	7,28	7,37	7,90	7,23	1200	2100	.	+	.	.	.	+	.	.	+	.	3,4	3,4	3,0
03/04							.	+	4	+	6	+	+	4	+	8	3,4	3,7	3,5
04/04	7,20	7,47	7,48	7,24	1251	1189	.	+	4	+	+	+	+	.	.	3,8	3,7	3,7	
05/04							.	+	.	.	.	+	+	.	.	3,8	3,7	3,7	
Total							09	0	14	0	10	02	0	05	0	17	Objetiva 40 X		

Concentração: D 1,5 g/L												Substância: NaCl							
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
27/03	7,17	7,95	7,47	7,91	4600	5140	1,7	1,7	1,5
28/03							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,7	1,7	1,5
29/03							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30/03																			
31/03																			
01/04																			
02/04																			
03/04																			
04/04																			
05/04																			
Total							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Objetiva 40 X		

Concentração: E 1,8 g/L												Substância: NaCl							
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade						Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
27/03	7,17	7,95	7,47	7,91	4600	5140	1,6	1,5	1,5
28/03							+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	+	+	+
29/03							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30/03																			
31/03																			
01/04																			
02/04																			
03/04																			
04/04																			
05/04																			
Total							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Objetiva 40 X		



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia silvestrii*

Teste n.º 02

Início do Teste: 12/04/2004		Final do Teste: 21/04/2004			
Água de cultivo e/ou diluição					
Lote	pH	OD mg.L ⁻¹	Condutividade µS ₂₅ /cm	Origem	Responsável
HDR	7,00	8,03	201	Substância NaCl	Patrícia
			Amostra		
			Lote	1	

Concentração: CONTROLE										Substância: AGUA DESTILADA RECONSTITUÍDA									
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento		
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3
12/04	7,00	7,26	8,03	8,59	201	178	1,8	1,8	1,7
13/04							1,8	1,8	1,7
14/04	7,02	7,02	8,20	7,80	179	301	2,9	2,5	2,4
15/04							2,9	3,0	3,2
16/04	7,05	7,17	8,86	8,21	183,1	198	5	3	4	3	5	5	3	3	5	4	3,0	3,0	3,2
17/04							.	8	6	6	6	4	7	8	3	3	3,0	3,3	3,2
18/04	7,01	7,79	8,85	7,82	203	192	8	.	.	.	9	7	3,0	3,3	3,2
19/04							7	8	10	10	.	.	3	.	.	11	3,7	3,7	3,9
20/04	7,00	7,08	8,00	7,89	175	301	.	9	.	.	7	10	6	8	10	10	3,7	3,9	4,0
21/04							9	.	12	9	6	11	8	8	.	.	3,9	3,9	4,0
Total							29	28	33	28	27	34	26	26	23	28	Objetiva 40 X		

Concentração: A 0,1 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,32	7,46	8,12	8,24	380	360	1,5	1,5	1,6				
13/04							2,1	2,0	2,0				
14/04	7,01	7,40	8,51	7,70	675	900	2,9	2,7	2,9				
15/04							2,9	2,9	2,9				
16/04	7,50	7,13	8,90	7,80	321	738	2	2	5	.	.	5	2	4	2	2	3,3	3,3	3,4				
17/04							.	.	.	5	.	3	3,3	3,3	3,4				
18/04	7,16	7,75	8,79	7,81	575	1231	4	9	6	3	6	6	9	5	9	3,3	3,3	3,4					
19/04							5	5	3,5	3,6	3,7				
20/04	7,30	7,41	8,12	7,79	375	706	.	.	9	10	6	9	.	13	12	.	3,6	3,6	3,7				
21/04							5	10	+	+	6	6	6	+	+	12	3,6	4,0	3,7				
Total							16	21	20	18	24	23	22	24	21	23	Objetiva 40 X						

Concentração: B 0,25 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,29	7,53	8,12	8,22	1920	1980	1,7	1,5	1,8				
13/04							2,0	2,1	2,0				
14/04	7,17	7,41	8,0	7,75	1390	1180	.	.	+	2,6	2,8	2,6				
15/04							.	.	+	3	.	3,1	3,1	3,2				
16/04	7,09	7,15	8,87	7,81	9,75	1210	.	.	+	4	5	7	3	.	8	3,1	3,1	3,2					
17/04							6	.	+	5	6	.	3	3	5	3,1	3,1	3,2					
18/04	7,20	7,79	8,70	7,91	1050	2010	.	3	+	.	.	7	+	3	.	3,8	3,8	3,9					
19/04							7	.	+	.	.	.	+	1	.	3,8	3,8	3,9					
20/04	7,20	7,41	8,12	7,70	842	1210	.	+	+	3	8	10	+	.	.	3,8	3,8	3,9					
21/04							5	+	+	.	.	.	+	6	.	3,7	3,8	3,5					
Total							18	03	0	12	19	24	06	13	8	20	Objetiva 40 X						

Concentração: C 0,6 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	Fecundidade					Crescimento							
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin					5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,32	7,56	8,08	8,20	3450	3480	1,8	1,5	1,8				
13/04							2,3	2,0	2,1				
14/04	7,13	7,25	7,95	7,23	2660	2990	2,7	2,7	2,6				
15/04							2,7	2,8	2,6				
16/04	7,30	7,76	8,81	7,87	1700	1750	+	.	3	3	+	+	+	+	8	+	2,8	3,1	3,0				
17/04							+	6	3	3	+	+	+	+	.	+	3,2	3,1	3,0				
18/04	7,25	8,02	8,70	7,82	2950	2315	+	.	.	.	+	+	+	+	.	+	3,2	3,5	3,0				
19/04							+	4	.	.	+	+	+	+	3	+	3,2	3,5	3,3				
20/04	7,34	7,47	8,10	7,76	1200	2300	+	.	7	.	+	+	+	+	.	+	3,6	3,5	3,8				
21/04							+	.	.	.	+	+	+	+	.	+	3,6	3,5	3,8				
Total							0	10	13	03	08	0	11	0	14	0	Objetiva 40 X						

Concentração: D 1,5 g/L												Substância: NaCl											
Data	pH		OD		Cond		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Crescimento						
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin											Replica 1	Replica 2	Replica 3				
12/04	7,34	7,57	8,07	8,16	3950	3890	1,5	1,7	1,5				
13/04							1,9	1,7	1,5				
14/04	7,18	7,47	8,16	8,07	3150	4600	1,9	1,7	2,0				
15/04							+	+	1,6	1,5	1,9				
16/04							+	+	+	+	+				
17/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
18/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
19/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
20/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
21/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
Total							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Objetiva 40 X						

Concentração: E 1,8 g/L										Substância: NaCl										
Data	pH		OD		Cond		Fecundidade										Crescimento			
	Ini	Fin	Ini	Fin	Ini	Fin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Replica 1	Replica 2	Replica 3	
12/04	7,37	7,59	8,10	8,24	4010	3970	1,6	1,6	1,6	
13/04							+	+	.	+	.	.	.	+	+	+	1,8	1,6	1,6	
14/04							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,6	
15/04																	+	+	+	
16/04																				
17/04																				
18/04																				
19/04																				
20/04																				
21/04																				
Total																				Objetiva 40 X

APÊNDICE 12

Avaliação da toxicidade crônica para *C. silvestrii*. Teste 1 e 2.

TABELA 03 – Média das três posturas nos ensaios de toxicidade crônica de cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Réplicas	Teste 1					Teste 2				
	Concentrações					Concentrações				
	Controle	A	B	C	D	Controle	A	B	C	D
1	04	19	03	09	0	20	11	18	10	0
2	02	15	0	0	0	19	21	3	13	0
3	04	02	04	10	0	20	20	12	03	0
4	13	0	12	0	0	19	18	19	08	0
5	19	17	12	10	0	21	24	24	0	0
6	20	0	20	02	0	23	20	06	11	0
7	03	21	08	0	0	12	16	07	0	0
8	0	0	08	05	0	19	24	13	14	0
9	20	19	13	0	0	23	21	08	0	0
10	16	13	17	17	0	18	23	20	0	0
Média	10,1	10,6	9,7	5,3	0	19,4	19,8	13	5,9	0

* Cont = Controle

*Concentrações: A = 0,1 g.L-1 B = 0,25 g.L-1 C = 0,6 g.L-1).

Teste 1:

*Controle: 100 % dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração A: 100% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração B: 50% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração C: 70% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração D: 0% dos indivíduos alcançou três posturas e todos os indivíduos morreram até o final do teste.

Teste 2

*Controle: 50 % dos indivíduos alcançaram três posturas, pois somente 5 sobreviveram até o final do teste;

*Concentração A: 70% dos indivíduos alcançaram três posturas; pois três indivíduos morreram antes da primípara;

*Concentração B: 60% dos indivíduos alcançaram três posturas;

*Concentração C: 20% dos indivíduos alcançaram três posturas;

Concentração D: 0% dos indivíduos alcançou três posturas e todos os indivíduos morreram antes da primípara.

APÊNDICE 13

- **Análise Estatística dos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *C. silvestrii*.**

CS CRONICO 2
File: CS 2 NAC 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	2.680	9.680	15.280	9.680	2.680
OBSERVED	3	10	13	13	1

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 2.5808
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

CS CRONICO 2
File: CS 2 NAC Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's test for normality

D = 1038.200

W = 0.987

Critical W (P = 0.05) (n = 40) = 0.940

Critical W (P = 0.01) (n = 40) = 0.919

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

CS CRONICO 2
File: CS 2 NAC Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 9.25

Closest, conservative, Table H statistic = 9.9 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 4, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 4, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C Transform: NO TRANSFORMATION

Bartlett's test for homogeneity of variance
Calculated B1 statistic = 9.71

Table Chi-square value = 11.34 (alpha = 0.01, df = 3)
Table Chi-square value = 7.81 (alpha = 0.05, df = 3)

Data PASS B1 homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C Transform: NO TRANSFORMATION

Cochran's test for homogeneity of variance

Calculated G statistic = 0.4560
Table value = 0.57 (alpha = 0.01, df = 4,10)
Table value = 0.50 (alpha = 0.05, df = 4,10)

Data PASS homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

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

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C Transform: NO TRANSFORMATION

Levene's test for homogeneity of variance

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	490.475	163.492	7.720
Within (Error)	36	762.400	21.178	
Total	39	1252.875		

Critical F value = 2.92 (0.05,3,30)
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C

Transform: NO TRANSFORM

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	22.000	37.000	28.800
2	0,10 gL	10	0.000	28.000	14.800
3	0,25 gL	10	0.000	32.000	15.600
4	0,60 gL	10	0.000	17.000	5.700

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C

Transform: NO TRANSFORM

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	25.511	5.051	1.597	17.54
2	0,10 gL	169.511	13.020	4.117	87.97
3	0,25 gL	135.600	11.645	3.682	74.65
4	0,60 gL	41.122	6.413	2.028	112.50

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C

Transform: NO TRANSFORM

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	2713.275	904.425	9.732
Within (Error)	36	3345.700	92.936	
Total	39	6058.975		

Critical F value = 2.92 (0.05,3,30)
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C

Transform: NO TRANSFORM

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
-------	----------------	------------------	-----------------------------------	--------	-----

CS CRONICO 2
 File: CS 2 NAC

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	23.000	34.000	28.200
2	0,1 G/L	10	16.000	24.000	21.200
3	0,25 G/L	10	0.000	24.000	12.300
4	0,6 G/L	10	0.000	14.000	5.900

CS CRONICO 2
 File: CS 2 NAC

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	CONTROLE	10.622	3.259	1.031	11.56
2	0,1 G/L	6.844	2.616	0.827	12.34
3	0,25 G/L	63.344	7.959	2.517	64.71
4	0,6 G/L	34.544	5.877	1.859	99.62

CS CRONICO 2
 File: CS 2 NAC

Transform: NO TRANSFORMATION

STEEL'S MANY-ONE RANK TEST

Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	df	SIG
1	CONTROLE	28.200				
2	0,1 G/L	21.200	58.00	77.00	10.00	*
3	0,25 G/L	12.300	56.00	77.00	10.00	*
4	0,6 G/L	5.900	55.00	77.00	10.00	*

Critical values use k = 3, are 1 tailed, and alpha = 0.05

1	CONTROLE	28.800	28.800		
2	0,10 gL	14.800	14.800	3.247	*
3	0,25 gL	15.600	15.600	3.062	*
4	0,60 gL	5.700	5.700	5.358	*

Dunnett table value = 2.15 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,3)

PAT CS CR NAC
File: PAT CS C

Transform: NO TRANSFORM

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	0,10 gL	10	9.269	32.2	14.000
3	0,25 gL	10	9.269	32.2	13.200
4	0,60 gL	10	9.269	32.2	23.100

APÊNDICE 13a

- **Análise estatística do comprimento das primíparas nos testes de toxicidade crônica com cloreto de sódio para *C. silvestrii*.**

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	3			
2	0,10	3	0.055	7.7	-0.010
3	0,25	3	0.055	7.7	0.010
4	0,60	3	0.055	7.7	0.023

Dunnett table value = 2.42 (1 Tailed Value, P=0.05, df=8,3)

Cs 1 comprimeto primipara PAT Dis
File: Cs1 NaCl PAT DIS Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	3			
2	0,10	3	0.055	7.7	-0.010
3	0,25	3	0.055	7.7	0.010
4	0,60	3	0.055	7.7	0.023

Cs 2 comprimento primipara PAT Dis

File: Cs2 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	Controle	3	0.710	0.760	0.727
2	0,10	3	0.690	0.810	0.763
3	0,25	3	0.740	0.760	0.747
4	0,60	3	0.670	0.740	0.707

Cs 2 comprimento primipara PAT Dis

File: Cs2 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 2 of 2

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	C.V. %
1	Controle	0.001	0.029	0.017	3.97
2	0,10	0.004	0.064	0.037	8.42
3	0,25	0.000	0.012	0.007	1.55
4	0,60	0.001	0.035	0.020	4.97

Cs 2 comprimento primipara PAT Dis

File: Cs2 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	0.005	0.002	1.142
Within (Error)	8	0.013	0.002	
Total	11	0.018		

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

Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 : All equal

Cs 2 comprimento primipara PAT Dis

File: Cs2 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

H_0 : Control < Treatment

TRANSFORMED

MEAN CALCULATED IN

T STAT SIG

1	Controle	0.727	0.727	
2	0,10	0.763	0.763	-1.129
3	0,25	0.747	0.747	-0.616
4	0,60	0.707	0.707	0.616

Dunnett table value = 2.42 (1 Tailed Value, P=0.05, df=8,3)

Cs 2 comprimeto primipara PAT Dis

File: Cs2 NaCl PAT DIS

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	3			
2	0,10	3	0.079	10.8	-0.037
3	0,25	3	0.079	10.8	-0.020
4	0,60	3	0.079	10.8	0.020

APÊNDICE 14

- **Planilhas dos testes de avaliação da toxicidade aguda para *C. silvestrii*.**



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº. 01

Início do teste:		Final do teste:				
Água de cultivo e/ou de diluição		Amostra		Responsável		
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Lote	
HDR	7,03	7,71	198,0	produto	permetrina	Patricia

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	10	7,03	7,31	198,0	190,8	7,71	-
A. 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,03	7,31	198,0	190,0	7,71	-
B. 0,03	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5	7,03	7,29	198,0	181,7	7,71	-
C. 0,10	1	1	2	0	4	20	1	3	1	0	5	25	7,03	7,29	198,0	190,1	7,71	-
D. 0,32	0	1	2	3	6	30	0	1	3	5	9	45	7,03	7,28	198,0	190,1	7,71	-
E. 1,0	5	3	5	4	17	85	5	5	3	5	18	90	7,03	7,28	198,0	190,9	7,71	-
Resultados	EC(1)50:24H: 0,42 (0,28-0,64)µ g.L ⁻¹						EC(1)50:48H: 0,28 (0,18-0,44)µ g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº: 02

Início do teste: 05/07/04		Final do teste: 07/07/04	
Água de cultivo e/ou de diluição			
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)
HDR	7,03	7,71	198,0
Amostra		Origem	Lote
Tipo		produto	permetrina
			-
Responsável			Patricia

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%						
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	10	7,03	7,31	198	181	7,71	-
A. 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,03	7,31	198	180,8	7,71	-
B. 0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5	7,03	7,29	198	181,7	7,71	-
C. 0,10	1	0	2	1	4	20	0	0	3	1	4	20	7,03	7,26	198	190,1	7,71	-
D. 0,32	2	3	2	1	8	40	2	3	2	1	8	40	7,03	7,04	198	190,1	7,71	-
E. 1,0	5	4	3	5	17	85	5	5	4	5	19	95	7,03	7,03	198	190,9	7,71	-
Resultados	EC(I)50;24H: 0,36 (0,23-0,55) µ g.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 0,30 (0,20-0,43) µ g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº: 03

Início do teste:		Final do teste:			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Lote
HDR	7,00	8,0	161	produto	permetrina -
					Responsável
					Patrícia

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,12	161	177	8,0	8,20
A.0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	7,16	161	177	8,0	8,20
B.0,03	1	0	0	0	1	5	0	1	1	2	4	20	7,03	7,08	161	177	8,0	8,20
C.0,10	2	1	0	0	3	15	3	2	2	1	8	40	7,17	7,03	161	177	8,0	8,20
D.0,32	4	3	3	2	12	60	5	5	5	5	20	100	7,16	7,08	161	177	8,0	8,20
E.1,0	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,10	7,07	161	177	8,0	8,20
Resultados	EC(1)50;24H: 0,22 (0,16-0,31)µ g.L ⁻¹						EC(1)50;48H:0,09 (0,06-0,14)µ g.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE N.º 04

Início do teste: 04/08/04		Final do teste: 06/08/04			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Amostra
HDR	7,08	7,88	189,7	produto	permetrina
					Lote
					Patricia/Vanessa
					Responsável

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)			
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin				
	1	2	3	4	total	%	1	2	3	4	total	%								
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,08	-	189,7	-	7,88	-
A. 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	10	7,08	-	189,7	-	7,88	-	
B. 0,03	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	4	20	7,08	-	189,7	-	7,88	-		
C. 0,10	1	1	2	2	6	30	1	2	2	4	9	45	7,08	-	189,7	-	7,88	-		
D. 0,32	2	3	2	3	10	50	5	5	5	20	100	7,08	-	189,7	-	7,88	-			
E. 1,0	5	5	5	5	20	100	5	5	5	20	100	7,08	-	189,7	-	7,88	-			
Resultados	EC(I)50;24H: 0,22 (0,16-0,32) µg.L ⁻¹						EC(I)50;48H: 0,08 (0,06-0,12) µg.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman							

OBSERVAÇÕES:



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* 25°C

TESTE Nº: 06

Início do teste: 09/09/04		Final do teste: 11/09/04			
Água de cultivo e/ou de diluição					
Lote	PH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µS cm ⁻¹)	Origem	Amostra
HDR	7,00	8,06	212	produto	permetrina
					Lote
					-
					Responsável
					Patrícia

Concentração (µg.L ⁻¹)	Número de indivíduos imóveis/tubo												pH		Cond. (µS/cm)		OD (mg/L)	
	24 horas						48 horas						ini	fin	ini	fin		
	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	7,21	212	261	8,06	7,97
A. 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,0	7,21	212	261	8,06	7,97
B. 0,03	2	4	1	3	10	50	5	5	4	5	19	95	7,01	7,21	212	261	8,06	7,97
C. 0,10	3	4	4	5	16	80	5	5	5	5	20	100	7,19	7,21	212	261	8,06	7,97
D. 0,32	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,08	7,21	212	261	8,06	7,97
E. 1,0	5	5	5	5	20	100	5	5	5	5	20	100	7,1	7,21	212	261	8,06	7,97
Resultados	EC(1)50:24H: 0,04 (0,03-0,05) µg.L ⁻¹						EC(1)50:48H: 0,01 (0,01-0,02) µg.L ⁻¹						Método estatístico utilizado: Spearman					

OBSERVAÇÕES: