Fundação Técnico Educacional Souza Marques Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras Curso de Ciências Biológicas

Avaliação da qualidade das águas da bacia do rio Piabanha (RJ) através de ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos

Bruna Alves Pinheiro

Rio de Janeiro

2012

Bruna Alves Pinheiro

Avaliação da qualidade das águas da bacia do rio Piabanha (RJ) através de ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos

Monografia apresentada à FTSM como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Silvia Egler

Rio de Janeiro

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, primeiramente à minha mãe Leila que me deu a oportunidade de trilhar e realizar o primeiro de muitos sonhos que estão por vir. Obrigada por ter confiado em mim!

Ao meu pai Dinei e ao meu irmão Helbert (in memorian), que infelizmente não estão presentes neste dia tão especial da minha vida, mas que deixaram ensinamentos suficientes para eu ter força e seguir em frente conquistando tudo aquilo que eu almejar. Obrigada pai por ter me moldado e me tornado o que sou hoje! Obrigada irmão por ter feito parte da minha vida e ter deixado na memória dias alegres de muitas brincadeiras, inclusive as brigas que acabavam em choro ou risadas!

Ao meu namorado Rodrigo, pelo carinho, compreensão e companheirismo. Obrigada pelas distrações e risadas que sempre me ajudam à voltar ao trabalho mais disposta!

Aos meus "filhos" Marvim e Katie, que mesmo me dando mais trabalho, ainda assim fazem o meu dia bem mais divertido.

E aos meus familiares e amigos que me acompanham e lutam ao meu lado transmitindo alegria, fé e motivação para sempre ir em frente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pois sem ele não teria traçado o meu caminho e feito a minha escolha pela Ciências Biológicas.

Ao CETEM, Centro de Tecnologia Mineral, em associação ao CIEE, Centro de Integração Empresa-Escola, por ter me concedido a bolsa de estágio, pois sem ela não teria condições de realizar o meu trabalho. Obrigada pelo incentivo, apoio e infra-estrutura para realização deste projeto.

Agradeço à coordenação do curso de Ciências Biológicas da Fundação Técnico Educacional Souza Marques, e aos professores, técnicos e alunos que fizeram parte dessa minha jornada. Obrigada por tudo!

À minha orientadora Silvia Egler, por ter me dado a oportunidade de estagiar em seu Laboratório de Ecotoxicologia aplicado à Indústria Minero-metalúrgica (LECOMIM), e por me orientar na elaboração deste trabalho, sempre com paciência e dedicação. Obrigada pelo aprendizado e apoio. Agradeço muito por ter sido a Senhora a minha orientadora!

À minha Co-orientadora Alicelena Bustamante, professora da Faculdade de Filosofia, Ciêncas e Letras, por me ajudar na composição desta monografia. Obrigada pelo profissionalismo.

Um agradecimento em especial às minhas amigas do laboratório, Flavia Lima e Camila Franco, e à minha amiga da faculdade, Thaís Araújo, pela ajuda nos momentos precisos. Meninas, obrigada pelo companheirismo.

E finalmente agradeço à todos que direta ou indiretmanete me ajudaram na elaboração deste trabalho. Obrigada a todos vocês.



RESUMO

A bacia hidrográfica do Rio Piabanha é uma das menores sub-bacias formadoras da bacia do Rio Paraíba do Sul. Com uma área de drenagem de 2.065 km², abrange os municípios de Areal, Petrópolis, Teresópolis, São José do Vale do Rio Preto, Paraíba do Sul, Paty de Alferes e Três Rios, onde vivem cerca de 400 mil habitantes. A deterioração da qualidade dos recursos hídricos desta região devido às atividades antrópicas vem se agravando ao longo das últimas décadas. Este trabalho teve como objetivo geral a avalição ambiental da qualidade das águas da bacia do rio Piabanha através de ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos com duas espécies aquáticas, o microcrustáceo Daphnia similis Claus (Crustacea, Cladocera) e a alga Pseudokirchneriella subcapitata (Korshikov) F.Hindák (Chlorophyceae). Foram realizadas coletas de águas superficiais na bacia do rio Piabanha, com frequência mensal, no período de fevereiro a agosto de 2012, em oito ou 10 pontos. Suas localizações foram seguindo o curso do rio Piabanha e seus afluentes da montante para a jusante. Os resultados de toxicidade aguda e/ou crônica obtidos nos sete meses e nos 10 pontos amostrados parecem estar relacionados com a distribuição das precipitações e as diferentes ações antrópicas que atuam na bacia. O aporte de contaminantes de fonte difusa, tais como escoamento superficial das ruas que margeiam os rios, ou pontual como efluentes domésticos e de pequenas e médias empresas parecem exercer influências em ambos organismos-teste utilizados. Tanto o Piabanha quanto seus maiores afluentes recebem constantemente aporte de contaminantes que reduzem suas produtividades primárias afetando os níveis superiores da cadeia trófica.

Palavras-chave: Rio Piabanha, Ecotoxicologia, Ensaios Ecotoxicológicos, *Daphnia similis*, *Pseudokirchneriella subcapitata*.

ABSTRACT

The Piabanha River basin is one of the smaller sub-basins formers of the Paraíba do Sul River basin. With a drainage area of 2,065 km², includes the municipalities of Areal, Petrópolis, Teresópolis, São José do Vale do Rio Preto, Paraíba do Sul, Paty of Ensign and Three Rivers, where live about 400 thousand inhabitants. The deterioration in the quality of the water resources of this region due to anthropogenic activities has been worsening over the past few decades. This work had as general objective environmental evaluation of water quality of the Piabanha River basin through acute and chronic ecotoxicological tests with two aquatic species, the microcrustáceo Daphnia similis (Crustacea, Cladocera) and seaweed Pseudokirchneriella subcapitata (Korshikov) F. Hindák (Chlorophyceae). Surface water samples were performed on Piabanha River basin, often monthly, from February to August 2012, in eight or 10 points. Their locations were following the Piabanha River and its tributaries upstream to the downstream. The acute and chronic toxicity results obtained in seven months and the 10 sampled points seem to be related to the distribution of precipitations and different human actions that act in the basin. The amount of contaminants from diffuse sources, such as runoff from streets that border the rivers, or punctual as domestic effluents and of small and medium-sized enterprises seem to exert influences on both test organisms used. Both the Piabanha as its major tributaries receive constantly intake of contaminants which reduce their primary productivity affecting the upper levels of the trophic chain.

Keywords: Piabanha River, Ecotoxicology, Ecotoxicological Testing, *Daphnia similis Pseudokirchneriella subcapitata*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa político da bacia do rio Piabanha, principais tributários e municípios	
integrantes	15
Figura 2 - Daphnia similis	19
Figura 3 - Pseudokirchneriella subcapitata	20
Figura 4 - Procedimento de coleta (Fonte: foto pessoal)	23
Figura 5 - Cultivo de Daphnia similis do Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM	26
Figura 6 - Cultivo líquido da alga Pseudokirchneriella subcapitata do Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM	27
Figura 7 - Ensaio agudo com Daphnia similis	28
Fifura 8 - Ensaio crônico com Pseudokirchneriella subcapitata	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Precipitação e temperatura do período de amostragem coletadas na Estação
Petrópolis do INMET
Gráfico 2: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de fevereiro, bacia do rio Piabanha, RJ
Gráfico 3: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de março, bacia do rio Piabanha, RJ
Gráfico 4: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de abril, bacia do rio Piabanha, RJ
Gráfico 5: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de maio, bacia do rio Piabanha, RJ40
Gráfico 6: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de julho, bacia do rio Piabanha, RJ40
Gráfico 7: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de junho, bacia do rio Piabanha,
RJ41
Gráfico 8 - Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de agosto, bacia do rio Piabanha,
RJ

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado do ensaio agudo dos meses de fevereiro e março	33
Tabela 2 - Resultado do ensaio agudo dos meses de abril e maio	34
Tabela 3 - Resultado do ensaio agudo dos meses de junho e julho	35
Tabela 4 - Resultado do ensaio agudo do mês de agosto	
Tabela 5 - Resultado do ensaio crônico	37
Tabela 6 - Resultados dos ensaios agudo e crônico realizados nos sete meses estudados	43
LISTA DE ANEXOS	
Anexo 1 - Localização dos pontos de coleta	48
Anavo 2 - Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas	10

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
	1.1 Hidrografia brasileira	1.
	1.1.1 Bacias Hidrográficas	13
	1.2 Caracterização da área de estudo	1
	1.2.1 Clima, flora e fauna	1
	1.2.2 Histórico da ocupação da região serrana do Estado do Rio de Janeiro	10
	1.3 Biomonitoramento	1
	1.4 Descrição das espécies	1
	1.5 Avaliação Ecotoxicológica	20
2.	OBJETIVOS	22
	2.1 Objetivo Geral	22
	2.2 Objetivos Específicos	22
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	23
	3.1 Coletas e Preservação de Amostras	23
	3.2 Procedimento de Cultivo dos Organismos Testes	25
	3.3 Bioensaios	27
4.]	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
	4.1 Ensaio agudo	32
	4.2 Ensaio crônico	36
5. (CONCLUSÃO	44
RF	EFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ΑN	NEXO 1	48
ΛN	NEXO 2	49

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais fontes de manutenção da vida na Terra é a água, sendo parte indispensável de todos os ecossistemas terrestres como um recurso de múltipla utilização. O homem depende da água em quantidade e qualidade. Porém, as mudanças climáticas, a poluição atmosférica, a destruição gradual de áreas de nascentes e matas ciliares para a instalação de construções e pastagens, vem causando impacto sobre este recurso ameaçando a sua disposição no meio e a perda de suas propriedades.

A deterioração da qualidade e disponibilidade dos recursos hídricos, causada pela sua contaminação por atividades antrópicas, tem se agravado ao longo das últimas décadas. O fator humano na formação da composição química da água é tão importante quanto o ciclo geoquímico natural e os processos biológicos.

A qualidade desejável da água de acordo com seu uso preponderante foi estabelecida na política normativa nacional que estabelece classificações dos corpos hídricos para seu enquadramento (Classes Especial, 1, 2 e 3). A resolução número 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005) estabelece parâmetros que definem limites aceitáveis de substâncias inorgânicas e orgânicas para que estas não confiram às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da biota aquática (COLUNA; DIAS; PINHEIRO, 2007). Esta norma estabelece o uso de ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos para a investigação de danos causados pela presença de contaminantes nas águas.

As águas destinadas para consumo humano têm seus padrões de controle e vigilância estabelecidos na Portaria 518 do Ministério da Saúde (MS, 2004).

A bacia do rio Piabanha é uma das menores sub-bacias formadoras da bacia do rio Paraíba do Sul, apresentando uma extensa cobertura vegetal com os mais expressivos remanescentes da Mata Atlântica. Localizada no reverso da Serra do Mar, possui uma área de drenagem de 2.065 km² e abrange sete municípios fluminenses — Areal, Petrópolis, Teresópolis, São José do Vale do Rio Preto, Paraíba do Sul, Paty de Alferes e Três Rios, onde vivem cerca de 625 mil pessoas (DE PAULA, 2011).

Devido à proximidade com a cidade do Rio de Janeiro, a região Serrana foi induzida a um crescimento urbano acentuado e inadequado para as suas condições ambientais. Nas estações monitoradas pela Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (FEEMA), a do centro de Petrópolis e na sua foz, ficou evidenciado o recebimento em suas águas de despejos domésticos sem tratamento por ausência de saneamento. Outros aspectos determinantes da deterioração de suas águas são a ocupação desordenada da faixa marginal, provocando enchentes e deslizamentos, despejos industriais por atividades econômicas na fabricação de bebidas, produtos alimentícios, têxtil, movelaria, equipamentos de uso industrial e confecções (301 só em Petrópolis), desmatamentos e queimadas.

Neste estudo a qualidade das águas da bacia do rio Piabanha foi avaliada por bioensaios ecotoxicológicos, ferramenta indispensável para análise da qualidade de corpos receptores, associando as concentrações de contaminantes no meio e seu risco ecotoxicológico, complementando os mecanismos tradicionais do controle da poluição. Os ensaios de toxicidade também são utilizados no estabelecimento de critérios de qualidade de águas e sedimentos para a proteção da biota aquática e no monitoramento de efluentes líquidos e áreas de influência (ZAGATTO et al., 1999).

1.1 Hidrografia brasileira

A rede hidrográfica brasileira é constituída por rios navegados em corrente livre, por hidrovias geradas pela canalização de trechos de rios e por extensos lagos isolados, criados pela construção de barragens para fins exclusivos de geração hidrelétrica. Além de possuir elevadas condições de umidade na maior parte do território nacional, sendo considerada como a mais densa do planeta.

A hidrografia do Brasil é caracterizada pela riqueza em rios mas carência em lagos, o seu regime de alimentação é pluvial, o período de cheias dos rios brasileiros é no verão (com algumas exceções no litoral nordeste), grande parte dos rios são perenes (alguns no sertão nordestino são intermitentes) e todos os rios deságuam no mar.

1.1.1 Bacias Hidrográficas

A bacia hidrográfica é uma área ocupada por um rio principal e todos os seus tributários, cujos limites constituem as vertentes, que por sua vez limitam outras bacias. No

Brasil, a predominância do clima úmido propicia uma rede hidrográfica numerosa e formada por rios com grande volume de água.

As bacias hidrográficas brasileiras são formadas a partir de três grandes divisores: Planalto Brasileiro, Planalto das Guianas e Cordilheira dos Andes.

Ressaltam-se oito grandes bacias hidrográficas existentes no território brasileiro; a do rio Amazonas, do rio Tocantins, do Atlântico Sul, trechos Norte e Nordeste, do rio São Francisco, as do Atlântico Sul, trecho leste, a do rio Paraná, a do rio Paraguai e as do Atlântico Sul, trecho Sudeste.

1.2 Caracterização da área de estudo

Segundo o contexto hidrológico nacional, a bacia do rio Paraíba do Sul e a sub-bacia do rio Piabanha estão inseridos dentro da região hidrográfica Atlântico Sudeste, de acordo com a divisão hidrográfica nacional estabelecida pela resolução nº 32, de 15 de outubro de 2003 do Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CNRH) (GONÇALVES, 2008)

O rio Piabanha é o principal rio da Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, integrando a bacia do rio Paraíba do Sul. Compreende uma área de aproximadamente 2.000 km², abrangendo os municípios de Petrópolis, Teresópolis, Areal, São José do Vale do Rio Preto, Paty do Alferes, Paraíba do Sul e Três Rios (KLING, 2005) (Figura 1).

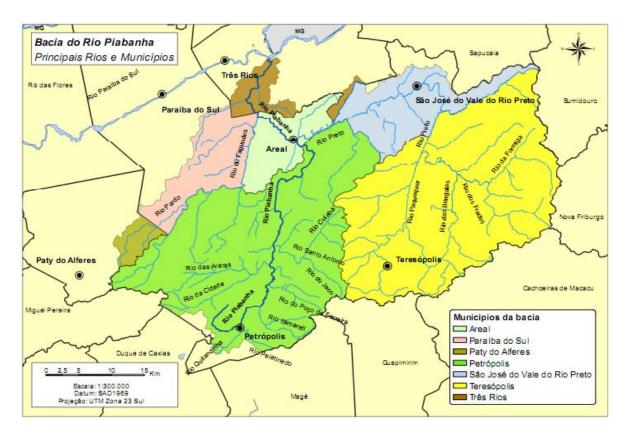


Figura 1: Mapa político da bacia do rio Piabanha, principais tributários e municípios integrantes. (Fonte: DE PAULA, 2011).

As principais sub-bacias do rio Piabanha são: a) margem direita: rios Quitandinha, Itamarati, Poço do Ferreira, Santo Antônio e Preto; b) margem esquerda: rios das Araras e Fagundes. O rio Preto é o maior afluente, com uma área de drenagem de 1.053 km², sofrendo influências das áreas urbanas e rurais que percorre nos municípios de Areal, Paraíba do Sul, Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis. A segunda sub-bacia é a do rio Fagundes, com 364 km², percorrendo áreas rurais com pastagens e pequenos núcleos urbanos dos municípios de Areal, Paraíba do Sul, Paty do Alferes e Petrópolis. Ambas sub-bacias possuem usinas hidrelétricas que modificam suas vazões (rio Preto – UHE Morro Grande e rio Fagundes - UHE Fagundes). As sub-bacias do rio Poço do Ferreira e do rio Santo Antônio são fortemente caracterizadas pela ocupação rural, cercadas por pastagens e lavouras agrícolas (DE PAULA, 2011).

A sub-bacia do rio das Araras é constituída, em sua maior parte, por áreas de preservação da cobertura vegetal, como a Reserva Biológica de Araras regida pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA) que abriga a nascente do rio das Araras. Por estar em uma

bacia protegida este rio contribui positivamente na qualidade da água do rio Piabanha. As subbacias dos rios Quitandinha e Itamarati são predominantemente urbanas (município de Petrópolis), contribuindo com cargas orgânicas, deteriorando a qualidade das águas do rio Piabanha (DE PAULA, 2011).

1.2.1 Clima, flora e fauna

O clima da região da bacia é tropical de altitude úmido, com altos índices pluviométricos e temperaturas médias a baixas, possuindo estações distintas com período de inverno e verão. Em relação às preciptações ao longo do ano, as chuvas ocorrem de novembro a março e o período seco de abril a agosto (DE PAULA, 2011).

Inserido na Mata Atlântica, o entorno do rio Piabanha é caracterizado por um relevo de montanhas, vales, rios onde ocorrem variadas espécies de fauna e flora. Estão presentes nesse ecossistema a quaresmeira, o ipê e o angico branco. Dentre as espécies silvestres destacam-se a onça parda, o cachorro do mato e a jaguatirica. As aves também são abundantes sendo a sua maioria herbívora. Dos organismos aquáticos o peixe Piabanha é o mais representativo, hoje encontrado somente em estoques reduzidos que ocorrem em alguns trechos do rio e afluentes no Rio de Janeiro (KLING, 2005).

1.2.2 Histórico da ocupação da região serrana do Estado do Rio de Janeiro

Todo esse ambiente continuamente vem sendo ameaçado pela degradação ambiental resultante de atividades antrópicas. Ao longo dos séculos XVIII e XIX, foi intensificada a ocupação da região. Os solos férteis das planícies fluviais e as baixas encostas das colinas recortadas pelo rio Paraíba do Sul e afluentes permitiram a implantação de lavouras de cana de açúcar e depois de café, este último em produção até o final do século XIX. Com a decadência da lavoura no século XX, a pecuária extensiva passou a predominar na paisagem e após a Segunda Guerra Mundial surgiram novos núcleos urbanos com o consequente desenvolvimento industrial (COPPETEC, 2008). Nas áreas de pastagens predominou a criação de gado leiteiro, que logo após serem abandonadas foram subaproveitadas para a pecuária, hoje representando apenas 35% do total (GEROE, 1995 *apud* KLING, 2005).

As maiores áreas de remanescentes florestais são visíveis nos municípios de Petrópolis e Teresópolis, porém Três Rios, Areal e Paraíba do Sul apresentam falhas de cobertura florestal. A área de cobertura vegetal da bacia encontra-se com 54% do original (KLING, 2005).

Devido a esse crescimento urbano descontrolado, hoje o rio Piabanha é alvo de efluentes líquidos sem tratamento e sedimentos ou compostos contaminados que prejudicam os habitantes da região, inclusive a fauna e a flora.

1.3 Biomonitoramento

As metodologias convencionais de classificação de águas, com base em características físicas, químicas e bacteriológicas, não são totalmente satisfatórias para atender aos usos múltiplos da água, sendo métodos falhos na avaliação da qualidade estética, de recreação e ecológica do ambiente. Mas esses resultados podem ser atingidos através de uma análise integrada do ambiente, considerando os aspectos biológicos do sistema (PRATT; COLER, 1976; CAIRS JR.; PRATT, 1993; ARMITAGE, 1995 *apud* BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

Segundo Buss, Baptista e Nessimian (2003) "O biomonitoramento pode ser definido como o uso sistemático das respostas de organismos vivos para avaliar as mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas".

Os organismos utilizados nas pesquisas, denominados bioindicadores, são espécies escolhidas por sua sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, como poluição orgânica e outros tipos de poluentes (WASHINGTON, 1984 *apud* BUSS, BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

Esses bioindicadores podem ser denominados de indicadores sensíveis e indicadores acumuladores. Ambos são encontrados entre os organismos testes, organismos monitores e indicadores ecológicos (LIMA, 2000).

Os organismos testes estão incluídos nos ensaios com algas, *Daphnia* e peixes. Os quais são empregados em metodologias de laboratório altamente padronizadas, cujos resultados são também altamente reprodutíveis. Tais métodos vêm sendo amplamente utilizados no monitoramento da qualidade da água (LIMA, 2000).

Geralmente empregados em metodologias que monitoram condições ambientais e que fornecem informações necessárias ao controle da poluição, os organismos monitores biologicamente ativos são introduzidos padronizadamente no ambiente. A gramínea, por exemplo, é utilizada para avaliar o acúmulo de poluentes como metais pesados; o tabaco é empregado na avaliação do efeito do ozônio; líquens são usados na determinação de efeitos fitotóxicos e acúmulo de poluentes. Já os procedimentos que estudam diretamente ou coletam amostras de organismos presentes no ecossistema e as transportam para análise no laboratório são chamados de monitores biológicos passivos (LIMA, 2000).

Ambos indicadores, organismo teste e organismo monitor, só fornecem resultados auto-ecológicos, ou seja, os efeitos observados não podem ser transferidos para outros organismos ou para o ecossistema. Sendo assim, para se obter informações sobre as condições ou o comportamento do meio ambiente como um todo, indicadores ecológicos precisam ser utilizados. Estes fornecem informações sobre o estado de um habitat no qual os organismos existem em condições naturais (LIMA, 2000).

A vantagem do uso das respostas biológicas nas pesquisas ambientais é o fato dos organismos integrarem as condições ambientais durante toda a sua vida, permitindo a detecção tanto de ondas tóxicas intermitentes agudas quanto de lançamentos crônicos contínuos (PRATT; COLER, 1976 apud BUSS, BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

Os resultados provenientes do biomonitoramento podem ser empregados como instrumento de vigilância no acompanhamento contínuo das condições dos ecossistemas de maneira a detectar impactos acidentais ou decorrentes da implantação de empreendimentos produtivos, sendo utilizada como prova cientificamente aceita das alterações ambientais provocadas por ações criminosas. Podem servir ainda como instrumento regulador, proibindo ou liberando o uso de novos produtos químicos (MAGALHÃES; FERRÃO, 2008).

1.4 Descrição das espécies

Os bioindicadores escolhidos para os ensaios ecotoxicológicos desta pesquisa são organismos utilizados em larga escala na avaliação de contaminantes de efluentes, uma vez que são sensíveis a pequenas mudanças no ambiente e por estarem no início da cadeia alimentar. Esse nível hierárquico das espécies permite avaliar antecedentes, pois antes que os esfeitos possam se expressar no nível de populações, comunidades e ecossistemas, a resposta

de organismos individuais fornece uma boa avaliação do risco de extinção local de alguns grupos de organismos susceptíveis (MAGALHÃES; FILHO, 2008)

Daphnia similis Claus (Crustacea, Cladocera) é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário da cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão (Figura 2). Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e tem larga distribuição no hemisfério norte (ABNT 12713, 2009). Possuem uma carapaça transparente bivalve e se movimentam através das longas antenas que funcionam como remos. Seu ciclo de vida é curto, podendo variar de três a cinco semanas. A reprodução ocorre por partenogênese, onde as fêmeas produzem células diplóides que originam fêmeas com o mesmo genótipo, resultando, portanto, numa população de dafinias composta inteiramente por fêmeas (BUIKEMA; SHERBERGER, 1977).



Figura 2: Daphnia similis (Fonte: disponível em http://www.ipen.br/sitio/?idc=388).

Pseudokirchneriella subcapitata (Korshikov) F.Hindák (Chlorophyceae), é uma espécie de alga verde unicelular, proveniente de culturas axênicas, mantidas em condições controladas de temperatura e luminosidade (ABNT 12648, 2011). São frequentemente encontradas em agrupamentos de quatro a 16 indivíduos ou mais raramente sozinhas, reproduz-se assexuadamente através de auto-esporos, produzindo pequenas réplicas da célula mãe. Divide-se uniformemente e não adere às superfícies (Figura 3).

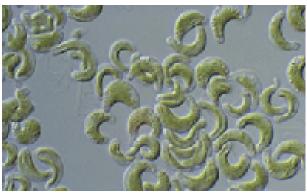


Figura 3: *Pseudokirchneriella subcapitata* (Fonte: disponível em http://www.ecotox.ca/elevage.htm)

1.5 Avaliação Ecotoxicológica

A Ecotoxicologia pode ser definida como:

Ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (CAIRNS; NIEDERLEHNER, 1995; PLAA, 1982 apud ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008, p. 6).

De um modo geral, a Ecotoxicologia procura identificar as causas e os efeitos nocivos do contaminante sobre o organismo em estudo, quantificar e conhecer esses efeitos, perceber os mecanismos de ação e os fatores que influenciam o seu destino no ambiente (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

O grau de toxicidade de agentes químicos no meio hídrico pode ser determinado por meio de ensaios ecotoxicológicos com organismos reprentativos da coluna d'água ou dos sedimentos de ambientes de água doce, estuarina ou marinha (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Os ensaios ecotoxicológicos são utilizados para a integração de dados biológicos, químicos e físico-químicos. Constituem importantes ferramentas adicionais nos estudos ambientais devido às limitações existentes nas pesquisas baseadas em evidências puramente químicas. Dentre estas limitações se destacam: alta variedade de substâncias encontradas em

efluentes líquidos, baixa capacidade de detecção analítica e interferências pelos fenômenos químicos de antagonismo e sinergismo que dificultam, sobretudo, no processo de interpretação de resultados (RODRIGUES; SILVA; SILVA, 2009).

Na área de Ecotoxicologia, dependendo dos objetivos e das necessidades de um estudo, podem ser realizados ensaios simples de curto prazo para avalização dos efeitos agudos e ensaios mais complexos de longo prazo para avaliação dos efeitos crônicos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Em relação à Ecotoxicologia Aquática, segundo Magalhães e Ferrão (2008) esta é uma ciência que surgiu para dar suporte no enfrentamento dos problemas de contaminação dos corpos d'água por compostos tóxicos.

O controle da toxicidade de resíduos lançados no ambiente aquático é de suma importância para a saúde do ecossistema e do homem. Uma vez que um agente é tóxico para uma ou mais espécies em um sistema de ensaios, é provável de ser tóxico para importantes componentes do ecossistema, e por tanto capaz de causar impacto ambiental negativo. E para isso que os ensaios ecotoxicológicos são utilizados, para demonstrar a presença ou não de efluentes tóxicos dentro de um corpo d'água receptor (MAGALHÃES; FERRÃO, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade das águas da bacia hidrográfica do rio Piabanha através do monitoramento das propriedades físicas, químicas e biológicas, utilizando ensaios de toxicidade aguda e crônica com os organismos aquáticos, o cladócera *Daphnia similis* e a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar ensaios de toxicidade aguda com o cladocera *Daphnia similis* seguindo a norma ABNT NBR 12713/09;
- Efetuar ensaios de toxicidade crônica com a alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* seguindo a norma da ABNT NBR 12648/11;
- Coletar no campo dados físico-químicos, tais como: pH, Oxigênio Dissolvido, Condutividade, Temperatura .

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coletas e Preservação de Amostras

Foram realizadas coletas de águas superficiais na bacia do rio Piabanha com frequência mensal, no período de fevereiro a agosto de 2012, em oito ou 10 pontos (Anexo 1). Suas localizações foram seguindo o curso do rio Piabanha e seus afluentes da montante para a jusante. A coleta até março foi realizada em oito pontos, 1 a 8. Em abril foi inserido o ponto de coleta número 10. E somente em agosto foi viável a inserção do ponto 9, por este ter sido de difícil localização.

As coletas foram realizadas de pontes com auxílio de baldes de alumínio (Figura 4), previamente enxaguados com água do local de coleta. As amostras foram compostas, coletadas no canal e nas duas margens do rio.

Em cada ponto foram coletados 1500 mL de amostra, distribuídas em frascos de polietileno de 500 mL, previamente descontaminados em ácido nítrico 10%. Em laboratório foram medidas as durezas por titulação com EDTA e as amostras que não foram utilizadas em ensaios no período de 48 h foram congeladas.



Figura 4: Procedimento de coleta (Fonte: foto pessoal).

Foram medidos em campo parâmetros físico-químicos (Anexo 2), que apresentaram relação ou interferência com respostas de ensaios biológicos. Os parâmetros analisados foram:

- a) pH (pHmetro Digimed DM-2): representa a concentração de íons hidrogênio, H+, e indica as condições de acidez, neutralidade e basicidade da água. É resultante dos sólidos e gases dissolvidos na água. A origem natural do H+ pode decorrer da dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação de matéria orgânica e fotossíntese. A origem antropogênica pode decorrer de despejos domésticos (oxidação da matéria orgânica) e industriais. Valores diferentes da neutralidade (7,00) tendem a afetar as taxas de crescimento dos microorganismos e quando elevados podem estar associados à proliferação de algas. Valores ácidos solubilizam metais pesados aumentando sua biodisponibilidade.
- b) Oxigênio Dissolvido O.D. (oximetro Digimed DM-4P): representa a concentração de O₂ molecular dissolvido na água. Importante para a respiração dos seres vivos no ambiente aquático. As principais fontes são o oxigênio atmosférico e a fotossíntese. Esta dissolução/aeração é influenciada pela temperatura, diminui em temperaturas elevadas, pressão, diminui em elevadas altitudes devido a diminuição da pressão atmosférica, salinidade, o aumento da salinidade diminui a capacidade de solubilização do O₂ na água. Principal função no sistema aquático é a de agente oxidante de matéria orgânica de origem biológica (plantas mortas e restos de animais), também conhecida como degradação aeróbica e que é mediada por microrganismos aeróbicos. Ambientes com elevada quantidade de matéria orgânica (despejo de esgotos domésticos ou efluentes industriais ricos em matéria orgânica) provocam reduções de OD devido a maior taxa de respiração dos microrganismos provocando uma demanda de O₂ superior à solubilidade de equilíbrio máxima.
- c) Condutividade (condutivimetro Thermo RL 060C): é a medida da facilidade da água em conduzir a corrente elétrica. É diretamente proporcional ao teor de sólidos dissolvidos sob a forma de íons e da temperatura. Quanto mais sólidos dissolvidos são adicionados, a condutividade da água aumenta. Representa uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a 100 μS/cm indicam ambientes impactados. A condutividade também fornece uma boa indicação das modificações na composição de uma água, especialmente na sua concentração mineral, mas não fornece nenhuma indicação das quantidades relativas dos vários componentes.
- d) Temperatura (pHmetro Digimed DM-2): de um modo geral esta relacionada com a radiação solar. Pode ser influenciada por atividades antrópicas como despejos industriais, de termoelétricas e de usinas nucleares. Influencia na quantidade de OD, quanto menor maior a

quantidade de O² e no metabolismo das comunidades, como produtividade primaria, respiração dos organismos e decomposição da matéria orgânica. Com valores elevados de temperatura, ocorre intensa reprodução dos organismos fitoplanctônicos e, conseqüentemente, intensa absorção de nutrientes dissolvidos.

3.2 Procedimentos de Cultivo dos Organimos Testes

Ambas as culturas são mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia Aplicado a Indústria Mínero-metalurgica (LECOMIN) do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCTI).

As culturas de *Daphnia similis* (Figura 5) são mantidas em Câmaras de Germinação (Tecnal TE-402) com temperatura de 18 a 22 ° C e fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h no escuro. O meio de manutenção é o MS (ABNT NBR 12713, 2009) e os organismos são separados por faixas etárias de 0-7 dias, 7-14 dias, 14-21 dias e 21-28 dias. Para alimento são usadas suspensões algáceas de *Pseudokirchneriella subcapitata* na densidade de 3,3 x 10⁶ células/mL por organismo (ABNT NBR 12713, 2009). A água de manutenção, meio MS, tem seus parâmetros físico-químicos ajustados em: pH de 7,0 a 7,6; O.D. ≥ 5 mg/L e dureza entre 40 a 48 mg CaCO₃/L.



Figura 5: Cultivo de *Daphnia similis* do Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (Fonte: Foto pessoal).

A alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Figura 6) é mantida em meio LC Oligo (ABNT NBR 12648, 2011) líquido em Câmara de Germinação com temperatura de 23 a 25°C, ou meio sólido, refrigerado a temperatura de 4 °C (ABNT NBR 12648, 2011).



Figura 6: Cultivo líquido da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* do Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (Fonte: Foto pessoal).

Ensaios de sensibilidade foram realizados com NaCl para *Daphnia* e KCl para *Pseudokirchneriella*.

3.3 Bioensaios

Nos ensaios de toxicidade aguda é avaliada a sobrevivência (mortalidade e imobilidade) dos organismos-testes expostos a um curto período de tempo, de 24 a 48 h. Já nos ensaios de toxicidade crônica são avaliados a sobrevivência, reprodução, crescimento e maturação dos organismos-teste expostos a um período maior de tempo, de 96 h.

Os ensaios agudos realizados com *D. similis* (Figura7) seguiram a norma da ABNT 12713/09 (ABNT, 2009). Foram utilizados 20 organismos jovens, de seis a 24 horas de idade distribuídos em quatro réplicas de 25 mL/amostra, expostos de 24 a 48 h às amostras totais e um controle com o Meio MS utilizado nas culturas. Os ensaios foram realizados em Câmaras de B.O.D. (Tecnal TE-401) com temperatura de 18 a 22 °C, sem iluminação e alimentação.

Após este período foram contabilizados os organismos imóveis e/ou mortos. Antes e após os ensaios foram realizadas medições de pH e O.D em todas as amostras e no controle.



Figura 7: Ensaio agudo com *Daphnia similis* (Fonte: Foto pessoal).

Os ensaios só foram considerados válidos se a mortalidade no controle fosse inferior ou igual a 10% dos organismos-teste utilizados.

Os ensaios crônicos realizados com *P. subcaptata* (Figura 8) seguiram a norma da ABNT 12648/11 (ABNT, 2011). Para os ensaios foram utilizados inóculos de culturas líquidas em Meio LC Oligo em fase exponencial de crescimento, de cinco a sete dias. Os ensaios consistiram de três réplicas de 100 mL/amostra inoculados com suspensão algácea com biomassa de 10⁴ células/mL e tiveram a duração de 96 h. A iluminação foi continua e acima de 4500 lux e a velocidade de agitação foi de 130 rpm em Mesa Agitadora Orbital Nova Ética 109. Antes e após os ensaios foram realizadas medições de pH e O.D em todas as amostras e no controle.

Devido ao número de garras disponíveis na mesa agitadora serem menor do que o total do número de amostras e suas réplicas, alguns bioensaios foram realizados em momentos diferentes. Portanto, para as análises mensais foram utilizados inóculos e controles diferentes.



Figura 8: Ensaio crônico com *Pseudokirchneriella subcapitata* (Fonte: Foto pessoal).

Ao final do ensaio foi realizada a contagem da biomassa algácea em Câmara de Neubauer. Os ensaios de 96 h só foram considerados válidos se a biomassa final do controle estivesse 100 x superior à biomassa inicial e o Coeficiente de Variação entre as réplicas do controle fosse menor ou igual a 20%.

Os resultados foram expressos na amostra e no controle por biomassa algácea final média, que é a biomassa após 96 h menos a biomassa do inóculo inicial e pela Porcentagem de Inibição (%I), calculada segundo a equação abaixo:

 $\%I = \underline{Mc - Ma} \times 100$

Mc

Onde:

%I = porcentagem de inibição do crescimento algáceo;

Mc = a média do número de células no controle:

Ma = a média do número de células na amostra.

O programa utilizado para as análises estatísticas foi o Toxstat 3,5. Os dados foram analisados dois a dois, ou seja, amostra e controle. Para os testes de normalidade foram utilizados o Quidradro e o Shapiro Wilks e para a homogeneidade das variâncias o F-teste. Para a comparação entre os resultados das amostras com o controle foram utilizados o teste *t* para duas amostras nos resultados com distribuição normal e o teste não-paramétrico de

Wilcoxon para os resultados com distribuição não normal. O nível de significância utilizado foi de 0,05. Os resultados foram expressos em Tóxico, quando foi significativa a diferença entre amostra e controle, e Não Tóxico, quando esta diferença não foi significativa.

Para a análise da distribuição dos períodos de chuva e seca foram utilizados os dados de precipitação e temperatura, no período de amostragem, disponível no sitio do INMET (2012) coletados na estação Petrópolis, Pico do Couto, localizada na latitude - 22,47 e longitude - 43,29.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico 1 apresenta os dados relativos a precipitação e temperatura da Estação Petrópolis (Pico do Couto) de coleta da rede do INMET (2012). A temperatura média do período de amostragem foi de 12,56°C e a precipitação média de 125,11 mm, sendo março o mês com maior volume e agôsto o de menor volume (Gráfico 1).

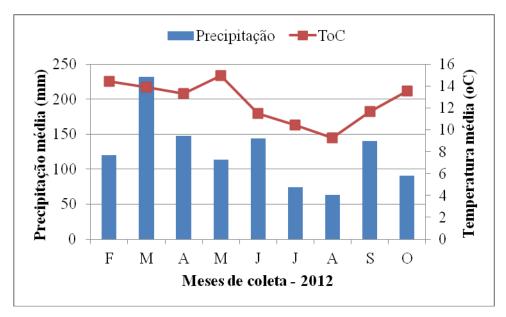


Gráfico 1: Precipitação e temperatura do período de amostragem coletadas na Estação Petrópolis do INMET.

Os parâmetros físico-químicos amostrados durante as coletas estão listados no Anexo 2. O pH esteve dentro da neutralidade em todos os pontos; apenas o ponto 2, 3 e 5 apresentaram condutividade > 100 µS/cm, característica de ambiente impactado; a concentração de OD foi > 3,8 mg/L em todos os pontos, com exceção do ponto 3 onde atingiu o valor de 1,58 mg/L em agosto; as temperaturas se distribuíram de acordo com os horários de coleta, e variaram entre 15,6 e 32,2°C; o menor valor de dureza (5,16 mg CaCO₃/L) ocorreu no ponto 1 no mês de fevereiro e o maior valor foi no ponto 3 (31,93 mg CaCO₃/L) em julho; maior turbidez foi observada nos pontos que se localizam nos rios Preto (6 e 10), Fagundes (8) e Piabanha (7) após desague do rio Preto, os rios Preto e Fagundes possuem muito material em suspensão que turvam suas águas.

4.1 Ensaio Agudo

No ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* realizado no mês de fevereiro, em cinco dos pontos amostrados (2, 3, 4, 7 e 8) os dados não obedeceram a uma distribuição normal e as variâncias não foram homogêneas para todos os pontos. Para os pontos com distribuição normal (1, 5 e 6) foi aplicado o teste *t* paramétrico e para os com distribuição não normal o teste não paramétrico de Wilcoxon. Apenas o ponto 8 apresentou diferença significativa com o controle, sendo considerado tóxico para os organismos-teste (Tabela 1). Este ponto esta localizado na foz do rio Fagundes, afluente da margem esquerda do rio Piabanha (Anexo 1 e Figura 1), recebendo toda carga de contaminantes da sub-bacia. Este rio possui a segunda maior sub-bacia dos afluentes do rio Piabanha, percorrendo áreas rurais com pastagens e pequenos núcleos urbanos (DE PAULA, 2011) onde provavelmente recebe diferentes tipos de efluentes tóxicos de origem industrial, domésticos e hortifrutigranjeiros e resíduos sólidos como lixo.

No mês de março os resultados dos pontos 1, 2, 3, 6 e 7 também não obedeceram a uma distribuição normal, e as variâncias também não foram homogêneas, neste caso foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon, onde houve diferença significativa das amostras dos pontos 2, 3, e 6 com o controle, caracterizando estes pontos como tóxicos aos organismos-teste (Tabela 1). Os pontos 2 e 3 estão localizados na área urbana de Petrópolis (Anexo 1 e Figura 1) onde recebem aporte de contaminantes de fonte difusa, tais como escoamento superficial das ruas que os margeiam ou pontuais como efluentes domésticos e de pequenas e médias empresas. O ponto 6 esta localizado em área rural no rio Preto (Anexo 1, Figua 1). Este rio possui a maior sub-bacia dos afluentes do rio Piabanha, e seu afluente principal o rio Paquequer percorre a cidade de Teresópolis, onde provavelmente recebe diferentes tipos de efluentes tóxicos de origem industrial, domésticos e hortifrutigranjeiros e resíduos sólidos como lixo.

Tabela 1: Resultado do ensaio agudo dos meses de fevereiro e março.

Ponto de -		Fevereiro			Março	
	Total de	% de		Total de	% de	Toxicidade
Coleta	fêmeas	fêmeas	Toxicidade	fêmeas	fêmeas	(NT e T)
	imóveis	imóveis		imóveis	imóveis	(N1 6 1)
Controle	0	0		0	0	
1	9	45	NT	0	0	NT
2	0	0	NT	6	30	T
3	4	20	NT	8	40	T
4	0	0	NT	3	15	NT
5	2	10	NT	2	10	NT
6	2	10	NT	16	80	T
7	0	0	NT	3	15	NT
8	4	20	T	6	30	NT

Em abril, somente o ponto 1 apresentou distribuição normal, nos demais pontos a distribuição não foi normal, e as variâncias não foram homogêneas para todos os pontos. Ao ponto 1 foi aplicado o test t e aos demais pontos o teste não paramétrico de Wilcoxon. Não houve diferença significativa entre as amostras e o controle. Portanto as amostras foram consideradas não tóxicas. Houve mortalidade de organismos apenas no ponto 1, mas essa não foi significativa e nos ensaios com os demais pontos a mortalidade foi zero (Tabela 2).

Maio também foi um mês sem resultados significativos. Somente os resultados das amostras do ponto 8 obedeceram a uma distribuição normal, onde foi possível aplicar o teste *t* paramétrico. Houve mortalidade de organismos nos pontos 2, 6, 7, 8 e 10, mas essa não foi significativa e nos ensaios com os demais pontos não houve mortalidade (Tabela 2).

Abril e maio foram meses onde a precipitação média diminuiu em relação a março, verão (Gráfico 1), representando o início do período intermediário do outono. Esta diminuição da quantidade de chuva na bacia e, consequentemente, menor escoamento superficial pode representar um menor aporte de contaminantes de fontes difusas.

Tabela 2: Resultado do ensaio agudo dos meses de abril e maio (- = ponto não coletado neste mês).

Donto do		Abril			Maio	
Ponto de - Coleta	Total de fêmeas imóveis	% de fêmeas imóveis	Toxicidade	Total de fêmeas imóveis	% de fêmeas imóveis	Toxicidade (NT e T)
Controle	0	0		0	0	
1	3	15	NT	0	0	NT
2	0	0	NT	1	5	NT
3	0	0	NT	0	0	NT
4	0	0	NT	0	0	NT
5	0	0	NT	0	0	NT
6	0	0	NT	2	10	NT
7	0	0	NT	1	5	NT
8	0	0	NT	4	20	NT
10	-	-	-	1	5	NT

Em junho a maioria dos pontos apresentou uma distribuição normal e as variâncias homogêneas, neste caso foi aplicado o teste *t* paramétrico e apenas nos pontos 2 e 3 a diferença foi significativa com o controle (Tabela 3). Estes pontos também foram tóxicos em março.

Em julho a distribuição dos resultados foi bem dividida, alguns tiveram distribuição normal (1, 2, 6 e 8) e outros não (3, 4, 5, 6, 10), mas as variâncias foram todas não homogêneas. Dos pontos com distribuição normal foi aplicado o teste t paramétrico e apenas o ponto 8 apresentou diferença significativa com o controle. Dos pontos com distribuição não normal foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon e apenas o ponto 3 apresentou diferença significativa com o controle. Então os pontos 3 e 8 de julho, foram considerados tóxicos nesse mês (Tabela 3). O ponto 3 também foi tóxico em março e junho e o ponto 8 em fevereiro.

Tabela 3: Resultado do ensaio agudo dos meses de junho e julho.

Ponto de -		Junho			Julho	
	Total de	% de		Total de	% de	Toxicidade
Coleta	fêmeas	fêmeas	Toxicidade	fêmeas	fêmeas	(NT e T)
	imóveis	imóveis		imóveis	imóveis	(N1 6 1)
Controle	1	5		0	0	
1	1	5	NT	2	5	NT
2	13	65	T	2	5	NT
3	10	50	T	17	85	T
4	3	15	NT	1	5	NT
5	4	20	NT	1	5	NT
6	0	0	NT	6	30	NT
7	0	0	NT	0	0	NT
8	3	15	NT	13	65	T
10	1	5	NT	0	0	NT

No último mês de coleta, em agosto, todos os resultados não apresentaram distribuição normal e as variâncias não foram homogêneas. Logo, foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon, que demonstrou diferença significativa do ponto 10 em relação ao controle, confirmando este como sendo tóxico aos organismos-teste (Tabela 4). Este ponto esta localizado na foz do rio Preto, na cidade de Areal, recebendo toda a carga de contaminantes desta sub-bacia. A diminuição do volume de precipitação verificada em agosto (Grafico 1) pode ter como consequência a concentração dos contaminantes de fontes pontuais despejados na sub-bacia, aumentando a toxicidade das águas.

Tabela 4: Resultado do ensaio agudo do mês de agosto (- = ponto não amostrado neste mês).

Ponto de		Agosto				
Coleta	Total de fêmeas imóveis	% de fêmeas imóveis	Toxicidade			
Controle	0	0				
1	0	0	NT			
2	-	-	NT			
3	0	0	NT			
4	0	0	NT			
5	0	0	NT			
6	0	0	NT			
7	1	5	NT			
8	1	5	NT			
9	0	0	NT			
10	15	75	T			

Nos ensaios realizados com *Daphnia similis* os pontos com toxicidade aguda em ordem decrescente foram 3 > 2=8 > 6=10. Destes, o ponto 3 apresentou efeito tóxico agudo em três dos sete meses amostrados (março, junho e julho) (Tabelas 1 e 3), em seguida aparecem os pontos 2 e 8 em dois meses (março e junho e fevereiro e julho, respectivamente) (Tabelas 1 e 3), e finalmente os pontos 6 e 10, tóxicos em um dos sete meses, março e agosto, respectivamente (Tabelas 1 e 4).

O mês de março apareceu com mais pontos com efeito agudo, 2, 3 e 6. Os pontos 2 e 3 estão no perímetro urbano da cidade de Petrópolis e o ponto 6 na área do reservatório da Usina Hidrelétrica (UHE) de Morro Grande, no rio Preto (Anexo 1). O mês de março foi o mês com maior precipitação do período amostrado, o que poderia aumentar a diluição dos contaminantes ao longo da bacia (Gráfico 1). O resultado obtido parece indicar a importância do escoamento superficial no aporte de contaminantes com efeito agudo para estes trechos amostrados. Os pontos 6 no rio Preto evidencia a carga de poluentes que este rio recebe e que se deposita no reservatório (Anexo 1).

Em relação aos parâmetros físico-químicos (Anexo 2) foi observado que a condutividade foi superior a 100 mS/cm nos pontos 2 e 3 em todos os meses amostrados, reforçando suas características de toxicidade. O OD foi inferior a 4,0 mg/L somente no ponto 3 em junho, onde de acordo com os critérios estabelecidos pelo CONAMA (2005) para a qualidade das águas, quando a OD for inferior a 4,0 mg/L, as águas podem ser destinadas apenas a navegação e a harmonia paisagística.

4.2 Ensaio Crônico

Os ensaios crônicos com longa duração e que avaliam os efeitos sobre a reprodução, crescimento e sobrevivência, respostas funcionais da biota do corpo receptor, permitem a observação de efeitos sub-letais decorrentes da acumulação dos contaminantes nos organismos e que causam efeitos que não são observados em exposições mais curtas.

Os resultados dos ensaios crônicos com *Pseudokirchneriella subcapitata* realizados no mês de fevereiro e de março apresentaram distribuição normal com variâncias homogêneas. Para todas as amostras foi aplicado o teste *t* paramétrico, o qual foi significativo em todos os pontos. Sendo assim, todos os pontos do mês de fevereiro e do mês de março foram considerados tóxicos para as algas (Tabela 5). O cálculo da porcentagem de inibição do

crescimento algáceo demonstrou que no mês de fevereiro (Gráfico 2) e março (Gráfico 3) todas as amostras tiveram a porcentagem de inibição de crescimento superior a 20%.

Tabela 5: Resultado do ensaio crônico (- = pontos não amostrados nestes meses).

Pontos de Coleta	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto
1	T	T	NT	T	NT	T	NT
2	T	T	T	T	NT	T	-
3	T	T	T	T	T	T	T
4	T	T	NT	T	NT	T	T
5	T	T	NT	T	T	T	T
6	T	T	T	T	T	T	T
7	T	T	NT	T	T	T	NT
8	T	T	T	T	T	T	T
9	-	-	-	-	-	-	NT
10	-	-	NT	T	T	T	NT

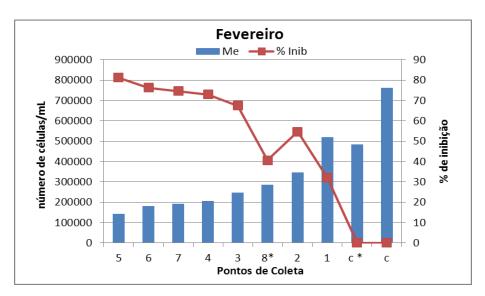


Gráfico 2: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de fevereiro, bacia do rio Piabanha, RJ. Me: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

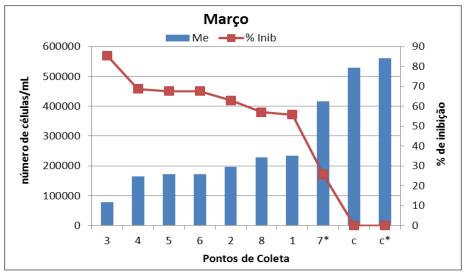


Gráfico 3: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de março, bacia do rio Piabanha, RJ. Me: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

Em abril, os resultados também apresentaram distribuição normal com variâncias homogêneas. O teste *t* paramétrico foi aplicado em todas as amostras, e teve resultado significativo nos pontos 2, 3, 6 e 8, considerando estes como tóxicos aos organismos-teste (Tabela 5). Estes pontos apresentaram a porcentagem de inibição de crescimento algáceo superior a 20% (Gráfico 4). A biomassa algácea final média foi maior no ponto 4,

caracterizando um ponto com eutrofização das águas do trecho do afluente coletado. Na região do rio Poço do Ferreira (Anexo 1) existe o cultivo de hortaliças, em grandes hortas na margem do rio, e a eutrofização observada pode ter ocorrido devido ao uso de fertilizantes nestas hortas que poderiam alcançar as águas por escoamento superficial.

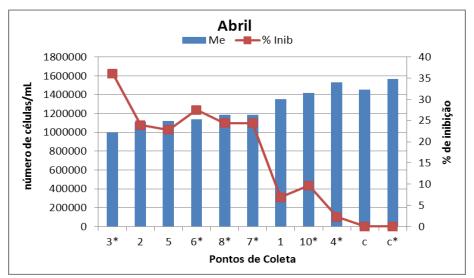


Gráfico 4: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de abril, bacia do rio Piabanha, RJ. Me: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

Os resultados de maio e julho foram semelhantes aos de fevereiro e março, a distribuição dos dados foi normal com variâncias homogêneas. Para todas as amostras foi aplicado o teste *t* paramétrico, o qual foi significativo em todos os pontos caracterizando todas as amostras como tóxicas aos organismos-teste (Tabela 5). No mês de maio, assim como nos meses de fevereiro e março, todas as amostras tiveram porcentagem de inibição superior a 20% (Gráfico 5). Em julho o ponto 3 apresentou a maior porcentagem de inibição do crescimento algáceo, tendo o mesmo também ocorrido nos meses de abril e março (Gráfico 6).

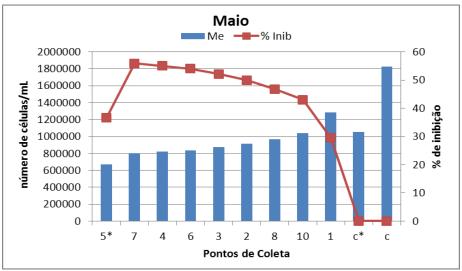


Gráfico 5: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de maio, bacia do rio Piabanha, RJ. ME: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

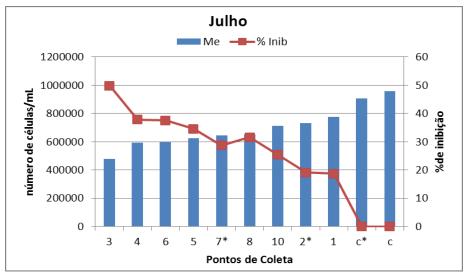


Gráfico 6: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de julho, bacia do rio Piabanha, RJ. ME: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

No mês de junho todos os dados apresentaram distribuição normal e todas as variâncias foram homogêneas. Os resultados do teste *t* paramétrico não foram significativos nos pontos 1, 2 e 4, os demais foram considerados tóxicos (Tabela 5). Todos os pontos que demontraram toxicidade crônica (3, 5, 6, 7, 8 e 10) neste mês tiveram a porcentagem de inibição superior a 20%.

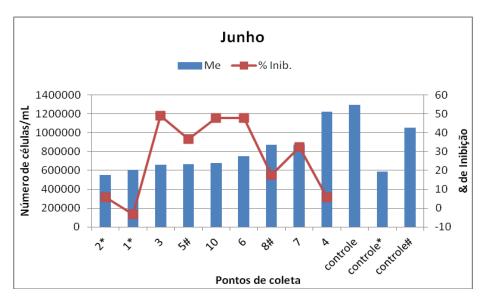


Gráfico 7: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de junho, bacia do rio Piabanha, RJ. ME: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* e # = ensaios realizados com inóculos diferentes).

No último mês de coleta, em agosto, todos os resultados apresentaram distribuição normal, e apenas as variâncias dos pontos 1, 7 e 10 não foram homogêneas. Foi aplicado o teste *t* paramétrico em todas as amostras. O resultado não foi significativo apenas nos pontos 1, 7, 9 e 10, os demais tiveram diferença significativa com o controle caracterizando-os como tóxicos aos organismos-teste (Tabela 5). Em agosto, nos pontos 1 e 9 a porcentagem de inibição do crescimento algáceo foi negativa, demonstrando que nestes pontos as algas tiveram crescimento maior do que no controle, e a média algácea final desses pontos foi a de maior número de células/mL quando comparadas as outras amostras (Gráfico 8).

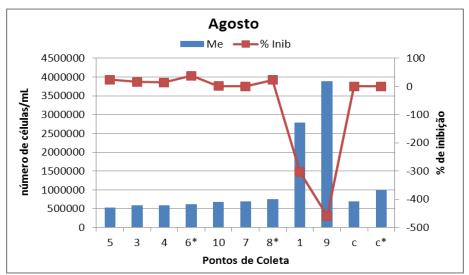


Gráfico 8: Biomassa algácea e Porcentagem de inibição do mês de agosto, bacia do rio Piabanha, RJ. ME: biomassa algácea final média; % Inib: Porcentagem de inibição do crescimento algáceo (* = ensaios realizados com inóculos diferentes).

Dos ensaios realizados com *Pseudokirchneriella subcapitata*, os pontos com toxicidade crônica em ordem decrescente foram 3=6=8>5>2=4=7>1>10. Os pontos 3, 6 e 8 apresentaram toxicidade crônica em todos os meses de amostragem. O ponto 5 apresentou toxicidade crônica em seis dos sete meses amostrados. Os pontos 2, 4 e 7 apresentaram toxicidade crônica em cinco dos sete meses amostrados. O ponto 1 em quatro dos sete meses amostrados e o ponto 10 em apenas 3 meses (Tabela 5).

Os meses de maio e julho aparecem com mais pontos, nove, com efeito crônico, seguidos de fevereiro e março com oito pontos, depois junho com seis pontos, seguido de agosto com cinco pontos e finalmente abril com quatro pontos (Tabela 5). O mês de maio apresentou as maiores temperaturas e a terceira menor precipitação do período amostrado, em julho a temperatura foi mais amena, porém a precipitação foi menor que em maio. Em março a precipitação foi a maior do período e em fevereiro ocorreu a segunda maior temperatura do período amostral e uma precipitação anormal para o período chuvoso. Em junho a precipitação foi semelhante a abril, porém as temperaturas foram menores do que neste mês. Agosto foi o mês com menor precipitação e temperaturas do período e abril com a terceira maior precipitação do período (Gráfico 1).

Aparentemente, a ocorrência de efeitos crônicos nos pontos amostrados está relacionada com contaminantes de fontes difusas e pontuais.

A tabela 6 compara os resultados obtidos nos ensaios agudo e crônico. Os pontos com toxicidade aguda e crônica simultâneas representaram 11% dos resultados obtidos e ocorreram nos pontos 2 (março), 3 (março, junho e julho), 6 (março) e 8 (fevereiro e julho). Os pontos com toxicidade aguda e não crônica representaram 3% dos resultados obtidos e ocorreram nos pontos 2 (maio) e 10 (agosto). Já os pontos sem toxicidade aguda e crônica representaram 16% dos resultados obtidos e ocorreram nos pontos 1, 4, 5, 7 e 10 (abril), 1, 4 (junho), 1, 7 e 9 (agosto). Nos restantes 69 % dos resultados obtidos houve toxicidade crônica mas não aguda. Estes resultados indicam que a bacia recebe uma contínua contaminação crônica com eventos agudos de curta duração.

Tabela 6: Resultados dos ensaios agudos e crônicos realizados nos sete meses estudados (- = pontos não coletados).

Pontos de	Ensaios Agudos/Crônicos								
Coleta	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto		
1	NT/T	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/NT		
2	NT/T	T/T	NT/T	NT/T	T/NT	NT/T	-		
3	NT/T	T/T	NT/T	NT/T	T/T	T/T	NT/T		
4	NT/T	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/T		
5	NT/T	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/T	NT/T	NT/T		
6	NT/T	T/T	NT/T	NT/T	NT/T	NT/T	NT/T		
7	NT/T	NT/T	NT/NT	NT/T	NT/T	NT/T	NT/NT		
8	T/T	NT/T	NT/T	NT/T	NT/T	T/T	NT/T		
9	-	-	-	-	-	-	NT/NT		
10	-	-	NT/NT	NT/T	NT/T	NT/T	T/NT		

5. CONCLUSÃO

A oscilação dos resultados obtidos entre os pontos com efeito tóxico agudo e crônico através dos ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia similis* e *Pseudokirchneriella subcapitata* está relacionada tanto as precipitações quanto às ações antrópicas ocorridas no período de coletas.

O aporte de contaminantes de fonte difusa, tais como escoamento superficial das ruas que margeiam os rios, ou pontual como efluentes domésticos e de pequenas e médias empresas parecem exercer influências em ambos os organismos-teste utilizados.

Em alguns pontos como o 2 e 3 no rio Piabanha e 6 e 8 nos rios Preto e Fagundes, respectivamente, há coincidência de efeitos agudos e crônicos, porém os efeitos sub-letais (crônicos) são preponderantes em toda a bacia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT NBR 12713. **Ecotoxicologia** aquática — **Toxicidade aguda — Método de ensaio com** *Daphnia* ssp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, ABNT. 2009. 23 p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT NBR 12648. **Ecotoxicologia** aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas. (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, ABNT. 2011. 28 p.

BUIKEMA, A. L.; SHERBERGUER, S. R. Daphnia. Carolina Tips, v.15, n.10, p.1-5, 1977.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para aplicação do biomonitoramento em programadas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 465-473, mar/abr. 2003.

COLUNA, N. M. E.; DIAS, H. C. T.; PINHEIRO, J. A. C. Análise temporal e espacial da qualidade da água na bacia hidrográfica do Zerede, Timóteo-MG. Anais I Seminário de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Paraíba do Sul: o Eucalipto e o Ciclo Hidrológico, Taubaté, Brasil, 07-09 novembro 2007, IPABHi, p. 207-214.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. 23p.

COPPETEC - COORDENAÇÃO DE PROJETOS, PESQUISAS E ESTUDOS

TECNOLÓGICOS - Governo do Estado do Rio de Janeiro. Secretaria do Ambiente. **Análise e Qualificação Socio-ambiental do Estado do Rio de Janeiro**: subsídios ao ZEE – Zoneamento Ecológico Econômico. Relatório da etapa IV fase 02: Regiões Hidrográficas Médio vale do Paraíba do Sul (RH-III), Piabanha (RH-IV), Dois Rios (RH- VII). v. 3, 695 p. Novembro, 2008.

DE PAULA, T. P. **Diagnóstico e modelagem matemática da qualidade da água em trecho do rio Piabanha/RJ**. 254 p. Dissertação (Mestradado em Engenharia Civil). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

GONÇALVES, R.C. Modelagem Hidrológica do tipo chuva-vazão via SMAP e TOPMODEL - Estudo de Caso: Bacia do Rio Piabanha/RJ. 173 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Ambiente Brasil. Hidrografia do Brasil. A rede hidrográfica brasileira tem elevadas condições de umidade na maior parte do território nacional, sendo considerada como a mais densa do planeta. 2012. Disponível em:

http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agua/recursos_hidricos/hidrografia_do_brasil.html Acesso em 12/12/ 2012.

INMET – INSTITUTO NACIONAL DE METEREOLOGIA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estação Automática de Petrópolis, Pico do Couto. 2012. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf. Acesso em: 23 de out. 2012.

KLING, A. S. M.. Aplicação do método Battelle na avaliação do impacto ambiental na bacia hidrográfica do rio Piabanha. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciências na área da Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2005.

LIMA, J. S. **O** Biomonitoramento como ferramenta complementar na avaliação de impactos ambientais - Discutindo Conceitos. Instituto de Educação Tecnológica. Belo Horizonte: Techoje, 2000. Disponível em: < http://www.techoje.com.br/site/techoje/categoria/detalhe_artigo/174>. Acesso em: 23 out. 2012.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. F. A Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.** v. 12, n. 3, p. 355-381. 2008.

MS - Ministério da Saúde. **Portaria 518**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2004. 34p.

ROFRIGUES, D. O.; SILVA, S. L. R.; SILVA, M. S. R. Avaliação ecotoxicológica preliminar das águas das bacias hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. **Acta Amazonica**. v. 39, n 4, p. 935-942. 2009.

ZAGATTO, P. A.; LORENZETTI, M. L.; LAMPARELLI, M. C.; SALVADOR, M. E. P.; MENEGON JR., N.; BERTOLETTI, E. Aperfeiçoamento de um índice de qualidade de águas. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 11, n. 2, p. 111-126. 1999.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática princípios e aplicações**. 2ª. ed. São Carlos: Editora Rima, 2008. 486 p.

ANEXO 1: Localização dos pontos de coleta na bacia do rio Piabanha, RJ.

Pontos de Coleta	Corpo Receptor	Município	Localização	Longitude (S)	Latitude (W)
1	Rio	Petrópolis	Bairro Moinho	22°28'39,6"	43°12'15,8"
	Piabanha		Preto		
2	Rio	Petrópolis	Bairro Bingen	22°30'38,898'	43°12'35,017'
	Piabanha				'
3	Rio	Petrópolis	Bairro Centro -	22°29'12,8"	43°10'37,1"
	Piabanha		Liceu		
4	Rio Poço	Petrópolis	Distritro de	22°26′39,2"	43°08′14,3"
	do		Correias		
	Ferreira				
5	Rio	Petrópolis	Distrito de	22°24'11"	43°08'04"
	Piabanha		Itaipava		
6	Rio Preto	Petrópolis/Areal	Tristão da	22°12'29,4"	43°02′46,4"
			Câmara		
7	Rio	Três Rios	Faz. Reunida N.	22°07'36,2"	43°08',35,7"
	Piabanha		S. de Fátima		
8	Rio	Três Rios	Alberto Torres	22°12'10,1"	43°09'37,2"
	Fagundes				
9	Rio	Petrópolis	Condomínio	22°28'38,86"	43°15'28,95"
	Cidade		Estância do		
			Rocio		
10	Rio Preto	Areal	Cidade de Areal	22°13'50,7"	43°06'03,7"

ANEXO 2: Parâmetros coletados in situ nos pontos de coleta da bacia do rio Piabanha, RJ.

			Cond.	OD		Dureza (mgCaCO ₃ /L	
Ponto	Data	рН	(μS/cm)	(mg/L)	Temp. °C)	Turbidez
	28/2/2012	8,13	13,39	6,78	19,2	5,16	limpido
	27/3/2012	8,77	16,91	5,96	19,8	7	limpido
	25/4/2012	8,58	19,54	6,49	18,4	13,2	limpido
1	29/5/2012	6,3	18,33	7,89	15,6	10,3	turvo
	26/6/2012	6,5	13,9	8,41	15,8	10,3	limpido
	31/7/2012	6,43	15,8	8,52	15,7	9,22	limpido
	31/8/2012	7,06	16,02	8,38	16,2	8,24	limpido
Media		7,39	16,27	7,49	17,24	9,06	
± DP		1,07	2,22	1,06	1,82	2,59	
	28/2/2012	7,2	114,2	5,62	24	18,92	limpido
	27/3/2012	8,77	118,8	4,79	19,2	23	limpido
	25/4/2012	6,84	120,8	3,8	21,6	22,8	limpido
2	29/5/2012	6,74	124,6	4,88	20,8	31,93	turvo
	26/6/2012	6,93	103,3	6,43	17,6	29,87	limpido
	31/7/2012	6,95	152,4	3,57	18,5	25,75	limpido
	31/8/2012	6,8	110,5	4,76	18,8	28	limpido
Media		7,17	120,66	4,83	20,07	25,75	
± DP		0,72	15,67	0,99	2,21	4,53	
	28/2/2012	7,35	132,6	4,98	26,1	20,64	limpido
	27/3/2012	6,73	152,7	4,79	22,7	27	limpido
	25/4/2012	8,05	152,9	4,26	23,7	26,4	limpido
3	29/5/2012	6,77	155,5	4,3	19	30,9	limpido
	26/6/2012	6,95	141,9	4,6	18,7	30,9	limpido
	31/7/2012	7,16	189,4	3,78	19,2	31,93	limpido
	31/8/2012	7,09	232,2	1,58	20,7	30,9	limpido
Media		7,15	165,31	4,04	21,44	28,38	
± DP		0,45	34,35	1,15	2,81	4,03	
4	28/2/2012	8,52	35,5	7,42	24,9	8,6	limpido
	27/3/2012	6,73	25,1	6,41	23,3	8,8	limpido
	25/4/2012	8,72	29,1	6,67	21,7	12,32	limpido
	29/5/2012	6,95	33,2	6,88	17	15,45	transparente
	26/6/2012	7,32	35,2	7,21	18,1	13,39	limpido
	31/7/2012	7,4	42,7	9,06	17	12,36	limpido
	31/8/2012	7,5	51,3	7,85	19,6	16,48	limpido
Media		7,59	36,01	7,35	20,23	12,48	
± DP		0,75	8,7	0,89	3,14	3	

						Dureza	
D I.	D.1.	.11	Cond.	OD ((L)	T 90	(mgCaCO₃/L	- 4.34.
Ponto	Data	рН	(μS/cm)	(mg/L)	Temp. °C)	Turbidez
	28/2/2012	6,81	99,6	5,62	27,4	17,2	limpido
	27/3/2012	6,63	83,2	4,83	24,6	22	limpido
	25/4/2012	6,72	115,7	5,16	22,6	22	limpido
5	29/5/2012	6,8	117,4	5,57	19,5	26,78	limpido
	26/6/2012	6,9	89,2	4,91	21,3	23,69	limpido
	31/7/2012	7,01	162,3	5,44	19,3	24,72	limpido
	31/8/2012	6,42	39,4	6,53	22,2	26,78	limpido
Media		6,75	100,97	5,44	22,41	23,31	
± DP		0,19	37,63	0,57	2,86	3,34	
	28/2/2012	7,88	50,9	5,7	28	13,76	limpido
	27/3/2012	7,18	47,4	4,8	25,4	18	marrom
	25/4/2012	8,31	60,3	6,18	23,1	16,36	marrom
6	29/5/2012	6,96	52,5	8,9	20	20,6	marrom
	26/6/2012	6,51	54,8	9	18	17,51	cinza
	31/7/2012	7,15	57,4	8,87	19,1	18,54	cinza
	31/8/2012	7,22	62,2	8,29	20,1	18,54	cinza
Media		7,31	55,07	7,39	21,96	17,61	
± DP		0,6	5,27	1,77	3,67	2,13	
	28/2/2012	8,11	61,2	7,32	27,7	14,62	marrom
	27/3/2012	8,26	62,5	6,07	32,2	15	marrom
	25/4/2012	8,19	62,7	6,52	24,2	20,24	marrom
7	29/5/2012	5,04	59,4	7,55	21	22,66	marrom
	26/6/2012	7,08	63,1	8,7	19,6	18,54	marrom
	31/7/2012	7,45	74,9	9,15	20,2	12,36	marrom
	31/8/2012	7,34	72,1	8,43	20,6	21,63	marrom
Media		7,35	65,13	7,68	23,64	17,84	
± DP		1,12	5,9	1,14	4,73	3,92	
	28/2/2012		33,6	6,9	26	10,32	marrom
	27/3/2012		51,8		25,3	14	marrom
	25/4/2012		40,9		23,7	12,32	marrom
8	29/5/2012		31,7	7,45	19	16,48	limpido
	26/6/2012		31,1	8,4		11,33	limpido
	31/7/2012		33	8,77		11,33	limpido
	31/8/2012		35,8	8,05	20,3		limpido
Media		7,6	36,84	7,45	21,66	12,88	
± DP		0,77	7,37	1	3,25	2,17	

						Dureza	
			Cond.(mS	OD		(mgCaCO3/I	L
Ponto	Data	рН)	(mg/L)	Temp. °C)	Turbidez
9	31/8/2012	6,9	13,8	8,87	16,4	6,18	limpido
	25/4/2012	7,09	68,2	4,65	23,1	16,72	barrenta
	29/5/2012	6,8	51,1	6,25	19	18,54	barrenta
10	26/6/2012	6,91	55,6	7,22	19,2	22,66	barrenta
	31/7/2012	7,02	59,3	8,33	19,3	20,6	barrenta
	31/8/2012	7,12	63,7	8,33	20,5	20,6	barrenta
Média		6,99	59,58	6,96	20,22	19,82	
± DP		0,13	6,69	1,55	1,71	2,26	