



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

MESTRADO EM GESTÃO E POLÍTICA AMBIENTAL

APLICABILIDADE DE TESTES DE TOXICIDADE AGUDA COM *Daphnia magna* E *Vibrio fischeri*, NO MONITORAMENTO DA QUALIDADE DAS ÁGUAS DE BACIAS HIDROGRÁFICAS: O CASO DO RIO IPOJUCA EM PERNAMBUCO.

VILALBA SOARES DE MENDONÇA

RECIFE

2005

VILALBA SOARES DE MENDONÇA

APLICABILIDADE DE TESTES DE TOXICIDADE AGUDA COM *Daphnia magna* E *Vibrio fischeri*, NO MONITORAMENTO DA QUALIDADE DAS ÁGUAS DE BACIAS HIDROGRÁFICAS: O CASO DO RIO IPOJUCA EM PERNAMBUCO.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Gestão e Política Ambiental.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Eduarda de Larrazábal

RECIFE

2005

Mendonça, Vilalba Soares de

Aplicabilidade de testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri*, no monitoramento da qualidade das águas de bacias hidrográficas : o caso do rio Ipojuca em Pernambuco / Vilalba Soares de Mendonça. – Recife : O Autor, 2006.

85 folhas : il., fig., tab., quadros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CFCH. Gestão e Políticas Ambientais, 2006.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Gestão e políticas ambientais – Recursos hídricos. 2. Rio Ipojuca, PE – Qualidade das águas – Toxicidade. 3. *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri* – Testes de toxicidade aguda. 4. Bacia do rio Ipojuca – Mapa de toxicidade. I. Título.

504.4
363.73 64

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
BC2006 – 524

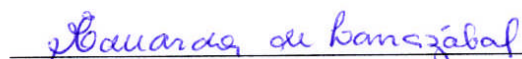
VILALBA SOARES DE MENDONÇA

APLICABILIDADE DE TESTES DE TOXICIDADE AGUDA COM *Daphnia magna* E *Vibrio fischeri*, NO MONITORAMENTO DA QUALIDADE DAS ÁGUAS DE BACIAS HIDROGRÁFICAS: O CASO DO RIO IPOJUCA EM PERNAMBUCO.

Dissertação apresentada à banca examinadora no dia 29/07/2005.

Banca examinadora:

Titulares:


Prof^a. Dr^a. Maria Eduarda de Larrazábal (Dept^o de Zoologia, UFPE)


Prof^a. Dr^a. Valdinete Lins da Silva (Dept^o de Engenharia Química, UFPE)


Prof^o. Dr^o. Fernando Antônio Feitosa (Dept^o de Oceanografia, UFPE)


Prof^a. Dr^a. Sigrid Neumann Leitão (Dept^o de Oceanografia, UFPE)

DEDICATÓRIA

Ao meu querido filho Daniel, pelo encorajamento tão importante na trajetória desta conquista, a qual lhe dedico como exemplo de determinação e perseverança.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais João Soares e Maria Eroita pelo esforço e dedicação na educação dos filhos.

Aos meus irmãos: João Soares, Raul Antônio (*in memorian*), Pedro, Fernando, Vanilda e Valéria pelo companheirismo e amizade.

Ao meu esposo Ricardo pela confiança e apoio.

À minha avó Isabel Mascena Amorim (*in memorian*) e as minhas tias Acidália, Luzinete e Gianete (*in memorian*) pela colaboração na minha formação e educação.

Aos meus tios e primos pelo incentivo.

À Prof^a. Maria Eduarda de Lazarrabal pelo apoio e dedicação na orientação deste trabalho.

À Bióloga Ester Baía Lopes da Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina – FATMA, pela valiosa colaboração no transcorrer deste estudo.

Ao Ex-Diretor da Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – CPRH, Dr. Edrise Aires pelo apoio e concessão ao curso de mestrado.

À Diretoria da Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos - CPRH, nas pessoas de: Dr. Tito Lívio de Barros e Souza, Geraldo Miranda Cavalcante, Aldir Pitt da Mesquita Pimentel, Paulo Ricardo Pereira Coelho e Berenice Vilanova de Andrade e Lima, pelo incentivo, apoio e concessões necessárias no transcorrer do curso de mestrado.

Ao Engenheiro Agrônomo Nelson Maricevich, pelo apoio na revisão do abstract.

À Coordenação do Curso de Mestrado Gestão e Política Ambiental, na pessoa da Prof^a. Maria do Carmo Martins Sobral pelo apoio, incentivo e estímulo.

Ao Prof^o Joaquim Correia Xavier de Andrade Neto (*in memorian*) pelos ensinamentos.

Aos queridos colegas do curso, pela troca de experiências e as boas amizades que ficaram.

À Bióloga Nailza Arruda, pela boa amizade firmada ao longo desses anos.

À Secretaria do Mestrado na pessoa de Solange de Paula Lima e demais servidores, pelo apoio e gentileza sempre que solicitei ajuda.

Aos professores do Mestrado, pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos.

Ao Geógrafo Luiz Augusto Clemente da Silva pelo apoio na confecção do mapa temático.

À bibliotecária Maria Madalena Barbosa de Albuquerque, pela valiosa revisão bibliográfica.

À Engenheira Joana Aureliano pelas valiosas colaborações e ensinamentos.

Ao Biólogo Diogo Pereira de Mendonça pela valiosa transferência de conhecimentos e apoio.

A Supervisão do Laboratório da CPRH, na pessoa da Engenheira Química Maria Cândida Portela, pelo apoio e colaboração nos trabalhos realizados ao longo deste estudo.

Ao Laboratório de Físico-Química pela colaboração e apoio.

Ao setor de coleta de amostras da CPRH nas pessoas da Química Industrial Mayelbe Brandão, pelo apoio, dedicação e competência nas coletas e trabalhos de campo.

À Carla do Nascimento, pelo apoio e colaboração nos trabalhos de formatação deste estudo.

Ao Laboratório de Ecotoxicologia nas pessoas das biólogas Maria do Carmo Silva Ferreira e Ana Cristina Marques Bandeira Santiago pela realização dos testes de toxicidade parte deste estudo.

Em especial a Bióloga Ana Cristina Marques Bandeira Santiago pelas valiosas colaborações na formatação deste trabalho, sempre com muita dedicação e solicitude.

Ao Laboratório de Bacteriologia nas pessoas de Izabel Félix Vitalino, Lindalva Félix dos Santos, José Clímaco Ribeiro e da Bióloga Sandra Maria Félix, pelo apoio e colaboração.

À Bióloga Jussara Moscoso de Araújo, pelo apoio, colaboração e conforto nas horas mais difíceis.

As secretárias do laboratório Vera Lúcia Holanda e M^a do Carmo Figueiredo pelo apoio e colaboração.

Ao Eng^o Agrônomo Valdecy de Farias Filho pela troca de idéias e experiência.

A Arquiteta Lúcia Helena Santos Marinho com seus apoios e estímulos inesquecíveis.

À Bióloga Maria Vileide de Barros Lins pelo estímulo valioso nesta trajetória.

Ao Engenheiro Químico Zanoni Ribeiro de Araújo pela colaboração e presteza sempre que solicitado.

Agradeço a todos que de uma forma direta ou indireta contribuíram para elaboração deste estudo.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	Pág. vi
AGRADECIMENTOS	vii
LISTAS DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE QUADROS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Ecotoxicologia Aplicada à Gestão Ambiental	21
1.2 Relevância dos Bioensaios para Avaliação da Qualidade Ambiental	22
2. OBJETIVO GERAL	24
2.1 Objetivos específicos	24
3. MATERIAL E MÉTODO	25
3.1 Descrição da área de estudo	25
3.2 METODOLOGIA	38
3.2.1 Em campo	38
3.2.2 Em laboratório	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5. CONCLUSÃO	68
6. RECOMENDAÇÕES	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Fig. 01. Localização da Bacia do Rio Ipojuca, Pernambuco, Brasil e as Unidades de Planejamento Hídrico (UP)	26
Fig. 02. Bacia do rio Ipojuca	28
Fig. 03. Localização dos postos fluviométricos na bacia do rio Ipojuca	31
Fig. 04. Variação pluviométrica no Município de Poção, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	33
Fig. 05. Variação pluviométrica no Município de Sanharó, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	34
Fig. 06. Variação pluviométrica no Município de Belo Jardim, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	34
Fig. 07. Variação pluviométrica no Município de Caruaru, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	35
Fig. 08. Variação pluviométrica no Município de Gravatá, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	36
Fig. 09. Variação pluviométrica no Município de Primavera, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	36
Fig.10. Variação pluviométrica no Município de Ipojuca, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004	37
Fig. 11. Diagrama unifilar da bacia do rio Ipojuca	39
Fig. 12. IP -26 – Rio Bitury à jusante de Belo Jardim	39
Fig. 13. IP-39 – Rio Ipojuca à montante de Caruaru	40
Fig. 14. IP - 49 - Rio Ipojuca à jusante de Caruaru	40
Fig. 15. IP -55 – Rio Ipojuca à montante de Gravatá	41
Fig. 16. IP - 64- Rio Ipojuca vista à montante do ponto de coleta à jusante da cidade de Chã Grande	41
Fig. 17. IP - 70 – Rio Ipojuca vista para o ponto na margem direita, à jusante da Usina União Indústria.	42
Fig. 18. IP- 85- Rio ipojuca vista à jusante da cidade de Escada	42
Fig. 19. IP – 90 -. Rio Ipojuca vista, à jusante da Usina Ipojuca	43
Fig. 20. IP – 95- Rio Ipojuca vista, à jusante da Usina Salgado.	43
Fig. 21. Cultura de fotobactéria <i>Vibrio fischeri</i>	45
Fig. 22. Estoque de bactérias armazenada no freezer	47
Fig.23. Procedimento de preparo das diluições do teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i> , seguindo o esquema de diluição Geométrica.	48
Fig.24. Procedimento de preparo das diluições do teste de toxicidade aguda <i>Vibrio fischeri</i> , seguindo o esquema de diluição de Variante G1	48
Fig.25. Seqüência de distribuição da suspensão teste, diluições e de leitura no LUMISTox	49
Fig. 26 a. Equipamento LUMISTox constituído por um luminômetro com unidade integrada de comando e medição	50
Fig.26 b. Equipamento LUMISTox com termoblocos (incubadoras)	50
Fig.27. Recipiente contendo amostra e solução de diluição (NaCl) em banho de gelo	51
Fig.28. Descongelamento da solução de reconstituição em banho-maria	51

Fig.29.	Transferência da solução de reconstituição para o frasco a ser incubado no termoblocos	52
Fig.30.	Incubação da solução de reconstituição no termoblocos	52
Fig.31.	Retirada da solução de reconstituição	53
Fig.32.	Colocação da solução de reconstituição na suspensão de bactérias.	53
Fig.33.	Descongelamento da suspensão de bactérias	54
Fig.34.	Transferência da solução-controle para cubeta B1	54
Fig. 35.	Transferência da solução-controle para C1	55
Fig.36.	Cubetas posicionadas no termobloco para a execução da leitura final do teste	55
Fig.37.	Colocação da cubeta – teste no luminômetro para realização da leitura final do teste	56
Fig.38.	<i>Daphnia magna</i> utilizada em testes de toxicidade aguda com microcrustáceo.	58
Fig.39.	Cultivo de <i>Daphnia magna</i> na incubadora	59
Fig.40.	Início do processo de separação dos indivíduos jovens de <i>Daphnia magna</i> de até 24 h de vida	60
Fig.41.	Separação dos indivíduos jovens de <i>Daphnia magna</i>	60
Fig.42.	Preparação para realização dos testes de toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i>	61
Fig. 43.	Cultivo de algas <i>Senedesmus subspicatus</i> utilizadas para alimentação de <i>Daphnia magna</i>	61
Fig. 44.	Valores médios de FT_F obtidos para os diferentes pontos de coleta da rede de monitoramento do rio Ipojuca – PE	64
Fig. 45.	Valores de FT_D obtidos para os diferentes pontos de coleta da rede de monitoramento do rio Ipojuca - PE	65

LISTA DE TABELAS

		Pag.
TABELA I	Estações de amostragem da rede de monitoramento da bacia do rio Ipojuca	38
TABELA II	Calculo do ajuste da salinidade	46
TABELA III	Valores do Fator de Toxicidade FT_F para testes com fotobactérias (<i>Vibrio fischeri</i>)	66
TABELA IV	Valores do Fator de toxicidade FT_D para testes com microcrustaceo (<i>Daphnia magna</i>).	67

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Bacia hidrográfica do rio Ipojuca nas mesorregiões de Pernambuco.	Pag. 25
QUADRO 2	Relação dos Municípios e áreas Municipais inseridas na bacia do rio Ipojuca.	29
QUADRO 3	Carga poluidora orgânica da bacia do rio Ipojuca.	32

RESUMO

A Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) Nº 357/2005 que revogou a de Nº 20/1986, estabelece a avaliação e classificação da qualidade das águas, passou a ser exercida pelos órgãos ambientais baseada nas análises físicas, químicas, biológicas e pelos testes de toxicidade crônica e aguda. Deste modo, torna-se possível o conhecimento do efeito tóxico das substâncias lançadas na água, fato esse de grande relevância na constatação de casos de poluição hídrica. Este estudo teve por finalidade utilizar os testes de toxicidade aguda com fotobactérias (*Vibrio fischeri*) e microcrustáceos (*Daphnia magna*) no monitoramento da qualidade das águas da bacia hidrográfica do rio Ipojuca, PE. As amostras para a realização dos testes foram coletadas bimensal, utilizando-se frascos de polietileno, entre outubro de 2002 e outubro de 2004, em 9 estações preestabelecidas pelo Programa de Monitoramento de Bacias Hidrográficas do Estado de Pernambuco. Os resultados obtidos mostram que, das cento e oito amostras avaliadas, vinte e três (12%) apresentaram toxicidade aguda. Da totalidade de estações de amostragem, três apresentaram toxicidade aguda para fotobactérias e duas toxicidade aguda para microcrustáceos, enquanto que quatro estações não apresentaram resposta aos testes realizados. Foram evidenciadas três áreas consideradas tóxicas, sendo as de maior toxicidade as estações IP-26 e IP-49, localizadas no rio Bitury, principal afluente do rio Ipojuca, à jusante do município de Belo Jardim e rio Ipojuca, à jusante da cidade de Caruaru, respectivamente. Os resultados ressaltam a importância da inclusão dos testes de toxicidade na avaliação da qualidade das águas superficiais, contribuindo desta forma na orientação das medidas de controle a serem adotadas.

Palavras-chave: Toxicidade, Fotobactérias, Microcrustáceos, Monitoramento.

ABSTRACT

The water quality evaluation described by the Resolution N° 357/05 of National Council of Environmental (CONAMA), that revoked the N° 20/86, established that the Environmental Agencies measured the water quality through physical, chemical, biological analysis and chronic and acute toxicities tests. By these testes is possible to know the toxic effect of substances thrown in the water, and important in the investigation of hydric pollution. This research was carried out to assess the acute toxicity testes with luminous bacteria (*Vibrio fischeri*) and microcrustaceon (*Daphnia magna*) in the Quality Program of Monitoring of Hydrographic Catchment of Ipojuca River – PE. Samples were collected bimonthly, from October 2002 to October 2004 in 9 station of Monitoring Program of Hydrographic Catchments of State of Pernambuco. The results obtained showing that the evaluation from 198 samples, 23 samples (12%) showing acute toxicity. The total of samples stations, 3 showing acute toxicity to luminous bacterias and 2 samples showing acute toxicity to microcrustaceon, while 4 station did not give some answer for the tests. Three areas toxics were found, however there are two areas more toxic IP-26 e Ip-49, Bitury river main tributary of Ipojuca River, downstream of Belo Jardim city, and Ipojuca river, downstream of Caruaru city, respectively. The results give emphasize for the significance of the toxicity tests for the evaluation of quality of water, from this give the orientation of the control measure to be adopted.

Keywords: Toxicity, luminous bactéria, microcrustaceon, monitoring

1- INTRODUÇÃO

Com a Revolução Industrial, observa-se um aumento brusco da capacidade humana em modificar o meio ambiente. Verifica-se desta forma que o homem ao promover alterações, muitas irreversíveis, contribui inclusive, para extinção de espécies e modificações dos processos naturais. Assim, após esse período um grande número de substâncias químicas têm sido lançada nos ecossistemas aquáticos, cuja contaminação gerada pela toxicidade das mesmas, é atualmente um dos mais graves problemas ambientais, causando danos às biocenoses por produtores (algas, vegetais), consumidores (predadores) e decompositores (bactérias).

Por outro lado, destaca-se também a importância dessa contaminação, cuja relação está ligada diretamente com a saúde humana, podendo causar efeitos adversos à toda biota.

Diante desse contexto é que surgiu a ecotoxicologia aquática, e que segundo Butler (1978), é a Ciência, que se preocupa com os efeitos tóxicos de agentes químicos e físicos sobre os organismos vivos, especialmente sobre populações e comunidades em ecossistemas definidos, incluindo os destinos e interações desses agentes no ambiente.

Nos estudos ecotoxicológicos são utilizados os tradicionais testes de toxicidade, usualmente desenvolvidos em laboratórios, consistindo na exposição dos organismos a várias concentrações do agente químico ou a várias diluições do agente teste, durante períodos de exposição predefinidos.

Nesses testes são utilizados organismos pertencentes a diferentes grupos taxonômicos, representantes típicos de uma biocenose aquática tais como: algas, bactérias, microcrustáceos e peixes.

Os referidos testes podem receber as denominações de testes de toxicidades Agudas ou Crônicas. O efeito agudo caracteriza-se por uma resposta será e rápida a um estímulo, a qual se manifesta nos organismos aquáticos, em geral num intervalo de 0 a 96 horas (Rand & Petrocelli, 1985). Usualmente, o efeito observado é a letalidade ou alguma outra manifestação que antecede, tal como o estado de imobilidade em alguns microcrustáceos. O efeito crônico é traduzido pela resposta ao estímulo que continua por longo

tempo, normalmente por períodos que vão de 1/10 do ciclo vital até a totalidade da vida do organismo (Rand & Petrocelli, 1985). Esse efeito geralmente é observado quando concentrações de agentes tóxicos afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, como: a reprodução, o crescimento, o comportamento, etc.

Os resultados podem ser expressos em: CL ou CE50 (concentração letal ou concentração efetiva mediana) para avaliação de efeitos agudos; CENO (Concentração de Efeito não Observado) para avaliação de efeitos crônicos; FD (Fator de Diluição para o qual não ocorre lesão ou morte) FDp, FDd, FDa e FDb, refere-se a testes com peixes, microcrustáceos (a exemplo da *Daphnia magna*), algas e bactérias, respectivamente (Knie e Lopes, 2004).

A maior parte das águas correntes está sujeita, por um lado, a múltiplos usos antropogênicos e, por outro lado, a exigências ecológicas legítimas. Em relação a questões e planejamentos referentes ao gerenciamento dos recursos hídricos e à proteção da natureza, são imprescindíveis descrições da situação da qualidade das águas, tanto para rios em condições naturais, como também para águas correntes de uso intensivo. O conhecimento do efeito de substâncias lançadas na água tem grande importância nos casos de poluições hídricas excepcionais e em situações de acidentes. Neste contexto é que o controle de poluição das águas do Estado de Pernambuco vem, desde mais de duas décadas, sendo exercido com base em parâmetros determinados, quer físicos, químicos ou microbiológicos, tendo-se já conseguido o diagnóstico da situação de poluição das águas e o equacionamento com bons resultados, das cargas poluidoras industriais, à parte os problemas causados pelo lançamento, sem tratamento adequado, da maior parte dos esgotos domésticos nos corpos d'água.

O controle de agentes tóxicos lançados nas águas é de grande importância nos casos de poluição dos corpos d'água, podendo ser detectado mediante a realização de testes de toxicidade, daí a necessidade dos mesmos serem inseridos como um instrumento indispensável para um controle mais abrangente das fontes poluidoras águas.

Em estudos de qualidade da água, os referidos testes são úteis para avaliar os efeitos da presença de substâncias que causam efeitos tóxicos no corpo receptor. Estes testes contribuem para prevenir riscos à saúde humana,

proteger os ecossistemas, documentar o estado atual da qualidade da água e para determinação de pontos críticos de poluição por substâncias tóxicas.

A importância e aplicação dos resultados de testes de toxicidade na avaliação de impactos ambientais é auxiliar juntamente com o estudo de outros parâmetros na classificação e elaboração do plano de manejo de bacia hidrográfica, subsidiando a determinação de critérios específicos para o lançamento de efluentes industriais, resíduos sólidos e outros materiais tóxicos, gerados ou depositados na área da bacia.

Os vários estudos desenvolvidos no Brasil demonstram que os testes de toxicidade são instrumentos imprescindíveis, tanto no monitoramento da qualidade das águas, bem como na previsão de impacto de efluentes líquidos.

A Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco – CPRH, que realiza a avaliação e classificação da qualidade das águas das principais bacias hidrográficas estaduais mediante análises de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, passou a partir de 2001 a controlar e monitorar os agentes tóxicos nos corpos d'água e efluentes líquidos, não só pelos parâmetros referidos anteriormente, como também, complementarmente por testes de toxicidade aguda como mais uma ferramenta de controle e monitoramento ambiental. Os países desenvolvidos, já vêm utilizando estes procedimentos, no contexto internacional, a exemplo dos Estados Unidos pela “Environmental Protection Agency-EPA” (E. P. A.,1992), na Alemanha Promulgation of the amendment to the waste water charge act. (Berlim, 1990), e no Brasil pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA (IBAMA, 1990), pela Companhia Estadual de Tecnologia Ambiental – CETESB em São Paulo (CETESB – 1990), pela Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente – FEEMA no Rio de Janeiro (FEEMA, 1990), pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental – FEPAM no Rio Grande do Sul (FEPAM, 1992), pelo Instituto Ambiental do Paraná – IAP no Paraná (IAP, 1999) e pela Fundação do Meio Ambiente – FATMA em Santa Catarina (FATMA, 1998).

1. 1- ECOTOXICOLOGIA APLICADA À GESTÃO AMBIENTAL

A humanidade tem um grande desafio de gerir de forma sustentável os recursos hídricos do planeta. O consumo atual, agravado pela demanda de bilhões de seres vivos, pela degradação ambiental e pelo desperdício vem merecendo cuidados especiais, a fim de evitar um futuro caótico à vida das gerações futuras.

Para minimizar esses problemas ambientais e sócio-econômicos, é necessário desenvolver uma gestão integrada dos recursos hídricos, e para tal são necessários instrumentos adequados, como o conhecimento técnico sobre fatores bióticos e abióticos que regem o funcionamento de um ecossistema.

Neste caminho, os testes de toxicidade aguda constantes no presente estudo, têm sido aplicados em diversos países há muitos anos na rotina dos Órgãos Ambientais, no âmbito do licenciamento e de fiscalização de atividades potencialmente causadoras de poluição, bem como do monitoramento da qualidade das águas (Knie e Lopes, 2004). Os referidos testes utilizados nestes estudos foram um instrumento muito importante para avaliação dos efeitos tóxicos da água. Os resultados obtidos fundamentam a importância e a necessidade de que o controle de efluentes líquidos industriais no Estado de Pernambuco seja realizado mediante condutas mais amplas e abrangentes, adotando-se métodos disponíveis e que se complementem.

A sistemática de ação adotada pela Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – CPRH, está respaldada na referência legal que consta a Resolução de nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, que revogou a Resolução CONAMA Nº 20 de 18 de junho de 1986, a qual dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências.

1. 2- A RELEVÂNCIA DOS BIOENSAIOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL.

A entrada de substâncias químicas por intermédio de efluentes industriais, domésticos ou agropecuários e de chorume de variadas procedências nas águas, tem acarretado modificações do estado químico, físico e biológico das mesmas. Prejudicando dessa forma, tanto a preservação dos ecossistemas aquáticos, quanto o fornecimento de água de boa qualidade à população.

O controle da qualidade da água integra a análise do meio ambiente, e é efetuada de duas formas distintas, contudo complementares. Uma é a análise físico-química, responsável pela identificação e quantificação de substâncias. A outra é a análise biológica cuja importância é crescente e se volta para os efeitos produzidos por essas substâncias.

Nas análises biológicas destacam-se a microbiologia que se ocupa, principalmente, na pesquisa de microrganismos patogênicos, a limnologia que fornece informações sobre transformações do ecossistema aquático em longo prazo, enquanto que a ecotoxicologia revela, através dos bioensaios, efeitos agudos ou crônicos produzidos por substâncias químicas.

Em decorrência do número e variedades de poluentes químicos que potencialmente podem atingir o ambiente aquático, as análises químicas são limitadas apenas se restringindo a quantificação das substâncias mensuráveis. De uma forma geral, os resultados das referidas análises não permitem uma avaliação dos efeitos das substâncias sobre os seres vivos. Essa deficiência nas análises físico-químicas ambientais é preenchida pelos métodos biológicos de medição, especificamente com os testes ecotoxicológicos, que deu ao controle da qualidade das águas outra dimensão.

A análise ecotoxicológica tem por finalidade saber se, e em que dimensão, as substâncias químicas, isoladas ou a mistura delas, são nocivas, como e onde se manifestam seus efeitos. Em princípio, esses efeitos somente se manifestam em matéria viva. Os sistemas vivos sejam eles organismos inteiros ou parte deles (células, por exemplo), respondem a todas as intervenções e perturbações diretas e indiretas, causadas por substâncias nocivas, com reações específicas a cada espécie. Em muitos organismos, tais

reações são nitidamente visíveis ou bem mensuráveis, tornando-os habilitados a serem utilizados como indicadores biológicos para medição dos efeitos tóxicos. Contudo, não existe nenhum organismo que apresente sensibilidade igualmente a todas as substâncias que podem potencialmente estar presentes na água, mais de onze milhões estão registradas junto ao Chemical Abstracts Service (CAS). Portanto, recorre-se a espécies dos diferentes níveis tróficos, às quais pertencem genericamente representantes dos decompositores as bactérias, dos produtores primários, as algas, dos consumidores entre os metazoários, os microcrustáceos e consumidores finais, os peixes. Somente pode-se detectar os efeitos de toda a gama de substâncias tóxicas, mediante uma bateria de testes, incluindo várias espécies.

No decorrer da evolução dos estudos referentes aos testes ecotoxicológicos, que se estendeu por várias décadas, implantou-se alguns bioensaios que hoje são parte integrante de qualquer laboratório ecotoxicológico, destacando-se alguns exemplos como: os testes com as bactérias *Pseudomonas putida* e *Photobacterium phosphoreum* (*Vibrio fischeri*), as algas *Scenedesmus subspicatus* ou *Selenastrum capricornutum*, os microcrustáceos *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* além dos peixes *Danio rerio* (paulistinha) e *Pimephales promelas*.

Os bioensaios realizados com os referidos organismos, foram padronizados internacionalmente, pela Organization for Economic Co - operation and Development (OECD). Acontecimento esse da maior importância uma vez que promoveu a harmonização dos bioensaios o que possibilita uma aplicação uniforme das metodologias de testes mundialmente, assegurando resultados comparáveis entre os vários laboratórios.

Com a aplicação dos testes ecotoxicológicos, são fornecidas informações e indicações sobre os possíveis riscos e alterações prejudiciais ao meio ambiente, desta forma, servindo como sistemas preventivos de proteção e alerta à conservação da vida aquática.

2- OBJETIVO GERAL:

Utilizar os testes de toxicidade aguda como mais um instrumento eficiente de controle e monitoramento ambiental, complementando os parâmetros físico-químicos, químicos e microbiológicos.

2. 1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Medir a toxicidade aguda para *Vibrio fischeri* (fotobactérias), *Daphnia magna* (microcrustáceos) nos pontos da rede de monitoramento das Bacias Hidrográficas da CPRH.

- Avaliar a qualidade das águas do rio Ipojuca decorrente da presença de agentes tóxicos, indicando as áreas de maior comprometimento.
- Verificar de que modo e em que extensão essas águas apresentam-se adequadas para atender as duas finalidades preponderantes a que se destinam: abastecimento público e a preservação da vida aquática.
- Elaborar mapa temático de qualidade das águas definindo as zonas consideradas tóxicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1- DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO:

LOCALIZAÇÃO:

A bacia do rio Ipojuca drena as mesorregiões do Estado, em áreas do Sertão, Agreste, Mata e região Metropolitana do Recife. Está localizada entre os paralelos 8°9'50" e 8°40'20" de latitude sul e os meridianos 34°57'52" e 37°02'48" de longitude oeste. (Quadro 1)

Quadro 1. Bacia hidrográfica do rio Ipojuca nas mesorregiões de Pernambuco.

	Mata/RMR		Agreste		Sertão		Total	
	Km ²	%	Km ²	%	Km ²	%	Km ²	%
Bacia do Rio Ipojuca	660	19,0	2767	78,5	87	2,5	3.514	100

Fonte: PQA / COTÉCNICA, 1997 (modificado).

Limites: A bacia do rio Ipojuca limita-se ao norte com a bacia hidrográfica do rio Capibaribe e pela GL2 (grupo de pequenas bacias de rios litorâneos), ou seja, as bacias dos rios Jaboatão e Pirapama. Ao sul, com as bacias hidrográficas dos rios Una e Sirinhaém, a oeste pela bacia do rio Ipanema e ao leste pelo Oceano Atlântico. De acordo com o Plano Estadual de Recursos Hídricos de Pernambuco- PERH/PE, constitui a unidade de planejamento UP3.

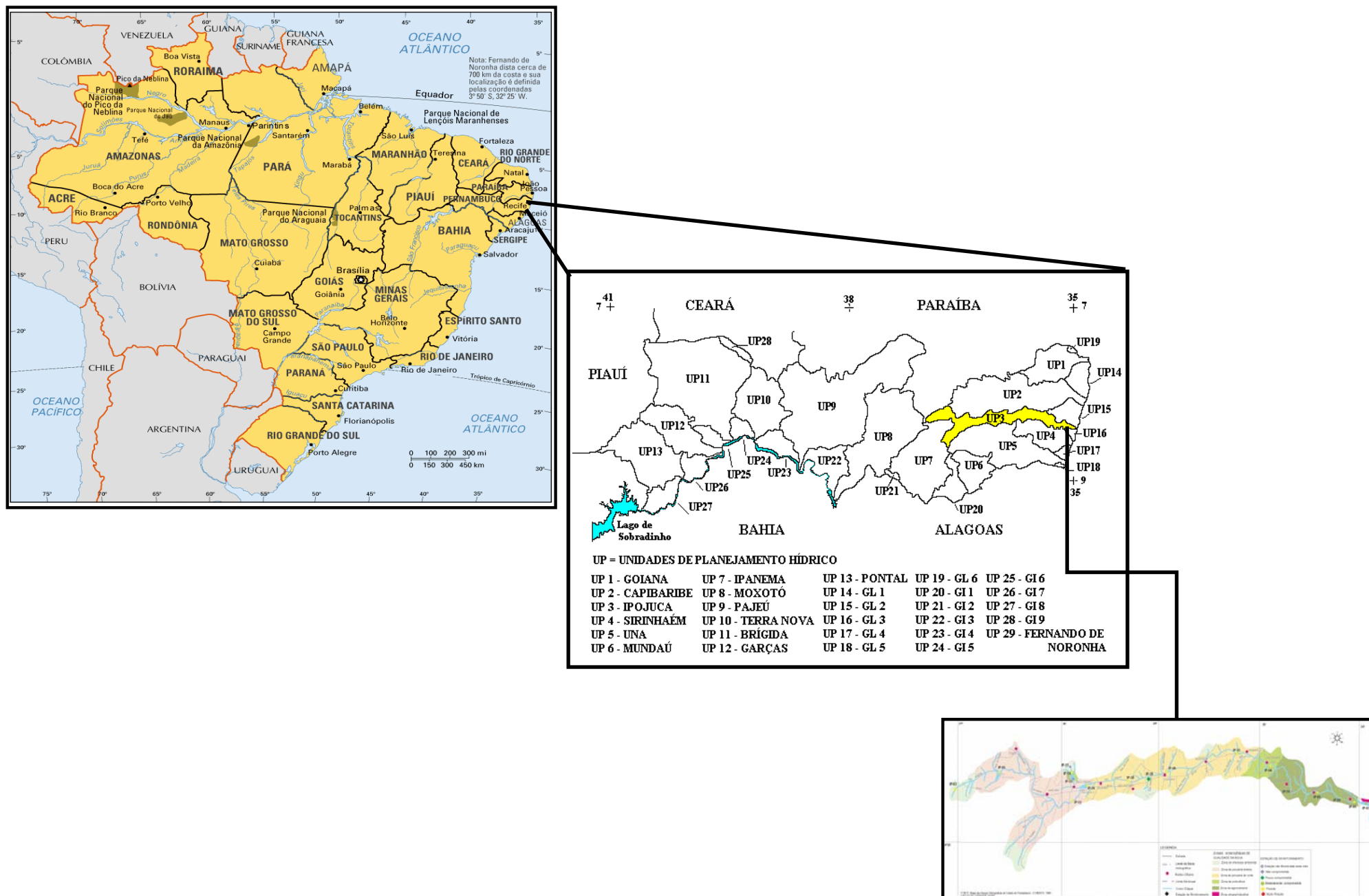


Figura 1. Localização da Bacia do Rio Ipojuca , Pernambuco, Brasil e as Unidades de Planejamento Hídricos (UP) . Fonte : PERH-PE 2002.

Rede Hidrográfica:

A bacia do rio Ipojuca tem forma alongada, é considerada a segunda maior bacia do Estado de Pernambuco, com uma área de 3.514,35 km² de extensão, cujo principal curso d'água é o rio Ipojuca com suas nascentes nas encostas da Serra do Pau D'Arco, no município de Arcoverde, na divisão dos Estados de Pernambuco e Paraíba. É um rio considerado intermitente desde a sua nascente até as proximidade de Caruaru, e daí em diante torna-se perene. Seus principais afluentes pela margem direita são os riachos Liberal, Papagaio, Pau Santo e o rio do Mel. Pela margem esquerda; os riachos Ângelo Novo, da Onça, dos Moços do Meio e da Pata Choca.

Na área da bacia estão localizados os reservatórios Pão de Açúcar Eng. Severino Guerra (Bitury), Manuino, Taquara, Pintada, Belo Jardim, Brejão, Menino Cipó, Serra dos Cavalos, G. de Azevedo, Caroá Poção, Jenipapo, Boa Vista e São Caetano. Como área de proteção da bacia encontra-se o Parque Ecológico João Vasconcelos Sobrinho.

Vinte e quatro municípios são banhados pela bacia, sendo eles: Alagoinha, Altinho, Amaraji, Arcoverde, Belo Jardim, Bezerros, Cachoeirinha, Caruaru, Chã Grande, Escada, Gravatá, Ipojuca, Pesqueira, Poção, Pombos, Primavera, Riacho das Almas, Sairé, Sanharó, São Bento do Una, São Caetano, Tacaimbó, Venturosa e Vitória de Santo Antão. Esses municípios comportam uma população de cerca de 570.000 habitantes, (sendo 461.620 hab. de zona urbana e 107.010 da zona rural), distribuída em uma área de 3.514,35 km² (Figura 2).

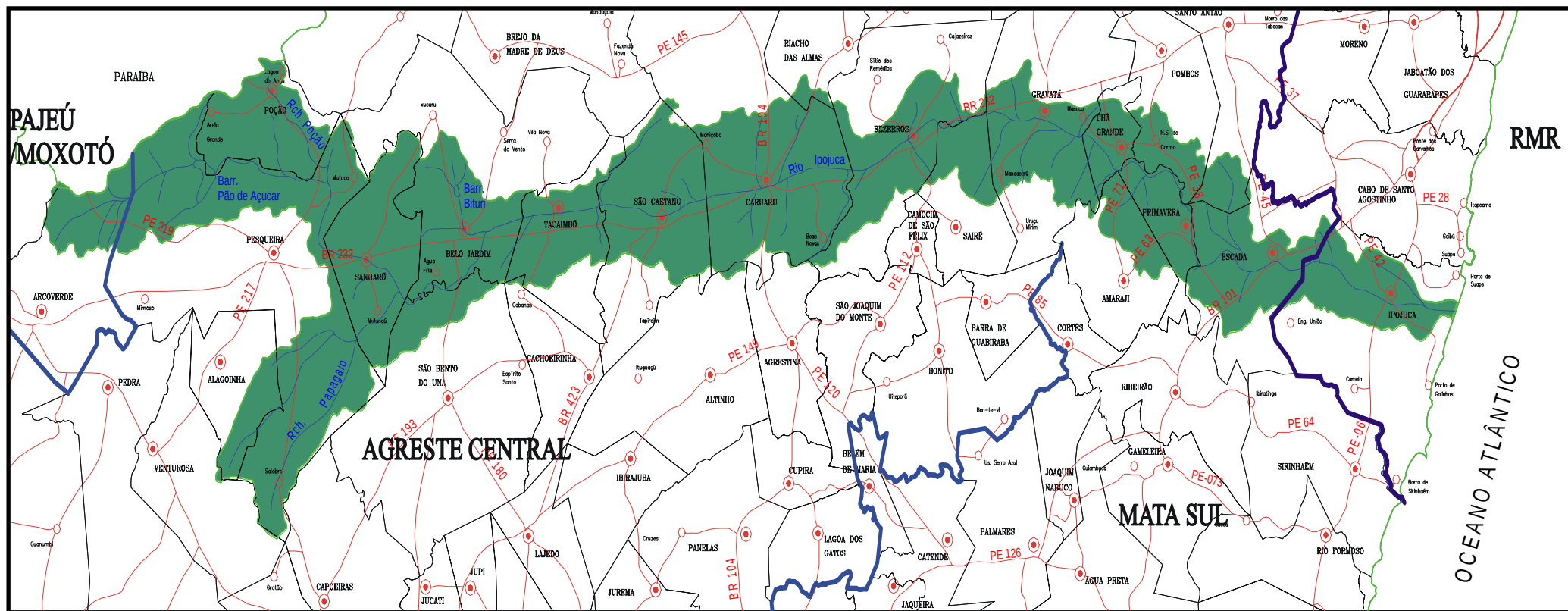


Figura 2. Bacia do rio Ipojuca. Fonte: CPRH – 2001.

Aproximadamente 81% dessa população localiza-se no meio urbano, destacando Caruaru, considerado principal município da bacia, tanto pelo seu contingente populacional com cerca de 42% ou 387,62 km² dos seus 920,610 km². Além de Caruaru, possuem suas sedes localizadas na zona urbana da bacia, os municípios de Belo Jardim, Bezerros, Chã Grande, Escada, Gravatá, Ipojuca, Poção, Primavera, São Caetano e Tacaimbó (Quadro 2).

Quadro - 2. Relação dos municípios e áreas municipais inseridas na Bacia do rio Ipojuca

MUNICÍPIOS	Sede Localizada na Bacia	Área do Município		
		Total (km ²)	Pertencente à Bacia	
			Km ²	%
Algoíinha		180.10	54.61	30.32
Altinho		452.60	6.70	1.48
Amaraji		238.80	60.89	25.50
Arcoverde		380.60	104.09	27.35
Belo Jardim	*	653.60	230.92	35.33
Bezerros	*	545.70	226.95	41.59
Cachoeirinha		183.20	1.81	0.99
Caruaru	*	932.00	387.62	41.59
Chã Grande	*	83.70	68.52	81.86
Escada	*	350.30	203.73	58.16
Gravatá	*	491.50	169.03	34.39
Ipojuca	*	514.80	150.84	29.30
Pesqueira		1.036.00	606.79	58.57
Poção	*	212.10	189.62	89.40
Pombos		236.10	66.51	28.17
Primavera	*	96.50	79.09	81.96
Riacho das Almas		313.90	8.19	2.61
Sairé		198.70	75.88	38.19
Sanharó	*	247.50	235.45	95.13
São Bento do Una		715.90	70.15	9.80
São Caetano	*	373.90	262.37	70.17
Tacaimbó	*	210.90	131.81	62.50
Venturosa		326.10	2.22	0.68
Vitória de Stº Antão		345.70	39.79	11.51
TOTAL	12	9.320.20	3.433.58	36.84

Fonte: CPRH- 2001.

O Plano Diretor de Recursos Hídricos da bacia do rio Ipojuca (Secretaria de Recursos Hídricos, 2001) divide a bacia em quatro unidades de análise denominadas: UA1, UA2, UA3 e UA4, levando em consideração a rede de drenagem, a divisão político-administrativa e as zonas fisiográficas. As três primeiras unidades formam a parte da bacia relacionada à região do Agreste, enquanto que a unidade UA4, corresponde à área da bacia, situada na Zona da Mata, incluindo a faixa litorânea.

A geologia e morfologia da bacia do Ipojuca é representadas por rochas cristalinas e cristalofilianas do tipo Pré-cambriano.

Geomorfologicamente, a área está situada no planalto da Borborema, apresentando características de um relevo movimentado com fortes ondulações. Apresenta os seguintes tipos de solo: Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, e Podzólico Vermelho Amarelo, que predominam nas zonas da Mata e RMR/Litoral e são caracterizados por serem profundos, porosos e acentuadamente drenados, de textura argilosa. No Agreste predominam solos dos tipos Regossolo, que são arenosos de médio a muito profundos e de fácil intemperização, e de solos do tipo Planossolo solódico, argiloso. Na parte final da bacia, em direção a foz do rio, o tipo de solo é halomórfico, representante típico do ecossistema Manguezal, sujeito a alagamentos decorrentes das oscilações das marés.

A vegetação dominante na bacia corresponde a zona fitogeográfica da caatinga, podendo ser considerada como uma “caatinga agrestina”, a qual se caracteriza pela presença de espécies xerófilas, decíduas, em grande número composta por espinhos, abundância de cactáceas e bromeliáceas. Nas áreas mais elevadas e expostas aos ventos ocorrem os “brejos de altitudes”, que são ecossistemas diferentes dos encontrados nas áreas mais baixas ou menos expostas, onde se observa a presença de floresta serrana, nas regiões mais úmidas, a vegetação é do tipo floresta perenifolia tropical atlântica (atualmente encontra-se bastante reduzida) e no litoral encontram-se espécies vegetais características de mangue.

A vegetação aquática flutuante que cobre a lâmina d'água da bacia hidrográfica do rio é predominantemente representada pelas *Eichornia crassipes* (Baronesa).

Os climas existentes na bacia são dos tipos BShs' e As' segundo Kuppen.

O primeiro é o semi-árido que abrange a área agrestina, exceto os "brejos", a temperatura média é em torno de 26°C. O segundo predomina na porção Litoral-Mata, e é um clima quente e úmido, apresentando temperatura média em torno de 24°C

Regime Fluvial: o rio Ipojuca tem nascentes no Sertão pernambucano; no agreste em que sua descarga provém totalmente do subsolo (vazão de base, originada de aquíferos subterrâneos de pequena espessura), a água é bastante salinizada.

Existem, ao longo do rio, quatro postos fluviométricos, atualmente monitorados pela Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais - CPRM.

Figura 3

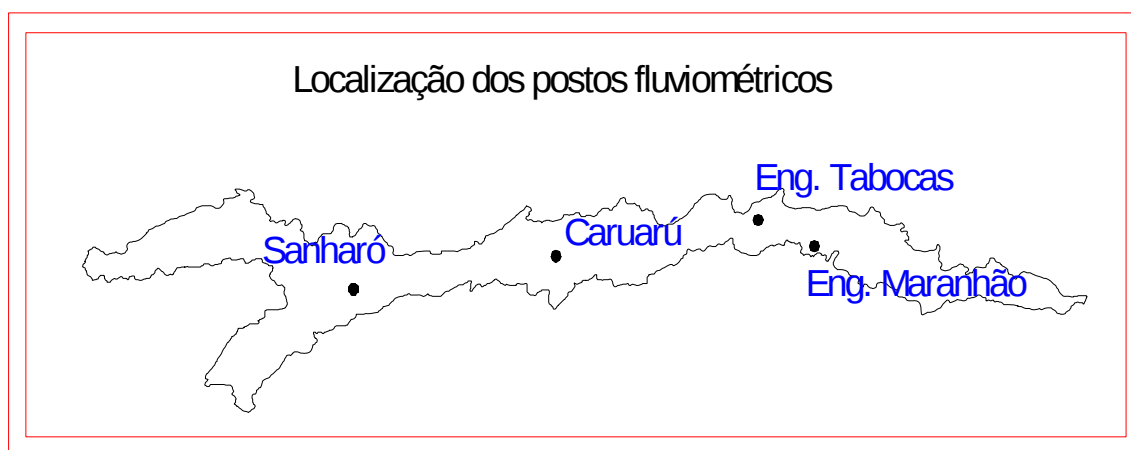


Figura 3. Localização dos postos fluviométricos na bacia do Rio Ipojuca.

Uso e Ocupação do Solo

O uso e ocupação do solo destacam as atividades desenvolvidas na bacia, indo desde a ocupação urbana, industrial, áreas de Mata Atlântica e Manguezal, à áreas de cultivo de cana-de-açúcar, policultura e pecuária.

Os usos da água encontrados na bacia são variados, podendo ser agrupados em: consumo humano/abastecimento público, recepção de

efluentes domésticos, agro-industrial e industrial, consumo animal, irrigação, limpeza e geração de energia. Este último é considerado o menos freqüente.

As atividades industriais encontradas na bacia destacam-se: Produtos alimentícios, minerais não-metálicos, sucroalcooleira, química, têxtil, metalúrgica, vestuários/ artefatos/ tecidos, couros, bebidas, produto farmacêutico/ veterinário, perfumes/sabões/velas, materiais elétrico/comunicação, calçados, matéria plástica, agropecuária e borracha.

As cargas potencialmente poluidoras existentes na área da bacia do rio Ipojuca são provenientes de esgotos domésticos não tratados, despejos industriais de natureza variada oriundos de processos que geram efluentes líquidos sem ou com tratamento insuficiente, do uso indiscriminado de agrotóxicos, agravando cada vez mais a qualidade da água desse corpo receptor (Quadro 3).

Quadro 3 - Carga poluidora orgânica da bacia do rio Ipojuca.

Fonte	Carga poluidora (t DBO _{5,20} / dia)	Carga remanescente	
		(t DBO _{5,20} / dia)	(%)
Doméstica	11,69	6,59	37,38
Industrial/Agro-industrial	82,51	11,04	62,62
Total	94,20	17,63	100

Fonte: SECTMA, 2000.

O rio Ipojuca apresenta, mesmo nos trechos de regime perene uma grande variação de nível d'água entre o período chuvoso e o de estiagem. Nas figuras de 4 a 10, são observadas as variações pluviométricas nos municípios de Poção, Sanharó, Belo Jardim, Caruaru, Gravatá, Primavera e Ipojuca, localizados na bacia do Ipojuca, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004, com relação a média histórica.

Evidencia-se para o município de Poção, no ano de 2002, período entre outubro e dezembro, que este último apresentou um índice pluviométrico acima da média histórica. Com relação ao ano de 2003, só o mês de fevereiro apresentou o referido índice acima desta média, o mesmo não acontecendo

para o ano 2004, onde os meses de janeiro, fevereiro e junho apresentaram valores dos índices pluviométricos bem acima da média histórica. Com exceção do mês de junho, que segundo o Plano Estadual de Recursos Hídricos (2000) corresponde ao período chuvoso nesse município. As chuvas ocorridas nos meses de janeiro e fevereiro podem ser consideradas como uma situação atípica.

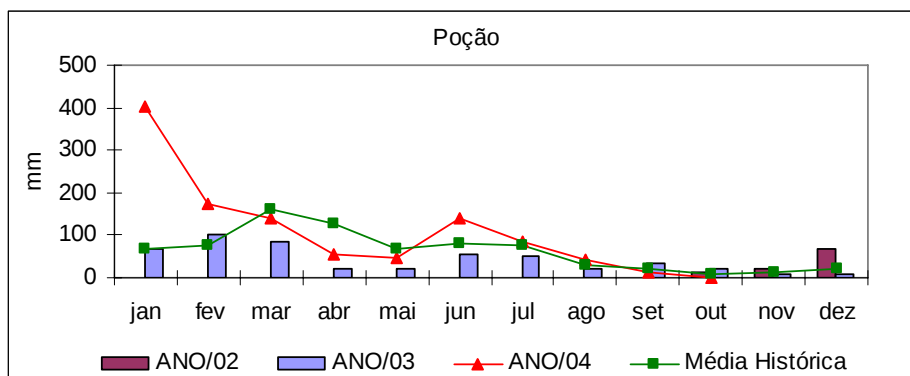


Figura 4. Variação pluviométrica no município de Poção, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE.

Para o município de Sanharó, o ano de 2002, período entre outubro e dezembro, o volume de chuvas foi bem abaixo da média histórica. No ano de 2003, nos meses de janeiro, fevereiro e setembro, apresentaram um índice pluviométrico acima dos valores da média histórica, o mesmo acontecendo no ano de 2004 para os meses de janeiro, fevereiro e julho, com exceção desse último, mês que corresponde ao período chuvoso nesse município segundo o Plano Estadual dos Recursos Hídricos (2000), os outros meses apresentaram um volume diferenciado de chuvas, sendo portanto, considerada uma situação não usual.

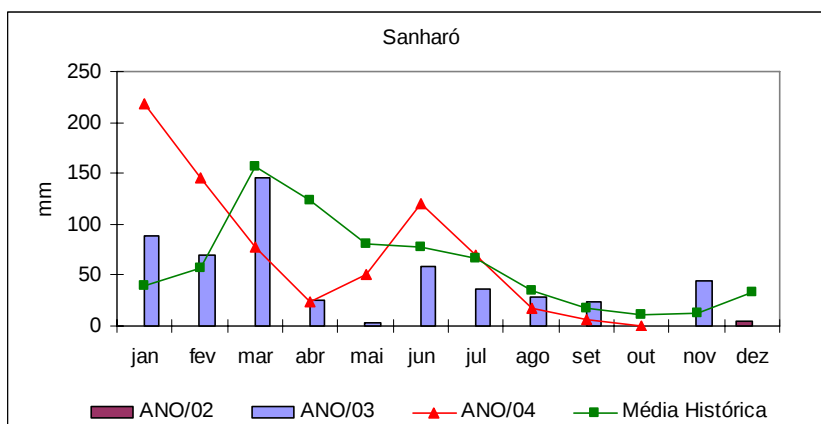


Figura 5. Variação pluviométrica no município de Sanharó, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE

Com relação ao município de Belo Jardim, evidenciou-se para o ano de 2002, período entre os meses de outubro a dezembro, valores do índice pluviométrico bem abaixo da média histórica, com destaque para os meses de outubro e novembro, onde o total de chuvas foi igual a zero. Para o ano de 2003, os meses de janeiro e setembro, apresentaram índices pluviométricos acima da média histórica. Em 2004, os meses de janeiro, fevereiro e julho, apresentaram valores dos índices pluviométricos acima da média histórica, exceto o mês de julho, que corresponde ao período chuvoso nesse município (Plano Estadual de Recursos Hídricos – 2002), nos outros dois meses (janeiro e fevereiro), caracterizou-se período de chuvas atípicas.

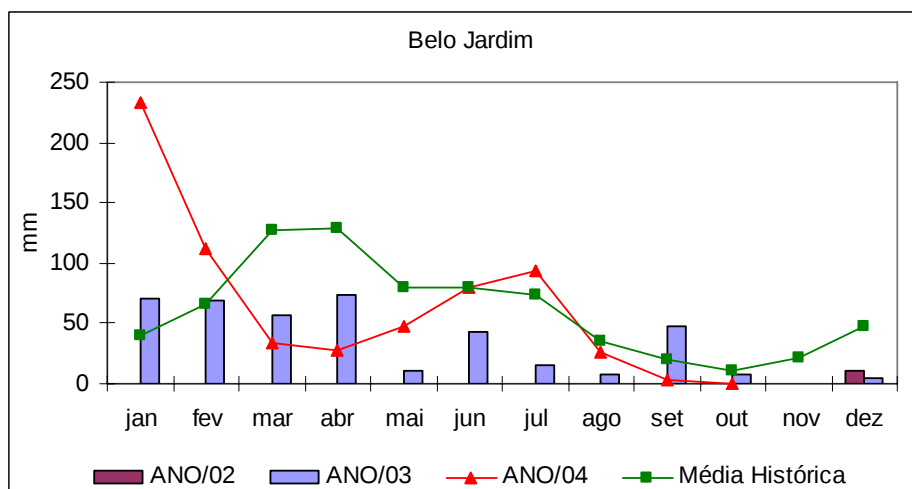


Figura 6. Variação pluviométrica no município de Belo Jardim, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE.

Para o município de Caruaru, no ano de 2002, período entre os meses de outubro a dezembro, foi evidenciado que apenas no mês de novembro, o índice pluviométrico foi superior aos valores da média histórica. Para o ano de 2003, os meses de fevereiro e setembro, apresentaram os valores dos referidos índices acima dos valores da média histórica. Para o ano de 2004, os meses de janeiro, fevereiro, junho, julho e setembro, apresentaram os valores dos índices pluviométricos bem acima dos da média histórica, destaque para os altos valores dos índices pluviométricos nos meses de janeiro e fevereiro nesse município, cujo período chuvoso segundo (Plano Estadual dos Recursos Hídricos – 2000), corresponde aos meses de março a julho.

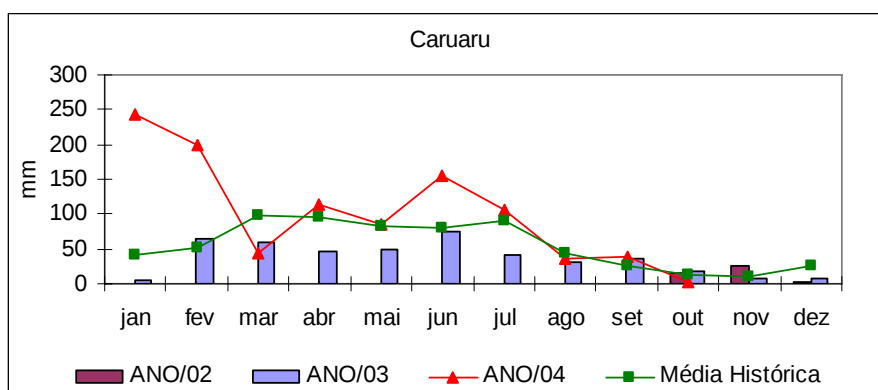


Figura 7. Variação pluviométrica no município de Caruaru, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE

No município de Gravatá, o ano de 2002, período compreendido entre os meses de outubro a dezembro, os valores dos índices pluviométricos se encontram abaixo da média histórica, com exceção do mês de novembro. Para 2003 os meses de fevereiro, março, junho, julho e setembro, apresentaram os valores dos índices pluviométricos acima da média histórica, no entanto para o ano de 2004, esses valores nos meses de janeiro, fevereiro, junho e julho, mostraram-se superiores a média histórica. Destaque para os altos índices pluviométricos nos meses de janeiro e fevereiro, já que os outros meses (junho

e julho) correspondem ao período chuvoso nesse município, segundo o Plano Estadual de Recursos Hídricos – 2000.

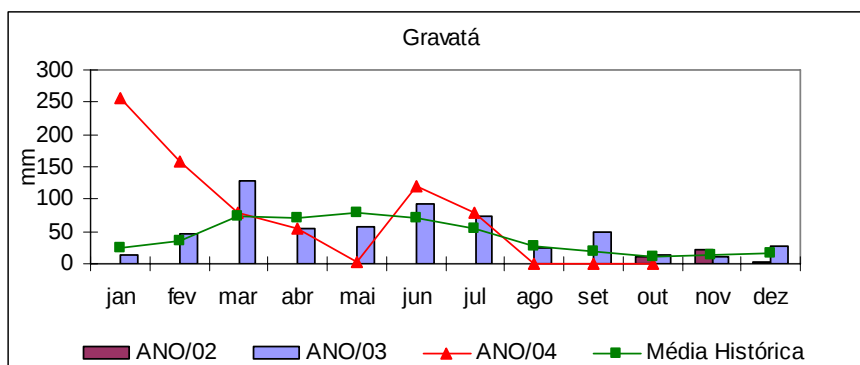


Figura 8. Variação pluviométrica no município de Gravatá, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE

Para o município de Primavera, o ano de 2002, no período compreendido entre os meses de outubro e dezembro, evidenciou-se que o mês de novembro apresentou os valores dos índices pluviométricos acima da média histórica. Para o ano de 2003, exceto o mês de setembro, todos os outros meses apresentaram os valores desses índices abaixo da média histórica. Em 2004, os meses de janeiro, fevereiro, junho, agosto e setembro, apresentaram os valores dos referidos índices acima dos valores da média histórica. O alto valor do índice pluviométrico no mês de junho, corresponde ao período chuvoso nesse município, segundo o Plano Estadual de Recursos Hídricos (2000).

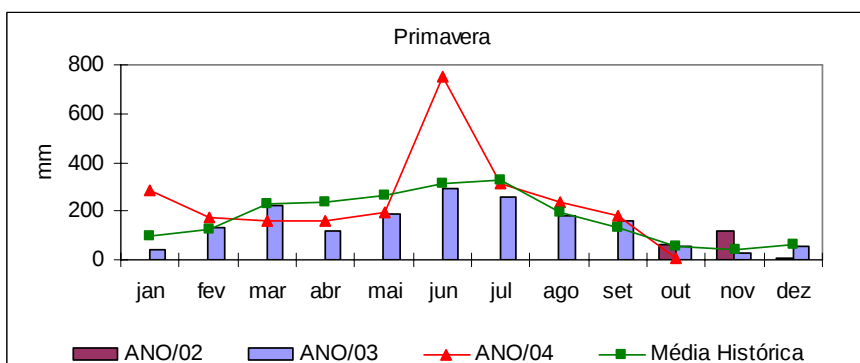


Figura 9. Variação pluviométrica no município de Primavera, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE

Para o município de Ipojuca, no ano de 2002, no período compreendido entre os meses de outubro e dezembro, os mesmos apresentaram os valores dos índices pluviométricos, com exceção do mês de novembro abaixo da média histórica. Para o ano de 2003, os meses de fevereiro, março e junho, apresentaram os valores dos índices pluviométricos acima dos valores da média histórica. Em 2004, os meses de fevereiro e junho apresentaram os valores dos índices pluviométricos acima da média histórica, o alto índice pluviométrico evidenciado no mês de junho nos anos 2003 e 2004 é decorrente do período chuvoso nesse município, segundo o Plano Estadual de Recursos Hídricos (2000) aos meses de março e agosto.

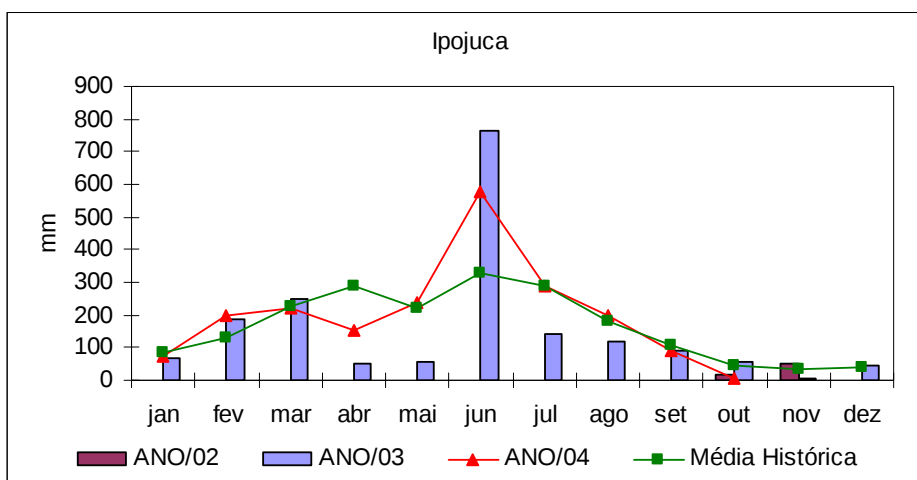


Figura 10. Variação pluviométrica no município de Ipojuca, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004. Fonte: Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP / Laboratório de Meteorologia de Pernambuco – LAMEPE

3.2 - METODOLOGIA

3.2.1 – EM CAMPO

As coletas das amostras referentes aos testes de toxicidade, foram realizadas ao longo do rio Ipojuca e no seu principal afluente o rio Bitury, integrantes da rede de Monitoramento da Qualidade dos Recursos Hídricos da Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco – CPRH, cujas estações de amostragens estão especificadas na Tabela I, Figuras 11 a 20.

Tabela I - Estações de amostragem da rede de monitoramento da Bacia do rio Ipojuca

Estação	Corpo d'água	Local	Coordenadas
IP-26	Rio Bitury	A jusante do antigo abatedouro Mafisa, na cidade de Belo Jardim.	UTM E 785408 UTM N 9076960
IP-39	Rio Ipojuca	A montante do Distrito Industrial de Caruaru passagem molhada de acesso ao Alto do Moura, na cidade de Caruaru.	UTM E 827407 UTM N 9081569
IP-49	Rio Ipojuca	A jusante da cidade de Caruaru, na Vila do Cedro (COAHB III), na cidade de Caruaru.	UTM E 176923 UTM N 9082926
IP-55	Rio Ipojuca	Na ponte da BR-232, a montante de Gravatá, no município de Gravatá.	UTM E 212576 UTM N 9091807
IP-64	Rio Ipojuca	Na ponte a jusante da cidade de Chã de Grande, no município de Chã Grande.	UTM E 230153 UTM N 9086934
IP-70	Rio Ipojuca	Na ponte a jusante da Usina União Indústria, no município de Primavera.	UTM E 241956 UTM N 9075493
IP-85	Rio Ipojuca	Na ponte BR-101 a jusante da cidade de Escada, no município de Escada.	UTM E 255645 UTM N 907284
IP-90	Rio Ipojuca	Na ponte PE-60 a jusante da Usina Ipojuca, no município de Ipojuca.	UTM E 272469 UTM N 9070386
IP-95	Rio Ipojuca	A jusante da Usina Salgado, no município de Ipojuca.	UTM E 278544 UTM N 9069156

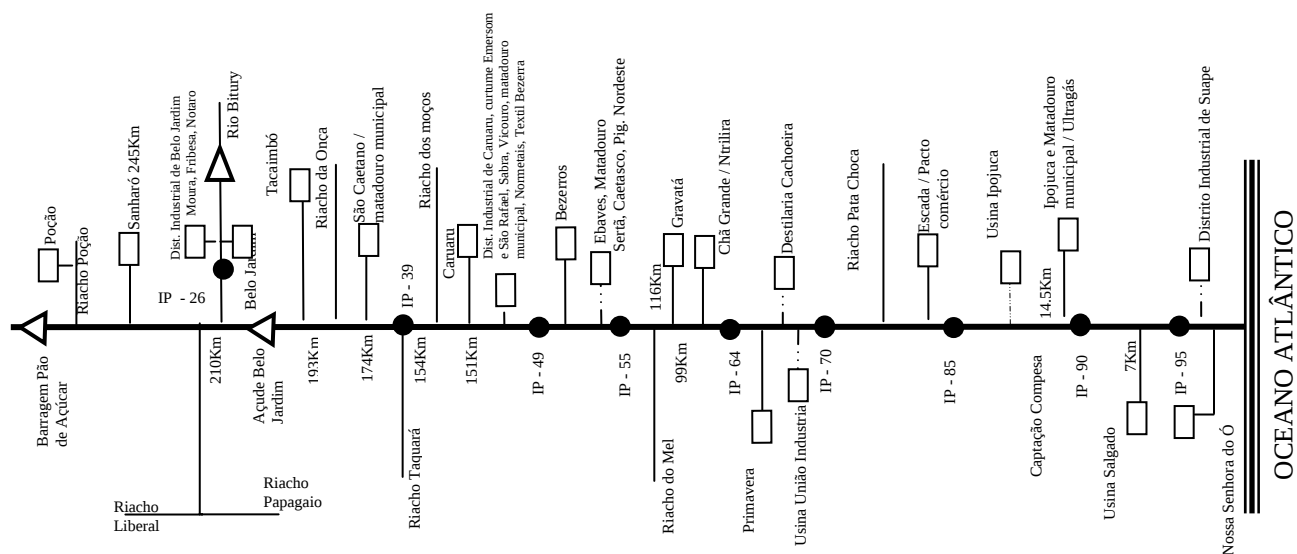


Figura 11 - Diagrama unifilar da Bacia do rio Ipojuca.

Fonte: Relatório do Monitoramento de Bacias Hidrográficas do Estado de Pernambuco – CPRH / 2004.



Figura 12. IP-26 – Rio Bitury à jusante de Belo Jardim. Foto: Joana Aureliano (2004).



Figura 13.IP- 39 – Rio Ipojuca à montante de Caruaru - Presença de vegetação aquática. Foto: Vilalba Soares (2003).



Figura 14.IP- 49 – Rio Ipojuca à jusante de Caruaru. Foto: Zanoni Ribeiro (2003).



Figura 15. IP- 55 – Rio Ipojuca à montante de Gravatá. Foto: Joana Aureliano (2004).



Figura 16. IP-64 – Rio Ipojuca, vista à montante do ponto de coleta à jusante da cidade de Chã Grande) – Foto: Vilalba Soares (2003).



Figura 17.IP-70 – Rio Ipojuca, vista para o ponto, na margem direita, à jusante da Usina União e Indústria – Foto: Vilalba Soares (2003).



Figura 18.IP-85 – Rio Ipojuca, vista à jusante da cidade de Escada – Foto: Vilalba Soares (2003).



Figura 19.IP-90 – Rio Ipojuca, vista à jusante da Usina Ipojuca – Foto: Joana Aureliano (2004).



Figura 20.IP-95 – Rio Ipojuca, vista à jusante da Usina Salgado – Foto: Joana Aureliano (2004).

Os trabalhos foram realizados durante o período de outubro de 2002 a outubro de 2004, com uma frequência de amostragem bimestral.

As amostras pontuais foram coletadas em frascos de polietileno, com volume de 250ml, totalmente preenchidos, e em réplicas para cada um dos testes executados. Os frascos foram acondicionados em gelo e enviados ao laboratório da CPRH, sendo preservados a 4°C por um período de pelo menos, 36 horas ou em freezer a $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ durante 15 dias, até a realização dos testes.

3.2.2 - EM LABORATÓRIO

Em laboratório foram realizados os testes de toxicidade aguda com duas espécies de organismos aquáticos, fotobactérias (*Vibrio fischeri*) mediante a Norma ISO 11348-1 e microcrustáceos (*Daphnia magna*), segundo a Norma ISO 6341.

Determinação da Toxicidade Aguda com fotobactérias (*Vibrio fischeri*)

Considerações gerais sobre os organismos testes

As bactérias são microrganismos unicelulares, microscópicos sem membrana nuclear definida. São conhecidas como seres procariontes e se reproduzem por divisão celular simples.

Pertencem ao Reino Monera, apresentando ampla distribuição na natureza. São classificadas de acordo com vários critérios, dentre eles: pela forma, (cocos-esféricas), bacilos (forma de bastão), espiroquetas e espirilos (forma de espiral), *Vibrio* (forma de vírgula); pelo comportamento que apresentam diante da coloração de Gram, (gram⁻ e gram⁺): em função da necessidade de oxigênio para sobreviver (aeróbias ou anaeróbias).

As bactérias bio-luminescentes, objeto deste estudo (Figura 21), são geralmente organismos marinhos de vida livre, ou associados a outros organismos superiores. Em termos microbiológicos são gram negativos, anaeróbicos

facultativos, pertencentes à família Vibrionaceae. Nunca foram associados a atividade patogênica, sendo imediatamente destruídas quando adicionadas em água de torneira.

Do ponto de vista bioquímico, os sistemas bio-luminescentes são considerados uma parte do sistema transportador de elétrons, onde a enzima luciferase catalisa a oxidação do FMNH₂ (mononucleotídeo flavina reduzido) e de um aldeído, resultando na produção do FNM, ácido e luz (Bitton & Dutka, 1989). O uso das fotobactérias em ensaios ambientais teve início, nos anos 60, no campo de ação do monitoramento da poluição atmosférica (SERAT *et al.*, 1965). Sendo que no final dos anos 70, testes com bactérias luminescentes passaram a ser aplicados com sucesso na determinação da toxicidade de amostras aquáticas, de sedimento e de solos.

O teste com bactérias bio-luminescentes é um teste de inibição metabólica que usa suspensão desses organismos como teste sob condições padronizadas. É um teste simples e quando comparado a outros biotestes apresentam vantagens consideráveis em termos de praticidade, rapidez e reprodutibilidade.

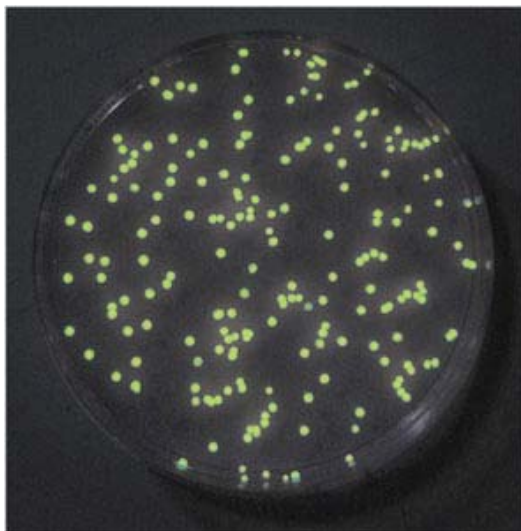


Figura 21- Cultura de fotobactéria *Vibrio fischeri* utilizada nos testes de toxicidade

<https://www2.carolina.com/webapp/wcs/stores/s...>

Para realização dos testes de toxicidade aguda com fotobactéria (*Vibrio fischeri*), inicialmente, o equipamento LUMIStox juntamente com as incubadoras foram ligados, visando a estabilização da temperatura dos mesmos ($15^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$) pré requisito para iniciação dos testes. Seguindo essa primeira etapa as amostras foram retiradas da refrigeração e ao atingir a temperatura ambiente, foram aferidos os parâmetros físicos-químicos e químicos, a exemplo do pH e salinidade. As amostra com valores de pH, fora do intervalo de 6,5 a 8,0 foram corrigidas para $7 \pm 0,2$ usando solução de ácido clorídrico (HCl) 1N ou hidróxido de sódio (NaOH) 1 N. Enquanto que as amostras que apresentaram salinidade inferior a 20g/L de cloreto de sódio (NaCl) foram ajustadas, calculando-se a quantidade de cloreto de sódio a ser adicionado para se obter uma relação de 2 %, ou seja, 20 g/L, o cálculo foi realizado na proporção indicada conforme tabela II.

Tabela II – Cálculo do ajuste da salinidade.

Volume da amostra (ml)	Quantidade de NaCl (g)
10	0,2
50	1,0
100	2,0

Exemplo:

Salinidade da amostra = 14 g/L

Correção com NaCl = $20 - 14 = 6$ g/L

Quantidade de NaCl a ser adicionada a uma alíquota da amostra:

Para 50 mL: $x = 6 \times 50 / 1000 = 0,3$ g

Obtenção dos Organismos-teste:

A obtenção dos organismos-testes, foi a partir de fotobactérias *Vibrio fischeri*, frescas cultivadas no Laboratório de Ecotoxicologia da Agência Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco – CPRH, segundo a norma

ISO 11348-1 e mantidas em freezer a uma temperatura de -80°C por no máximo um ano (Figura 22).



Figura 22 - Estoque de bactérias armazenado no freezer - Fonte: Foto Dr. Kinie – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH – 2003

Após o preparo das amostras (aferição e correção), quando necessário, os béqueres de 50 mL contendo as mesmas foram colocados em banho de gelo, juntamente com outro béquer de 50 mL contendo solução de diluição dos testes (solução de cloreto de sódio (NaCl) a 2%). Dando sequência a realização dos testes, foi descongelada 12 mL da solução de reconstituição (solução utilizada para ressuspensão das bactérias frescas cultivadas), sendo mantida na incubadora do equipamento LUMISTox, por 15 min a $15^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Na etapa seguinte foram realizadas, dependendo do caso, as diluições geométricas ou variante G1 como mostram as figuras 23 e 24.

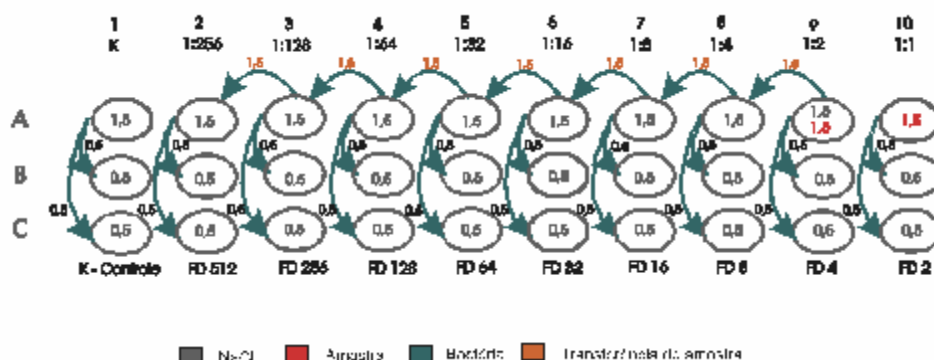


Figura 23. Procedimento de preparo das diluições do teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*, segundo o esquema de diluição Geométrica. Fonte: Procedimento Operacional – Laboratório de Ecotoxicologia – CPRH / 2002.

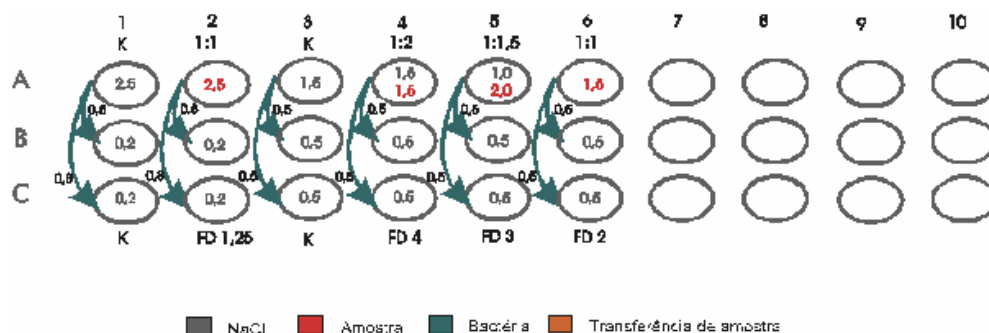


Figura 24 - Procedimento de preparo das diluições do teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*, segundo o esquema de Variante G1. Fonte: Procedimento Operacional - Laboratório de Ecotoxicologia – CPRH – 2002

Após o término da realização das diluições, foi descongelada em água corrente por alguns minutos a suspensão de bactérias, sendo adicionada a mesma, 500 µL (0,5 mL) da solução de reconstituição para cada 100 µL ou (0,1 mL) da suspensão estoque, homogeneizando-a com leve agitação, e posteriormente levada à incubadora por quinze minutos. Completado esse tempo foi transferida a suspensão de bactérias para o restante da solução de reconstituição, sendo agitado por inversão e mantido na incubadora, onde foram distribuídas nas cubetas testes uma quantidade de 500 µL ou (0,5 mL), em intervalos de 30 seg., no sentido B1/C1. Esperou-se 15 min a partir da colocação na cubeta B1. Durante esse período de

incubação das bactérias, o equipamento luminômetro (LUMISTox) foi preparado com os dados referentes à amostra, deixando-o em posição de partida para iniciar as leituras do teste.

Terminado o período de incubação, foi iniciada a leitura da luminosidade das bactérias, obedecendo a um intervalo de 30 segundos entre as leituras, sempre no sentido B / C, conforme o esquema evidenciado na figura 25.

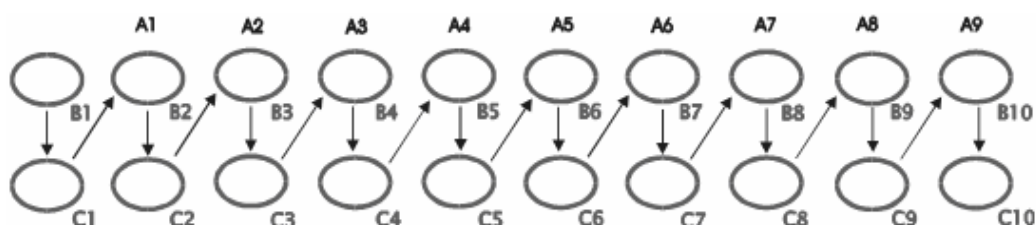


Figura 25 - Sequência de distribuição da suspensão teste, diluições e de leitura no LUMISTox. Fonte: Procedimento Operacional – Laboratório de Ecotoxicologia – CPRH – 2002

Após cada leitura realizada acrescentou-se à cubeta teste, 500 µL (ou 0,5 mL) das diluições correspondentes às amostras, à exceção do controle, que contém somente a solução de NaCl e bactéria. Em seguida, aos 30 min. de exposição, marcados a partir da leitura em B1, iniciou-se a leitura da luminescência, obedecendo-se a seqüência e intervalo de tempo da leitura inicial.

A sensibilidade dos organismos-testes foi executada a partir de uma solução estoque da substância de referência Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$), de concentração conhecida dentro dos limites estabelecidos para bactérias frescas, cultivadas em laboratório, que devem produzir uma inibição de 20% a 80%, após 30 min de tempo de contato na concentração 4 mg/L.

Durante a realização dos testes, a temperatura da sala de testes foi mantida a $23 \pm 2^\circ C$ e isenta de vapores e poeiras tóxicos.

Os procedimentos de execução dos testes de toxicidade aguda com fotobactérias (*Vibrio fischeri*), a exemplo de: colocação da amostra, período de incubação, leitura da luminescência e cálculos dos resultados descritos anteriormente, são realizados no sistema LUMISTox, evidenciado na Figura 26.



Figura 26a - Equipamento LUMISTox constituído por um luminômetro com unidade integrada de comando e medição. Fonte: Foto Dr. Kinie – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH (2003).



Figura 26b - Equipamento LUMISTox com termoblocos (incubadoras). Fonte: Foto Dr. Kinie – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH (2003).

Nas figuras de 27 a 37, são evidenciadas as etapas de realização dos testes de toxicidade aguda com fotobactérias (*Vibrio fischeri*).



Figura 27 - Recipiente contendo amostra e solução de diluição (NaCl) em banho de gelo. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 28 – Descongelamento da solução de reconstituição em banho-maria. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 29 – Transferência da solução de reconstituição para o frasco a ser incubado no termobloco. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 30 – Incubação da solução de reconstituição no termobloco. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 31 – Retirada da solução de reconstituição. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 32 – Colocação da solução de reconstituição na suspensão de bactérias. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 33 – Descogelamento da suspensão de bactérias. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 34 – Transferência da solução-controle para a cubeta B1. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 35 – Transferência da solução-controle para cubeta C1. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 36 – Cubetas posicionadas no termobloco para a execução da leitura final do teste. Fonte: Testes Ecotoxicológicos, Métodos, Técnicas e Aplicações.



Figura 37 – Colocação da cubeta-teste no luminômetro para realização da leitura final do teste. Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH. Foto: Dr. Knie (2002.).

Este método consistiu na exposição de fotobactérias, *Vibrio fischeri*, a várias diluições da amostra teste onde foram avaliados os efeitos tóxicos agudos sobre as mesmas, o que é determinado pela inibição na produção de luz naturalmente emitida pelas fotobactérias.

Os resultados foram expressos em Fator de Toxicidade para Fotobactérias (FT_F), que representa um menor valor de FD (Fator de Diluição) da série de diluições da amostra no qual a porcentagem de inibição da luminescência após o tempo (t), foi inferior a 20% (Anexos).

Determinação da Toxicidade Aguda com microcrustáceos (*Daphnia magna*)

Considerações Gerais sobre o organismo teste (*Daphnia magna*)

Microcrustáceos são pequenos artrópodes pertencentes à classe Crustacea de grande importância no ecossistema aquático. Participam da comunidade zooplânctônica, atuando como consumidores primários entre os metazoários, alimentando-se por filtração de material orgânico particulado, principalmente de algas unicelulares. Habitam os charcos, pântanos e corpos de água, ricos em matéria orgânica, onde pululam bactérias e outros microrganismos, seu alimento natural. *Daphnia magna* (Straus, 1820), Crustacea Cladocera, subclasse Branchiopoda, comumente conhecida como pulga d'água, possui respiração branquial, atingindo um tamanho de 5 a 6 mm. A média do ciclo de vida (nascimento e morte), estende-se até 40 dias, a uma temperatura de 25°C, e até 56 dias, 20°C. No ciclo de vida são reconhecidos três períodos sendo eles: ovos, jovens e adultos. O tempo requerido para alcançar a maturidade sexual varia de 6 a 10 dias. A reprodução se dá por partenogênese e somente as fêmeas produzem jovens. Os machos são distintos das fêmeas por serem de tamanho menor, antenas largas, pos abdômen modificado, etc (Figura 38).



Figura 38. *Daphnia magna* utilizada em testes de toxicidade aguda com microcrustáceo.

<http://www.kulak.ac.be/facult/wet/biologie/pb/kulakbiocampus/insectenongewervelden/vijverfauna/zooplankton/Daphnia%20magna/Daphnia%20magna.htm>

O uso de *Daphnia magna* como bioindicador de toxicidade, é fundamentado nos critérios que se seguem:

- Os descendentes são geneticamente idênticos, assegurando desta forma, uma certa uniformidade de respostas nos ensaios;
- A cultura em laboratório sob condições controladas é fácil e sem grandes gastos;
- O manuseio é simples (tamanho relativamente grande para espécie, quando comparado com outros microcrustáceos);
- A espécie possui grande sensibilidade a substâncias químicas ou a mistura delas;
- É uma espécie adequada para testes estáticos, semi-estáticos ou de fluxo contínuo;
- Apresentam um ciclo de vida e de reprodução suficiente curto, o que permite o seu uso também para realização de testes de toxicidade crônica;
- A *Daphnia magna* é internacionalmente reconhecida como organismo-teste, sendo usada há décadas em laboratórios ecotoxicológicos.

Para realização dos testes de toxicidade aguda com microcrustáceos (*Daphnia magna*), as amostras coletadas foram aferidas e submetidas a um pré-tratamento, quando necessário, onde foram ajustados os valores de pH, quando se encontravam fora da faixa 6,5 à 8,0 para valores de pH de $7,0 \pm 0,2$ utilizando soluções de ácido clorídrico (HCl) 1N ou hidróxido de sódio (NaOH) 1N, as amostras com valores de oxigênio dissolvido (OD) menor que 2 mg/L foram citadas no relatório de análises.

O princípio do método consistiu na exposição de organismos jovens de *Daphnia magna*, a várias diluições da amostra por um período de 48 horas, onde se avaliou o efeito tóxico agudo da amostra, que foi determinado pela perda da capacidade natatória dos organismos (morte ou imobilidade). Para a leitura do teste foi feita a contagem do número de indivíduos imóveis em cada série de diluições.

Na obtenção dos organismos testes foram utilizados os indivíduos jovens de *Daphnia magna*, de até 24 h de vida, cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia da Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco – CPRH, de acordo com o protocolo para realização dos testes de toxicidade aguda com microcrustáceo (Figuras 39 a 43).



Figura 39 - Cultivo de *Daphnia magna* na incubadora - Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH - Foto Dr. Kinie (2003).



Figura 40 – Início do processo de separação dos indivíduos jovens de *Daphnia magna* de até 24 hs de vida – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH- Fonte: Foto Dr. Kinie (2003).



Figura 41 - Separação dos indivíduos jovens de *Daphnia magna* de até 24 hs de vida - Fonte: – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH – Foto Dr. Kinie (2003).



Figura 42 – Preparação para realização dos Testes de Toxicidade aguda com *Daphnia magna* - Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH - Foto Dr. Kinie (2003).



Figura 43 - Cultivo de algas *Senedesmus subspicatus* utilizadas para alimentação de *Daphnia magna* - Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH – Foto: Dr. Kinie (2003).

Para os testes foram seguidas as diluições propostas no protocolo de testes utilizado (Tabela em Anexos), através de béqueres de 50 mL de capacidade, devidamente identificados. O mesmo procedimento foi adotado para o teste controle. Em seguida foram adicionados dez indivíduos jovens de *Daphnia magna* em cada béquer, e levados à estufa incubadora sem iluminação, a uma temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 3 horas. Durante o período de teste, as bandejas com os béqueres foram mantidas cobertas com filme de PVC, para evitar a evaporação. Durante o teste os organismos não foram alimentados.

A sensibilidade dos organismos-teste foi executada a partir de uma solução estoque da substância de referência Dicromato de Potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), de concentração conhecida dentro dos limites estabelecidos para *Daphnia magna*, 0.6 mg/L a 1,7mg/L.

Durante a realização dos testes a temperatura da sala foi mantida a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e isenta de vapores poeiras tóxicas.

Após o período de incubação de 48 ± 3 horas foi realizada a leitura dos testes, observando-se o número de organismos que perderam a capacidade natatória. Para isto movimentou-se levemente o recipiente, e foram contados os indivíduos que perderam o movimento. Foram consideradas afetadas, as *Daphnia magna* que não apresentaram movimento.

Os resultados foram expressos em FT_D (Fator de Toxicidade para *Daphnia*) determinado mediante observação direta da mobilidade desses microcrustáceos na série de diluição – teste. O FT_D corresponde à menor diluição da amostra em que não ocorreu imobilidade em mais de 10% dos organismos. Exemplo de como é calculado o FT_D , encontra-se em anexo.

Fichas de acompanhamento dos testes de toxicidade com microcrustáceo e de controle dos lotes de *Daphnia magna* (Anexos).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas III e IV apresentam os resultados dos testes de toxicidade aguda para fotobactérias (*Vibrio fischeri*) e microcrustáceos (*Daphnia magna*), no período de outubro de 2002 a outubro de 2004, onde foram avaliadas cento e noventa e oito amostras de água das nove estações de coleta, das quais oito estações estão localizadas no rio Ipojuca e uma estação no rio Bitury, principal tributário da bacia do rio Ipojuca.

Nestas tabelas, os valores de FT_F e FT_D grafados em vermelho, indicam a existência de toxicidade.

Sobre o total de 198 amostras avaliadas, 23 delas (12%) apresentaram toxicidade. Das 9 estações de amostragem, 3 apresentaram valores de FT_F (Fator de Diluição para Fotobactéria), indicativos de toxicidade aguda para *Vibrio fischeri*. Duas estações apresentaram valores de FT_D (Fator de Toxicidade para *Daphnia magna*) com indicação de toxicidade aguda para esse microcrustáceo. Deste total apenas 4 estações não apresentaram toxicidade aguda para os dois tipos de testes executados, cujos valores do Fator de Toxicidade – FT, tanto para *Daphnia magna* como para *Vibrio fischeri* foram iguais a um.

Nas figuras 44 e 45, são apresentados os valores médios dos Fatores de Toxicidade – FT para as amostras testadas no período de 2002 a 2004, obtidos para os diferentes pontos de coleta pertencentes a rede de monitoramento do rio Ipojuca, parte integrante do Programa de Monitoramento de Bacias Hidrográficas do Estado de Pernambuco.

A Figura 44 apresenta o gráfico da toxicidade aguda para fotobactérias (*Vibrio fischeri*) e ilustra a toxicidade das águas do rio Bitury, à jusante da cidade de Belo Jardim (IP-26), principal afluente do rio Ipojuca, à jusante da cidade de Caruaru (IP-49), e à jusante da Usina Salgado (IP-95). Neste gráfico também são evidenciados os valores médios do FT_F (Fator de Toxicidade para Fotobactérias) de 2,18; 3,25 e 1,55, respectivamente, indicando que há toxicidade. Os valores médios do FT_F iguais a um traduzem a inexistência de toxicidade aguda.

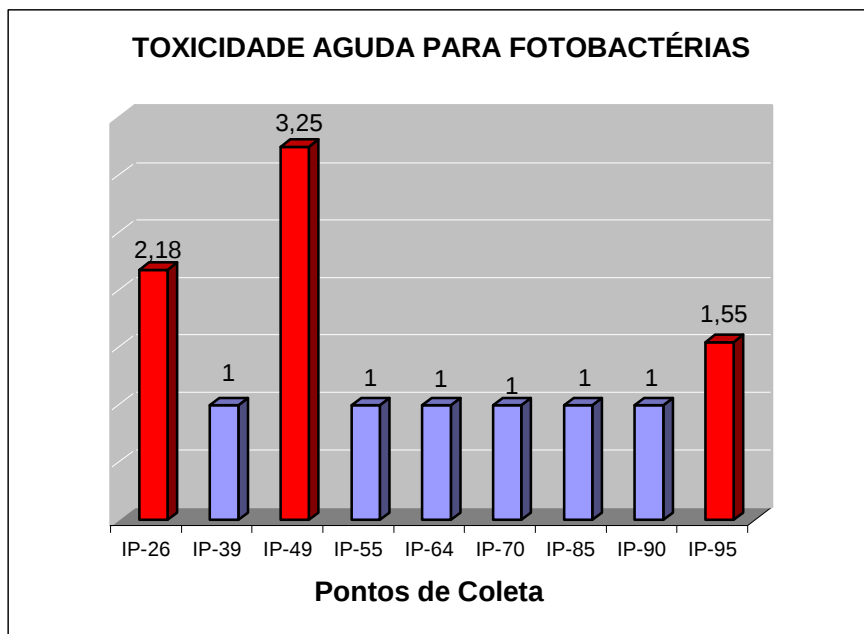


Figura 44 - Valores médios de FT_F obtidos para os diferentes pontos de coleta da rede de monitoramento do rio Ipojuca-PE - 2002 / 2004.

A figura 45 apresenta o gráfico da toxicidade aguda para *Daphnia magna*, e ilustra a toxicidade das águas do rio Bitury, à jusante da cidade de Belo Jardim (IP-26), principal afluente do rio Ipojuca e do rio Ipojuca, à jusante da cidade de Caruaru (IP-49). Neste gráfico também são evidenciados os valores médios do FT_D (Fator de Toxicidade para *Daphnia magna*) de 1,27 e 2,5, respectivamente, indicando que há toxicidade. Os valores médios do FT_D iguais a um traduzem a inexistência de toxicidade aguda.

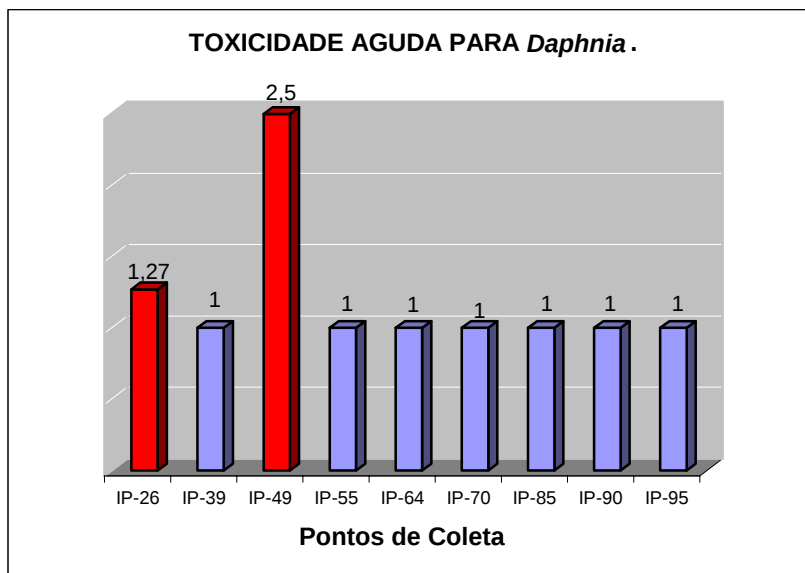


Figura 45 - Valores médios de FT_D obtidos para os diferentes pontos de coleta da rede de monitoramento do rio Ipojuca-PE - 2002 / 2004.

O mapa temático da ecotoxicidade do rio Ipojuca e do seu afluente rio Bitury, demonstra de forma didática os resultados encontrados, assim como a definição de três áreas consideradas tóxicas localizadas nas estações de amostragem IP-26, IP-49 e IP-95, respectivamente, rio Bitury, à jusante da cidade de Belo Jardim, rio Ipojuca, à jusante das cidades Caruaru e rio Ipojuca, à jusante da Usina Salgado (Figura 46).

Tabela III - Valores do Fator de Toxicidade – FT_F para testes com fotobactérias (*Vibrio fischeri*)

Data da coleta	IP-26 Rio Bitury à jusante de B.Jardim	IP-39 Rio Ipojuca à Montante de Caruaru	IP-49 Rio Ipojuca à Jusante de Caruaru	IP-55 Rio Ipojuca à Montante de Gravatá	IP-64 Rio Ipojuca à Jusante de Chã Grande	IP-70 Rio Ipojuca à Jusante. Usina União e Ind.	IP-85 Rio Ipojuca à Jusante de Escada	IP-90 Rio Ipojuca à Jusante da Usina Ipojuca	IP-95 Rio Ipojuca à Jusante Usina Salgado
16-17/10/02	1	1	4	1	1	1	1	1	1
11-12/12/02	1	1	*	1	*	1	1	1	1
19-20/02/03	*	*	4	1	*	1	1	1	4
29-30/04/03	1	1	8	1	*	1	1	1	*
26-27/06/03	8	1	2	1	*	1	1	1	1
27-28/08/03	4	1	4	1	1	1	1	1	1
15-16/10/03	1	*	1	*	1	1	1	1	1
17-18.12/03	*	*	4	*	*	1	1	1	1
10-11/02/04	1	1	1	1	1	1	1	1	*
14-15/04/04	4	1	1	1	1	*	1	1	1
07-08/06/04	1	1	1	1	1	*	1	1	4
26-27/08/04	1	1	1	1	1	*	1	1	1
27-28/10/04	1	1	8	1	1	1	1	1	1

FT_F – Fator de Toxicidade para Fotobactéria

$FT_F = 1$ (não tóxico)

(*) – sem coleta

- IP-26, IP-39 – falta de vazão
- IP-49, IP55 – água estagnada
- IP-64 - presença de vegetação na superfície cobrindo o espelho d' água
- IP-70, IP-95 - sem acesso ao local de coleta

Na coleta realizada em 07 e 08/06/04 o ponto de amostragem IP-95, no rio havia a presença de uma draga retirando areia e manchas de óleo eram evidenciadas na água.

Nas coletas, realizadas nos dias 10/11/02/04, face às chuvas atípicas para o mês, o rio apresentou enchente.

Nas coletas, realizadas nos dias 07/08/06/04, período chuvoso.

Tabela IV - Valores do Fator de Toxicidade – FT_D para testes com microcrustáceos (*Daphnia magna*)

Data da coleta	IP-26 Rio Bitury à jusante de B.Jardim	IP-39 Rio Ipojuca à Montante de Caruaru	IP-49 Rio Ipojuca à Jusante de Caruaru	IP-55 Rio Ipojuca à Montante de Gravatá	IP-64 Rio Ipojuca à Jusante de Chã Grande	IP-70 Rio Ipojuca à Jusante. Usina União e Ind.	IP-85 Rio Ipojuca à Jusante de Escada	IP-90 Rio Ipojuca à Jusante da Usina Ipojuca	IP-95 Rio Ipojuca à Jusante Usina Salgado
16-17/10/02	1	1	4	1	1	1	1	1	1
11-12/12/02	2	1	*	1	*	1	1	1	1
19-20/02/03	*	*	4	1	*	1	1	1	*
29-30/04/03	2	1	2	1	*	1	1	1	*
26-27/06/03	1	1	4	1	*	1	1	1	1
27-28/08/03	1	1	4	1	1	1	1	1	1
15-16/10/03	1	*	1	*	1	1	1	1	1
17-18/12/03	*	*	4	*	*	1	1	1	1
10-11/02/04	1	1	2	1	1	1	1	1	*
14/15/04/04	1	1	1	1	1	*	1	1	1
07-08/06/04	2	1	1	1	1	*	1	1	1
26-27/08/04	1	1	1	1	1	*	1	1	1
27-28/10/04	1	1	2	1	1	1	1	1	1

FT_D – Fator de Toxicidade para *Daphnia*

FT_D = 1 (não tóxico)

(*) – sem coleta

- IP-26, IP-39 – falta de vazão
- IP-49, IP55 – água estagnada
- IP-64 - presença de vegetação na superfície cobrindo o espelho d'água
- IP-70, IP-95 - sem acesso ao local de coleta

Na coleta realizada em 07 e 08/06/04 o ponto de amostragem IP-95, no rio havia a presença de uma draga retirando areia e manchas de óleo eram evidenciadas na água.

Nas coletas, realizadas nos dias 10/11/02/04, face às chuvas atípicas para o mês, o rio apresentou enchente.

Nas coletas, realizadas nos dias 07/08/06/04, período chuvoso.

Quanto à toxicidade da água, os valores mostram indicativos de áreas tóxicas, cuja toxicidade, é causada por substâncias químicas oriundas principalmente de efluentes industriais, chorumes de lixões e de aterros de resíduos industriais e urbanos e do lixiviamento de agroquímicos. Contribuem também, em menor proporção, os esgotos domésticos. Portanto, as referidas áreas apresentam-se impróprias para existência da vida aquática, assim como, com problemas de contaminação tóxica aguda que poderão afetar a saúde humana.

Em 2001, a Companhia Pernambucana de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (CPRH), órgão ambiental do Estado de Pernambuco, iniciou os testes de toxicidade em efluentes das estações de tratamento de três indústrias de tipologias diferentes (bebidas, metalúrgica e têxtil) e do riacho Algodoads, situado no município do Cabo de Santo Agostinho, utilizado como corpo receptor por essas indústrias. Os resultados obtidos demonstram que a maioria dos efluentes analisados apresentou uma alta toxicidade decorrente da ineficácia nos sistemas de tratamento no período da realização do monitoramento, desta forma, em parte, comprometendo a qualidade das águas do riacho Algodoads (SOARES MENDONÇA *et al.* 2004).

Segundo BAHIA LOPES *et al.* 1998, as análises realizadas no laboratório da Fundação do Meio Ambiente/SC – FATMA, em amostras de efluentes industriais, principalmente dos setores de galvanoplastia, têxtil, farmacêutico e metal mecânico, comprovam que os efluentes lançados no corpo receptor são insuficientemente tratados ou até mesmo sem tratamento. Essa prática tem afetado a qualidade das águas do rio Cachoeira e seus afluentes em Joinville/SC, onde os altos valores de toxicidade provam que suas águas estão fortemente contaminadas por agentes tóxicos concentrando-se principalmente no seu curso superior, na região do principal pólo industrial do município.

De acordo com Atlas Ambiental da Região de Joinville/SC, (2003), os rios Pirabeiraba, Sete Voltas e da Onça, na área rural, entre Joinville e Garuva, apresentam toxicidade. Como esse rios não recebem efluentes industriais, a origem dessa contaminação deve ser de substâncias provenientes das atividades

agrícolas, principalmente, das riziculturas e bananiculturas, onde são aplicadas grandes quantidades de agrotóxicos.

Segundo a Fundação Estadual de Proteção Ambiental do Estado do Rio Grande do Sul - FEPAM, realizou entre 1994 e 1996 uma série de análises com bioensaios agudos e crônicos, bem como, uma análise química de acompanhamento no rio Caí. Assim foi possível comprovar a poluição até então suspeita do rio por substâncias tóxicas oriundo de um pólo petroquímico (FEPAM, 1997).

Além desse trabalho, a Fundação Estadual de Proteção Ambiental do Estado do Rio Grande do Sul - FEPAM, analisou desde 1992 os efluentes de mais de duzentas empresas de trinta e nove diferentes ramos industriais por meio de bioensaios. O objetivo dessa série de análises é a fixação de limites máximos de toxicidade por ramo industrial, até agora inexistentes no Brasil (LEMIESZEK *et al.* 1996).

O laboratório ecotoxicológico do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), provou que quase todos os afluentes do rio Passaúna e uma represa instalada no curso desse rio que serve para abastecimento de mais de seiscentas mil pessoas com água potável, apresentam uma poluição tóxica aguda (NIEWEGLOWSKI *et al.* 1993). Os dados da análise química, obtidas (em virtude das possibilidades restritas de trabalho) por meio de parâmetros pouco relevantes para a constatação de cargas orgânicas, não permitiram identificar nenhuma restrição do uso da água dos referidos rios e da represa.

Alguns trabalhos com efluentes industriais foram desenvolvidos no estado de São Paulo, aplicando-se testes de toxicidade, tendo sido enfocadas as três abordagens que se seguem:

Bacias hidrográficas

Foi avaliada a toxicidade de todos os efluentes líquidos industriais da bacia do rio Cubatão, tendo sido estimada a carga tóxica lançada em cada um dos seus

afluentes e nele próprio, constituindo-se em subsídio concreto às ações de controle de poluição naquela região (CETESB, 1986a).

Estações de tratamento conjunto

Foi avaliada a toxicidade dos efluentes industriais da grande São Paulo que serão eventualmente lançados em estações recuperadoras de qualidade da água, em conjunto com esgotos domésticos. Independentemente da solução a ser escolhida para o equacionamento do problema de esgotos da região da grande São Paulo, o estudo trará subsídios para o gerenciamento da carga tóxica gerada nessa região (Gherardi-Goldstein et alii, 1983; CETESB, 1987).

Atividades industriais específicas

Avaliação da toxicidade de efluentes industriais de natureza química complexa pertencentes à mesma categoria industrial, como a de indústria de papel e celulose (CETESB, 1986c).

CONCLUSÕES

Após análise dos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

- O uso dos testes de toxicidade aguda, utilizando as fotobactérias (*Vibrio fischeri*) e os microcrustáceos (*Daphnia magna*), como organismos testes, constituem ferramentas relevantes na avaliação dos efeitos tóxicos agudo da água.
- Há uma acentuada alteração da qualidade da água do rio Ipojuca em termos de toxicidade aguda, evidenciando três áreas consideradas tóxicas, estas, próximas às sedes de municípios importantes da região.
- Os trechos considerados mais tóxicos apresentam-se com características semelhantes, uma vez que se encontram em áreas de regime intermitente, influenciados por atividades industriais diversas e próximos a grandes centros urbanos.
- O trecho situado à jusante da Usina Salgado, cuja toxicidade aguda foi evidenciada só para os testes realizados com fotobactérias, compreende uma área de grande retirada de areia, que para tal utilizam-se dragas onde acidentalmente derramam óleo nas águas, sendo, portanto, uma contaminação pontual. A atividade de dragagem acarreta um processo de remoção do sedimento, o que possibilita a movimentação dos poluentes a ele agregados.
- Com exceção dos trechos do rio Ipojuca, as demais estações não apresentaram toxicidade aguda para os dois tipos de testes executados, explicado por corresponder à área do rio cujo regime é perene, distantes de distritos industriais, embora sujeitos a aportes de efluentes domésticos e de áreas de policultura.

RECOMENDAÇÕES

A freqüente utilização da bacia do rio Ipojuca para recepção de despejos industriais, urbanos e domésticos, tem contribuído para deteriorização da qualidade da água desse corpo receptor com repercussões negativas, tanto para a saúde humana quanto à preservação e conservação da vida aquática.

Os resultados aqui obtidos indicam essa realidade. Com o intuito de regular e minimizar os efeitos prejudiciais da toxicidade na área da bacia do rio Ipojuca, assim como de estabelecer um programa futuro de monitoramento ambiental, sugere-se a realização de pesquisas incluindo estudos sobre os seguintes aspectos:

1. Avaliação da toxicidade crônica da água e do sedimento;
2. Avaliação da toxicidade crônica e aguda dos efluentes das indústrias situadas nos trechos considerados com alta toxicidade, assegurando um rígido controle da poluição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS:

ALEMANHA. **Promulgation of the amendment to the waste water charges act.** Berlim. 1990.

BAHIA LOPES, E ; VIEIRA, A. L. ; COELHO FILHO, A. **Toxicidade aguda de efluentes industriais e rios da região de Joenville/SC para *Daphnia magna* (Straus)(Crustácea, Cladocera) e *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan) (Teleostei, Cyprinidae).** Santa Catarina: Fundação do Meio Ambiente (1998).

BITTON, G. ; DUTKA, B.J. **Toxicity testing using microorganisms**, v.1, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1989.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº. 357, de 17 de março de 2005. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas do território nacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 18 de março de 2005. Seção 1.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2º ed. **Manual de Testes para avaliação da toxicidade de agentes químicos.** Brasília, 1990. 351p.

BRASIL. Resolução Nº. 20, de 18 de junho de 1986. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas do território nacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 30 de julho de 1986. Seção 1, p. 11.356.

BUTLER, G.C. (1978). **Principles of ecotoxicology.** New York, John Wiley and Sons.

GHERRARDI – GOLDSTEIN, E. *et al.* **Avaliação da toxicidade dos principais despejos industriais da região da ERQ- Suzano, através de ensaios biológicos.** Revista DAE, 43 (132) : 42-8,1983.

International Organization for Standardization ISO 11348-1 (1998). Water quality: **Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 1: method using freshly prepared bacteria.** 1-15p.

KNIE, J.L.W. **Proteção Ambiental com testes ecotoxicológicos. Experiências com a análise das águas e dos efluentes no Brasil.** Florianópolis. Outubro1998.

KNIE,J.L.W. ; LOPES, E.W.B. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA/GTZ 2004. 224-225 p.

KNIE,J.L.W. ; LOPES,E.W.B. (2003). Qualidade da água superficial.In: KNIE,J.L.W. (Ed.): **Atlas Ambiental da Região da Joinville. Complexo Hídrico da baía da Babitonga.** 2^a ed. Projeto FATMA/GTZ, Florianópolis. 152 p.

LEMIESZEK,M.; FABRÍCIO FILHO, J.A. **Toxicologia aguda de efluentes industriais no Estado do Rio Grande do Sul sobre *Brachydanio rerio* e *Daphnia magna*.** Fundação Estadual de Proteção Ambiental, Porto Alegre. 1996.

NIWEGLOWSKI,A.M., et al. **Toxicity pilot study in Passaúna River Watershed, Paraná.** 6th International Symposium Toxicity Assessment and online monitoring. Berlin.1993.

PARANÁ. Instituto Ambiental do Paraná. Manual de Avaliação de Impactos Ambientais. **Importância dos parâmetros ecotoxicológicos em estudos ambientais.** 3ed. Suplemento 3 – Curitiba: SEMA/IAP/GTZ, set.1999.

PERNAMBUCO. Secretaria de Ciências Tecnologia e Meio Ambiente. Diretoria de Recursos Hídricos. **Plano Estadual de Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco.** 1999. 215 p.

PERNAMBUCO. Secretaria de Planejamento. Instituto de Desenvolvimento de Pernambuco. **Perfil Fisiográfico das bacias Hidrográficas de Pernambuco.** Recife. 1980. Volume 1. p. 81-82.

RAND, G.M; PETROCCELLI, S.R. Introduction. In: RAND, G.M; PETROCCELLI, S.R. Eds. **Fundamentals of Aquatic Toxicology.**1985. 662 p.

RIO DE JANEIRO. Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente. **Critérios e padrões para controle da toxicidade em efluentes líquidos.** NT-213, R-4. Rio de Janeiro, 1990.

RIO GRANDE DO SUL. Fundação Estadual de Proteção Ambiental. **Métodos analíticos de avaliação toxicológica para controle da qualidade ambiental.** Porto Alegre, 1997.

SANTA CATARINA. Fundação do Meio Ambiente. **Proteção Ambiental com testes ecotoxicológicos.** Florianópolis. 1998. 14p.

SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Avaliação da toxicidade das águas, sedimentos dos rios e efluentes industriais da região de Cubatão.** São Paulo, 1986.226p.

SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Avaliação da toxicidade de efluentes de indústrias de papel e celulose.** São Paulo, 1986. 51p.

SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos.** São Paulo. 1990. 17p.

SERAT, W.F.; BUDING, F.E., Jr. ; MUELLER, P.K. (1965). **Evaluation of biological effects of air pollutants by luminous bacteria.** J. Bacteriol. 90, 832-833P.

SOARES Mendonça, V., et al. **Avaliação da toxicidade aguda para fotobactérias (*Vibrio fischeri*) e microcrustáceos (*Daphnia magna*) ocasionado pelo lançamento de efluentes industriais no Riacho Algodoados situado no município do Cabo de Santo Agostinho - PE.** Pernambuco; Agência Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. (2004).

UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Introduction to Water quality – based toxic control for the NPDES Program.** Washington, Dc. 1992. 45p.

Water quality: **determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea): acute toxicity test.** 1-9p.

ANEXOS:

LISTA DE ABREVIATURAS :

APHA : American Public Health Association

CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental / SP (Órgão Ambiental do Estado de São Paulo).

CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente

CPRH: Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco

CPRM: Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais

EPA: Environmental Protection Agency – United States

FATMA: Fundação do Meio Ambiente /SC (Órgão Ambiental do Estado de Santa Catarina)

FEEMA : Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente – RJ (Órgão Ambiental do Estado do Rio de Janeiro)

FEPAM: Fundação Estadual de Proteção Ambiental /RS (Órgão Ambiental do Estado do Rio Grande do Sul)

GTZ: Agência Alemã de Cooperação Técnica

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente

IAP: Instituto Ambiental do Paraná / PR (Órgão Ambiental do Estado do Paraná)

ITEP: Associação Instituto de Tecnologia do Estado de Pernambuco

LAMEPE: Laboratório de Meteorologia do Estado de Pernambuco

OECD: Organization for Economic Cooperation Development

PE: Estado de Pernambuco

PERH/PE: Plano Estadual de Recursos Hídricos de Pernambuco

SECTMA: Secretaria de Ciências, Tecnologia e Meio Ambiente do Estado de Pernambuco..

SRH: Secretaria de Recursos Hídricos do Estado de Pernambuco.

UA: Unidade de Análise

UFPE: Universidade Federal de Pernambuco

UP: Unidade de Planejamento Hídrico

Exemplo de diluições utilizadas no teste com *Daphnia magna*, determinadas para um volume final de solução de 100 ml em Meio Básico.

Fator de Diluição para <i>Daphnia</i> (FDd)	Volume da amostra	
	ml	μl
1	100	-
2	50	-
3	33	333
4	25	-
6	16	667
8	12	500
12	8	333
16	6	250
24	4	167
32	3	125
48	2	83
64	1	563
96	1	42
128	-	781
192	-	521
256	-	391
384	-	260
512	-	195
768	-	130
1024	-	98
1536	-	65
2048	-	49
3072	-	33
4096	-	24
6144	-	16

Exemplo da determinação do FT_D.

Fator De diluição	N° de <i>Daphnia</i> imóveis 48h		Imóveis %
	Recipiente A	Recipiente B	
Controle	0	0	0
1	10	10	100
2	8	9	85
4	6	6	60
8	4	3	35
16	1	2	15
32	0	0	0
64	0	0	0

Fonte: Testes Ecotoxicológicos – Métodos, técnicas e aplicações – pág.140 (2004)

FICHAS DE ACOMPANHAMENTO PARA REALIZAÇÃO DOS TESTES DE TOXICIDADE AGUDA COM *Daphnia magna*. LABORATORIO DE ECOTOXICOLOGIA/UHIB

Nº da Amostra: _____ Teste nº: _____ Data da Coleta: _____

Procedência: _____

Tipo de Material: _____

pH inicial: _____ pH corrigido: _____ Lote sol. correção pH: _____ Cód pHmetro: _____

OD (mg/L): _____ Cód oxímetro: _____

Água de diluição lote : _____ Água de cultivo lote: _____

Data: Início: _____ Hora: _____ Término: _____ Hora: _____ Duração: () 24 ± 3 h () 48 ± 3 h

OBSERVAÇÕES: _____

Diluição	nº móveis		nº imóveis	

Acompanhamento da diluições efetuadas

Diluição	Nº dos balões volumétricos	Nº das pipetas volumétricas	Micropipeta

Resultado: _____

Analista: _____ Responsável: _____

Fonte: Procedimento Operacional para realização dos testes de toxicidade aguda com microcrustáceo – CPRH (2002)

Measurement: **Rio Ipojuca - 04.12.03**

Sample: **IP2 - 70**
Sample No.: **024002**

Date: **04.12.2003**

Test concentration: **100,00**
Dimension: **%**
Type of dilution series: **geometric**
No of dilution levels: **4**
Predilution: **1,00**
(1 = no dilution)

Operator: **Ana Santiago**
Batch: **06**
Instrument type or No.:
Time: **min**
Comment:

Amostra coletada no Rio Ipojuca IP2-70, Ponte à jusante da Usina União Indústria, no dia 20.11.03
pH= 5,4 ajustada para 6,9
salinidade= 0,0 ajustada com 1,0g de NaCl

Values:

Conc.	G-value	lo	lt	lct	Ht	Inhib.t aver.	Valid
K	K	3223,00	3110,00	3143,275	1,1		1,0586
		3053,00	3009,00	2977,4801	-1,1	0	Yes
80,00	1	3311,00	3462,00	3229,0982	-7,2		5,2011
		3098,00	2925,00	3021,367	3,2	-2,01	no
K	K	4402,00	4320,00	4215,3166	-2,5		2,4834
		3913,00	3654,00	3747,0545	2,5	0	Yes
12,50	8	4403,00	4166,00	4216,2742	1,2		1,4302
		4161,00	4051,00	3984,5371	-1,7	-0,24	Yes
25,00	4	4460,00	4564,00	4270,8569	-6,9		1,9772
		4233,00	4492,00	4053,4837	-10,8	-8,84	Yes
50,00	2	4105,00	4204,00	3930,912	-6,9		0,0888
		4338,00	4450,00	4154,0308	-7,1	-7,04	Yes

Correction factor 1

Correction 1: **0,965**
Correction 1: **0,986**

fK: **0,9753**
Valid: **Yes**

% Difference: **1,0475**
Valid: **Yes**

Correction factor 2

Correction 1: **0,981**
Correction 1: **0,934**

fK: **0,9576**
Valid: **Yes**

% Difference: **2,5466**
Valid: **Yes**

lo aver.: **3891,6667**

GL: **1**
EC 50: **n.c.**

DIN valid: **Yes**

FICHA DE CONTROLE DOS LOTES E ESTOQUES DE *Daphnia magna*

LOTE Nº: _____ Data início: _____ Origem: _____

ESTOQUE Nº: _____

Observador	Data	Hora	Troca de água				Alimentação Algas Scenedesmus subspicatus		Filhotes		Efípios		Mortos ou doentes		Nº Organismos restantes *
			Lote	Parcial	Limpeza	Total	Lote algas	Volum e (ml)	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	

* Esta anotação pode ser realizada uma vez por semana. Cada lote com 25 a 35 indivíduos. Descartar os organismos mortos ou doentes (aqueles que estão prostrados no fundo e com pouca movimentação).

Se o lote ficar reduzido a menos de 15 organismos descartar e reiniciar um novo lote.

Fonte: Procedimento Operacional para realização dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia* – Laboratório de Ecotoxicologia da CPRH (2002).

