

CAPÍTULO 22

A ECOTOXICOLOGIA NO CONTEXTO ATUAL NO BRASIL

Daniel Clemente Vieira Rêgo da Silva¹, Marcelo Pompêo¹ & Teresa Cristina Brazil de Paiva²

1 - Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 2 - Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, Brasil.
E-mail: daniel_cruzeiro@yahoo.com.br

RESUMO

Devido ao crescente nível de pressão que os corpos hídricos vem sofrendo, particularmente do início do século XX até o presente, refletindo na qualidade da água e de vida dos organismos ali presentes, torna-se imprescindível o monitoramento destes. Este capítulo aborda um tema dos mais atuais em relação à análise da qualidade das águas, a ecotoxicologia, que é a ciência que estuda os efeitos das substâncias químicas sobre os organismos vivos e a interação destes com seu habitat, podendo a resposta ser aguda (exposição a curto prazo) ou crônica (exposição a longo prazo). A principal ferramenta legal no Brasil que regulamenta o controle do lançamento de efluentes e qualidade da água nos corpos hídricos é a resolução CONAMA nº 357/05, complementada e alterada pela CONAMA nº 430/2011, que dispõem sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Em vista do grande problema relativo à poluição aos quais rios e reservatórios estão expostos, monitoramentos são realizados com o propósito preventivo e corretivo, e testes ecotoxicológicos são poderosas ferramentas de avaliação da qualidade de suas águas, utilizando organismos testes como bioindicadores do potencial tóxico destes locais.

1 INTRODUÇÃO

1.1 A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA PARA O HOMEM

Mais de dois terços (70%) da superfície terrestre é recoberta por água, sendo a maior parte oceano (3,5% de NaCl), e o total de água doce perfaz menos de 1% da área (SCHMIDT-NIELSEN, 2002). Do total de água doce, 12% se encontram em território nacional.

Podemos observar vários problemas ambientais ainda não resolvidos, como a precariedade do sistema de água e de esgotos sanitários e industriais; uso abusivo de defensivos agrícolas; a inadequação das soluções utilizadas para o destino do lixo; níveis de poluição e contaminação hídrica, atmosférica, do solo, do subsolo e alimentar. (MORAES, 2002). Muitos países gastam muito com tratamentos de doenças relativas a própria água que deveriam tratar.

O aporte excessivo de nutrientes, a partir do escoamento agrícola e resíduos humanos, tem causado a muitos lagos *oligotróficos* uma mudança para condição *eutrófica* na qual intensos aportes de nutrientes levam à alta produtividade de fitoplâncton. Isto torna a água turva, elimina plantas maiores e, nas situações mais graves, leva a anoxia e morte dos peixes (*eutrofização cultural*) (TOWNSEND et al., 2010).

A água, sendo um dos principais fatores no desenvolvimento da população humana, tem sofrido crescente nível de pressão, particularmente do início do século XX até o presente, resultando não só a diminuição da qualidade desta para uso humano, como também a degradação dos ecossistemas aquáticos, refletindo assim na qualidade de vida dos organismos ali presentes.

Devido a todos os fatores acima abordados, é de suma importância que esforços corretivos e preventivos sejam alocados para os corpos hídricos, sendo o monitoramento destes, imprescindível para o desenvolvimento econômico, social, e para a sustentabilidade do planeta como um todo.

Este capítulo vem abordar um dos temas mais atuais em relação à análise da qualidade das águas, que é a ecotoxicologia. Não somente aborda o conceito, mas também a aplicação de suas análises. O objetivo principal aqui não é o aprofundamento no tema, mas sim um breve resumo do conteúdo já referido.

1.2 HISTÓRICO DA ECOTOXICOLOGIA

O termo ecotoxicologia foi introduzido por Truhalt em 1969, sendo derivado das palavras ecologia e toxicologia, sua introdução reflete a crescente preocupação sobre o efeito de compostos químicos ambientais sobre as espécies, além do homem (WALKER, 2006).

Em linhas gerais, a *ecologia* é a disciplina que se ocupa das relações entre os seres vivos e o ambiente. Por outro lado, a *toxicologia* estuda os efeitos adversos de determinada substância num dado organismo e procura clarear o mecanismo de ação tóxica no mesmo (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Diversos autores elucidam o surgimento da toxicologia, defendendo a tese de que ela nasceu nos primórdios da humanidade, antecipando-se a própria história escrita sobre o uso de venenos de animais e plantas com o propósito de auxiliar na caça e pesca e, com o envenenamento nas atividades de guerra (FUKUSHIMA, 2008).

Há relatos de que Aristóteles (384-322 a.C.), submeteu peixes de água doce à água do mar para estudar suas reações. O primeiro teste de toxicidade com organismos aquáticos que se tem notícia foi realizado em 1816 com insetos aquáticos (BUIKEMA; VOSHEL, 1993).

Embora os primeiros testes de toxicidade com despejos industriais tenham sido realizados entre 1863 e 1917, somente na década de 1930 foram implementados alguns testes de toxicidade aguda com organismos aquáticos, com o objetivo de estabelecer a relação causa/efeito de substâncias químicas e despejos líquidos (RAND, 1995).

Com o decorrer das pesquisas, no século XX, pode-se averiguar que muitas espécies utilizadas inicialmente apresentavam um padrão maior de resistência aos contaminantes testados, sendo que espécies mais sensíveis têm sido utilizadas desde então, dentre elas os microcrustáceos,

que serão abordados novamente no decorrer deste texto.

Esta é uma nova área que se identificou com os estudos dos efeitos prejudiciais de produtos químicos dentro do contexto da ecologia. Após este tempo (da década de 60 em diante), o foco da ecologia toxicológica, tem sido principalmente a preocupação com os efeitos prejudiciais dos compostos químicos ambientais sobre os humanos, além dos ecossistemas também (WALKER, 2006).

São inúmeros os estudos na área, e já estão em vigor várias normas e protocolos nacionais e internacionais que definem como devem ser realizados os testes, sendo assim, há um maior grau de confiabilidade nos resultados expressos nas análises ecotoxicológicas que se encontram dentro deste contexto.

Laboratórios também estão sendo certificados segundo selos de qualidade e sofrendo constantes auditorias, e isso inclui que todos os seus equipamentos devam ser calibrados e as normas utilizadas estejam atualizadas, para que possam se enquadrar nos padrões de qualidade internacional requeridos para seus respectivos fins.

1.3 ECOTOXICOLOGIA: DEFINIÇÕES E APLICAÇÕES

A ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias químicas sobre os organismos vivos, podendo a resposta ser aguda ou crônica (diferindo na duração e respostas finais que são obtidas), sendo uma ferramenta auxiliar nas análises de impactos ambientais causados por tais elementos, estimando assim sua toxicidade em relação ao organismo teste utilizado. Esta trata de movimentos de poluentes no ar, água, solos, e sedimentos através da cadeia alimentar, com as transformações químicas e biotransformação (WALKER, 2006).

Os resultados das análises químicas por si só não retratam o impacto ambiental causado pelos poluentes, pois não demonstram os efeitos sobre o ecossistema. Segundo Buss (2008), para que estas pudessem cumprir com uma função de identificar o problema de forma mais precisa, haveria a necessidade de um grande número de análises, geralmente custosas, o que inviabiliza seu uso como única ferramenta para a realização de um monitoramento temporal eficiente.

Somente os sistemas biológicos podem detectar os efeitos tóxicos das substâncias (MAGALHÃES; FILHO, 2008), demonstrando a importância destas análises na hora de se detectar se há ou não riscos à biota encontrada no local de enfoque da pesquisa. Costa (2008) reforça que as análises físicas e químicas tradicionalmente realizadas, tais como DBO, DQO, sólidos suspensos, concentrações de metais e de outras substâncias de caráter orgânico ou inorgânico, cujos limites encontram-se estabelecidos nas legislações ambientais, não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam o sistema biológico e as que são inertes no ambiente. Desta forma, segundo esse autor, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes por si próprias.

Enquanto as análises químicas identificam e quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, os testes de toxicidade avaliam o efeito dessas substâncias sobre sistemas biológicos (COSTA, 2008). Walker (2006) diz que parte destes compostos podem causar danos aos organismos, e estes serão considerados quando houver mudanças bioquímicas ou fisiológicas que adversamente afetam os indivíduos nas taxas de nascimento, crescimento, ou mortalidade.

O monitoramento através de métodos físicos e químicos aborda o tipo e a intensidade de fatores, inferindo apenas indiretamente sobre os efeitos nos organismos. Já o biomonitoramento, fornece informações sobre os efeitos de estressores no sistema biológico, podendo eventualmente inferir sobre a qualidade e quantidade do distúrbio. O uso combinado dessas ferramentas aumenta o potencial de detecção das causas e de avaliação dos efeitos de estressores sobre os ecossistemas aquáticos (BUSS, 2008), daí a importância da integração entre essas duas vertentes, sendo que uma complementa os resultados obtidos pela outra.

Jardim (2004) comenta que o teste de toxicidade aquática é uma ferramenta para o estudo dos efeitos dos agentes tóxicos sobre organismos aquáticos e está fundamentado no princípio de que a resposta dos organismos vivos depende da dose do tóxico a que foram submetidos.

Vale ainda salientar, que os ensaios de toxicidade podem refletir o sinergismo de todas as substâncias geradas num sistema, mostrando que as características isoladas de um elemento químico não podem garantir a preservação e manutenção da biota aquática, uma vez que os mecanismos e processos do sistema são diferenciados no tempo e no espaço (RODGHER, 2003).

Tais testes podem ser utilizados em várias análises, como em efluentes industriais, águas superficiais ou de outros compartimentos, sedimentos, solos, substâncias químicas/fármacos, etc. Em relação a isso, estas análises podem ser de dois tipos, sendo uma para verificação da consonância dos valores encontrados em relação aos padrões permitidos pelas legislações vigentes e a outra é com substâncias específicas, como os fármacos, em que são realizados testes com o objetivo de obter dados para registros químicos.

No caso de rios e reservatórios, não só a água deve ser analisada, mas também o sedimento, pois este funciona como um sumidouro temporário de poluentes, os quais, sob determinadas condições ambientais, podem ser liberados para a coluna de água, dessa forma podendo afetar direta ou indiretamente os organismos ali presentes.

A aplicação dos princípios de ecotoxicologia demanda a *seleção* de um organismo-teste e, segundo Magalhães; Filho (2008), para sua escolha estes devem ser abundantes e de grande disponibilidade, de significativa representação ecológica dentro das biocenoses e se ter conhecimento prévio de sua biologia, fisiologia e hábitos alimentares, sensibilidade constante e apurada, importância comercial, serem de fácil cultivo e se possível serem nativos.

Alguns fatores podem afetar nos resultados dos ensaios de toxicidade com organismos aquáticos, dentre eles, os fatores bióticos, que estão relacionados ao estágio de vida, tamanho, idade e estado nutricional dos organismos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008) e, sabendo-se da maior sensibilidade de organismos jovens em relação a substâncias tóxicas, opta-se pela utilização destes.

Segundo Sundfeld (2010), para os ensaios de toxicidade, são utilizados organismos sensíveis a uma diversidade de agentes químicos. Esta sensibilidade deve ser relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo a boa repetibilidade e reprodutibilidade dos testes.

Para que uma pesquisa tenha uma confiabilidade maior sobre a toxicidade de seu objeto de estudo, é recomendável a utilização de mais de um organismo-teste e, se possível, de níveis tróficos diferentes, pois cada organismo possui uma sensibilidade diferente a tais compostos, e não seria sensato inferir os resultados dos efeitos tóxicos sobre uma espécie como sendo para outra, mas se testes são realizados com vários organismos, e estes respondem de maneira parecida aos compostos, então realmente os resultados podem dar uma resposta mais abrangente do que está ocorrendo no ambiente.

Podemos ver um exemplo disto na pesquisa realizada por Novelli (2012), em que utilizou três organismos de táxons diferentes (*Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*) para avaliar os efeitos de uma substância química em ecossistemas aquáticos.

Enfim, várias respostas podem ser obtidas com os testes, e os parâmetros avaliados podem ser mortalidade, taxa de natalidade, crescimento, tamanho corporal médio, má formações, interferências no ciclo de vida, genotoxicidade, taxa de alimentação, etc., indicando assim, caso haja toxicidade, que o local de estudo ou substância testada pode estar afetando o organismo utilizado, podendo-se inferir os resultados até o nível de comunidade, caso organismos de táxons diferentes sejam utilizados.

Os resultados destas análises ecotoxicológicas podem servir de subsídios para ações de políticas públicas relacionadas ao uso da água e a preservação destes mananciais, daí ser uma ferramenta complementar em estudos de impactos ambientais adversos nos corpos hídricos.

1.4 ECOTOXICOLOGIA NO BRASIL (RESOLUÇÕES, NORMAS E PROTOCOLOS)

A principal ferramenta legal no Brasil que regulamenta o controle do lançamento de efluentes e qualidade da água nos corpos hídricos, a resolução CONAMA nº 357/05 dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem

como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes nestes corpos hídricos. O artigo 2º desta resolução e, os parágrafos XXI e XXII, definem os ensaios ecotoxicológicos como ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos, visando também avaliar o potencial de risco à saúde humana.

Mais recentemente, esta resolução foi complementada e alterada pela CONAMA nº 430/2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Em seu artigo 4º, parágrafo XIII, define os testes de toxicidade como métodos utilizados para detectar e avaliar a capacidade de um agente tóxico provocar efeito nocivo, utilizando bioindicadores dos grandes grupos de uma cadeia ecológica (CONAMA, 2011).

Segundo Zagatto; Bertolotti (2008), a ecotoxicologia permite avaliar os danos ocorridos nos diversos ecossistemas após contaminação e também prever impactos futuros, considerando assim a interação destes poluentes com o meio ambiente.

De acordo com Novelli (2005) e Vargas (2002), existe uma série de organizações e agências de normatização (nacionais e internacionais), as quais recomendam vários tipos de procedimentos e de espécies diferentes para a realização dos bioensaios, e dentre elas estão: *American Public Health Association* (APHA), *American Society for testing materials* (ASTM), *United States Environmental Protection Agency* (USEPA), *Association française de Normalisation* (AFNOR), *Associação Brasileira de Normas Técnicas* (ABNT), *International Organization for Standardization* (ISO) e *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD).

No Brasil, a ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) é uma das agências que elabora as normas de testes ecotoxicológicos, padronizando assim esses ensaios com organismos testes a serem utilizados, baseando-se nos conhecimentos adquiridos pelos pesquisadores desta, em relação às agências mais tradicionais, e, adaptando tais ensaios às nossas necessidades.

Cada Estado do Brasil contém um órgão ambiental responsável pela fiscalização dos recursos naturais, como o INEA (Instituto Estadual do Ambiente) no Rio de Janeiro, a FEAM (Fundação Estadual do Meio Ambiente) em Minas Gerais, o IPAAM (Instituto de Proteção Ambiental do Estado do Amazonas) no Amazonas, dentre vários outros. No entanto, neste documento, vamos nos ater ao Estado de São Paulo e, seu órgão ambiental, denominado de “Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo” – CETESB –, que nada mais é do que a agência do Governo do Estado responsável pelo controle, fiscalização, monitoramento e licenciamento de atividades geradoras de poluição, com a preocupação fundamental de preservar e recuperar a qualidade das águas, do ar e do solo, assegurando a participação e informação da população do Estado (CETESB, 2012).

A CETESB também possui suas próprias normas de testes ecotoxicológicos, as quais servem de base para a própria companhia realizá-los. Além disso, suas normas também servem de referência para os testes realizados no Brasil. Na Tabela 1* é apresentada a relação de normas atualizadas de ensaios ecotoxicológicos aquáticos continentais da ABNT e da CETESB.

Existem protocolos que já foram criados e são amplamente utilizados, mas que ainda não foram oficializados e catalogados pelas agências normatizadoras, como é o caso do protocolo descrito por FONSECA (1997), utilizando como organismo teste o *Chironomus xanthus*, pertencente à família dos Quironomídeos.

1.5 ECOTOXICOLOGIA NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS ÁGUAS DE RIOS E RESERVATÓRIOS

Diversas mudanças do ambiente aquático provêm da intervenção direta do homem, como é o caso das barragens, reservatórios e canais, inadequada ocupação de áreas para construções, utilização de terra para cultura e retirada de vegetação ciliar (SUNDFELD, 2010).

Em reservatórios a qualidade da água pode sofrer alteração após o barramento do rio e também decorrente dos lançamentos originados dos usos e ocupações dos espaços pelo homem. No

* Várias normas publicadas anteriormente pela CETESB relativas a ensaios ecotoxicológicos foram suspensas.

entanto, o termo qualidade das águas está estritamente relacionado ao uso destas pelos seres humanos (p. ex. potabilidade) e pelos organismos que ali vivem.

Várias são as causas de poluição, e dentre estas estão a emissão de efluentes por indústrias e residências, a lixiviação do solo de grandes plantações contendo diversos agentes químicos, etc. Desta forma, as atividades humanas exercidas na bacia, como o intenso uso de metais e outros contaminantes em atividades agrícolas, geração de energia elétrica (com a combustão de carbono), atividades industriais e resíduos domésticos e suas respectivas liberações na atmosfera, solo ou diretamente num corpo de água, impactam rios e reservatórios (FOSTER; CHARLESWORTH, 1996; YABE; OLIVEIRA, 1998; LOKESHWARI; CHANDRAPP, 2007; GALÁN; ROMERO, 2008). Estas elevadas concentrações podem comprometer a qualidade das águas e dos sedimentos e, os usos futuros de reservatórios, reforçando a necessidade de constante acompanhamento da concentração de metais e outros elementos nos compartimentos do sistema.

Tabela 1: Normas brasileiras sobre ensaios ecotoxicológicos

Agência	Norma	Descrição
ABNT	NBR 15469:2007	Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras
ABNT	NBR 12713:2009	Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com <i>Daphnia spp</i> (Crustacea, Cladocera)
ABNT	NBR 13373:2010	Ecotoxicologia aquática - Toxicidade Crônica – Método de ensaio com <i>Ceriodaphnia spp.</i> (Crustacea, Cladocera)
ABNT	NBR 15088:2011	Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Aguda – Método de ensaio com peixes
ABNT	NBR 15499:2007	Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica de Curta Duração – Método de ensaio com peixes
ABNT	NBR 12648:2011	Ecotoxicologia Aquática – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)
ABNT	NBR 15470:2007	Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade em sedimento – Método de ensaio com <i>Hyalella spp</i> (Amphipoda)
ABNT	NBR 15308:2011	Ecotoxicologia Aquática – Método de ensaio com misídeos (Crustácea)
CETESB	L5.227:2001	Teste de toxicidade com a bactéria luminescente <i>Vibrio fisheri</i> – Método de ensaio
CETESB	L5.228:2001	Teste de toxicidade aguda utilizando <i>Spirillum volutans</i> – Método de ensaio

Com base no que foi explanado, observa-se a importância destas análises no acompanhamento da qualidade das águas dos corpos hídricos, sendo que os testes podem ser realizados *in-situ* (no campo) ou *ex-situ* (laboratório), e independente de como o sejam, a resposta será sempre avaliada pela toxicidade que pode estar interferindo no ciclo de vida do organismo ou em sua imobilidade / morte.

Meregalli et al. (2000), diz que bioensaios *in-situ* tem sido a tempos realizados para monitorar os ecossistemas aquáticos, utilizando como organismos testes os peixes, cladóceros, tricópteros (insetos), anfípodos, quironomídeos, etc.

No Brasil, a realização de testes *in situ* ainda é incipiente (DORNFELD, 2006), sendo necessário maior esforço para o estabelecimento de metodologias mais adequadas às condições encontradas em países tropicais, já que as adaptações de ensaios de regiões temperadas podem não ser totalmente satisfatórias. Neste caso, como já abordado anteriormente, a utilização de espécies endêmicas se faz necessária, daí a necessidade de mais normas e protocolos específicos para nossa região.

No campo, os testes são realizados em câmaras de ensaio (Figura 1), nas quais os organismos são expostos à água ou sedimento do local e, no laboratório, são realizados experimentos com parâmetros controlados, como luz (fotoperíodo), temperatura, pH da água, condutividade, dureza, alimentos específicos para cada grupo de organismos etc., em recipientes contendo as amostras (Figura 2), de forma que seja um ambiente com condições semelhantes às do meio natural.

Deve-se salientar, no entanto, que não existe nenhum ensaio universal que possa ser usado em todas as situações para avaliação da toxicidade, assim como é óbvio que diferentes bioensaios não podem fornecer resultados equivalentes, devido às diferenças biológicas inerentes aos mesmos, frente a ampla gama de substâncias tóxicas existentes no meio (CETESB, 1988).

Em vista do grande problema relativo à poluição aos quais rios e reservatórios estão expostos, monitoramentos são realizados com o propósito preventivo e corretivo, e testes ecotoxicológicos é uma poderosa ferramenta de avaliação da qualidade de suas águas, utilizando organismos testes como bioindicadores do potencial tóxico destes locais.



Figura 1: Câmara de ensaio in situ SUNDFELD (2010).



Figura 2: Ensaio no laboratório.

1.6 TRANSPORTE DE POLUENTES PELA ÁGUA

Deve-se tomar cuidado com os termos que são utilizados dentro desta área (limnologia / ecotoxicologia), pois segundo Walker (2006), a distinção algumas vezes feita entre poluentes e contaminantes trazem grandes dificuldades. O termo “*poluente*” é tomado para indicar que o composto químico que ele descreve está causando danos ambientais, enquanto que o termo “*contaminante*” implica que o composto não é necessariamente prejudicial.

Os poluentes presentes na superfície da água existem em diversos estados. Podem estar em solução ou em suspensão. O material em suspensão pode estar em forma de gotículas (ex., óleo) ou partículas e, os poluentes, podem estar dissolvidos nas gotículas ou absorvidos pelas partículas sólidas. Todas essas formas podem ser transportadas pela água por distâncias consideráveis (WALKER, 2006).

Em rios, os poluentes são transportados sobre distâncias variadas. Em geral, a concentração dos poluentes continua caindo com distâncias maiores abaixo na foz, e isso talvez reflita na mudança de composição da fauna e flora. Uma vez que os poluentes são levados para lagos e oceanos, podem ser transportados por correntes (WALKER, 2006).

No caso dos reservatórios, estes poluentes chegam trazidos pela correnteza dos contribuintes, e se dispersam por todo o corpo hídrico segundo suas características, como profundidade, área superficial exposta ao vento, morfologia do mesmo, estratificação, tempo de retenção da água, dentre vários outros fatores.

1.7 ROTAS DE CONTAMINAÇÃO EM ORGANISMOS AQUÁTICOS

Os princípios básicos dos testes de toxicidade aquática são similares aos com organismos terrestres. Contudo, há questões particulares sobre as principais rotas de captação que influenciam alguns aspectos no desenho dos testes (WALKER, 2006).

Com organismos aquáticos, a captação direta pela água é a rota de maior importância (p. ex., através das guelras nos peixes). A captação também pode ocorrer através de seu alimento durante a passagem pelo sistema digestivo, e organismos bentônicos estão expostos aos resíduos nos sedimentos. A importância relativa destas rotas de captação difere entre organismos e compostos químicos, e depende das condições ambientais (WALKER, 2006).

Schmidt-Nielsen (2002), diz que a captura de alimento pelos organismos é feita por meio de uma diversidade de métodos mecânicos, que determinam a natureza do alimento que um dado animal pode obter e utilizar.

O mesmo autor (SCHMIDT-NIELSEN, 2002), diz que no meio aquático, estes alimentos podem estar presentes de diversas formas, como em pequenas partículas, grandes partículas ou massas, matéria orgânica dissolvida ou suprimento simbiótico de nutrientes.

Podemos entender melhor por meio destes mecanismos de captura de alimentos, fatores como bioacumulação e biomagnificação, e através de ensaios toxicológicos, obter dados acerca dos efeitos destes componentes no organismo dos animais utilizados.

De acordo Rodrigues (2005) apud Moriarty (1983), os processos de bioacumulação e biomagnificação potencializam os efeitos tóxicos de algumas substâncias, sendo que estas vão se acumulando nos organismos vivos, e quanto maior o tempo de exposição do ser vivo ao poluente, maior será a concentração desta substância tóxica acumulada no organismo.

Um dos principais motivos pela preocupação de como funcionam estas rotas de contaminação relativas à bioacumulação, ocorre porque os organismos de táxons superiores vão acumulando cada vez mais esses contaminantes, e isso pode ser um grande problema de saúde pública, visto que dependemos em parte de alimentos oriundos destes rios e reservatórios, além é claro, de preocupações relativas ao equilíbrio ecológico dos ecossistemas aquáticos, onde mudanças repentinas que levam à redução da qualidade das águas podem alterar as estruturas das redes alimentares, podendo acarretar num desequilíbrio ambiental.

Além disso*, em grandes concentrações, algumas substâncias possuem efeito agudo sobre a biota, podendo chegar até a eliminar espécies que antes eram abundantes na área, caso estas não sejam capazes de evitar tais compostos a tempo, talvez migrando para outro lugar.

1.8 MONITORAMENTO DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS

Muitos são os trabalhos relacionados com ecotoxicologia na atualidade e, no Brasil, isto é uma realidade que vem crescendo a cada dia com a necessidade do monitoramento dos corpos hídricos. Como já foi supracitado, são vários os organismos que podem ser utilizados em testes ecotoxicológicos, mas há certa tendência na escolha de algumas espécies, e vemos isso em trabalhos como os de Morais (2011), Castanha (2008), Meira (2009), Rodgher (2005) e Köhl (2010), os quais predominam organismos testes como *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*, possivelmente por serem de fácil cultivo e sensíveis à mudanças físicas e químicas do meio.

Em São Paulo, como já descrito anteriormente, a CETESB é responsável por fiscalizar e monitorar os corpos hídricos do Estado, sendo que esta instituição possui um laboratório específico de ecotoxicologia para realizar o monitoramento das águas, analisando vários parâmetros, dentre estes, os toxicológicos.

A CETESB realiza ensaios toxicológicos da água utilizando:

* Existem análises complementares de risco ambiental que são utilizadas em parceria com as ecotoxicológicas, conhecidas como “Avoidance” ou “Fuga”, cujo cunho principal são testes que apontam ou não para o comportamento de fuga dos organismos testados em relação à substância que se queira analisar.

- Microcistinas, Ensaio de Toxicidade Aguda com a bactéria luminescente - *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox); ensaio de Toxicidade Crônica com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* e ensaio de Mutação Reversa (teste de Ames).

E do sedimento utilizando:

- Deformidade em mento de *Chironomus sp.*, ensaio de Toxicidade Aguda com bactéria luminescente – *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox); ensaio de Toxicidade Aguda/Subletal com o anfípodo *Hyalella azteca* e ensaio de Mutação Reversa (teste Ames) (CETESB, 2011).

A agência também utiliza as normatizações publicadas pela ABNT.

Tabela 2: Pontos de amostragem realizados pela CETESB (CETEB, 2011)

Reservatório	Nomenclatura	Coordenadas
Paiva Castro	JQUJ 00900 (IET – Mesotrófico)	S 23° 20' 25" W 46° 39' 45"
Guarapiranga	GUAR 00900 (IET – Mesotrófico)	S 23° 40' 27" W 46° 43' 40"
	GUAR 00100 (IET – Eutrófico)	S 23° 45' 15" W 46° 43' 37"
Billings	GDE 02900 (IET – Mesotrófico)	S 23° 46' 07" W 46° 32' 00"
	RGDE 02200 (IET – Mesotrófico)	S 23° 44' 23" W 46° 26' 44"

No caso específico para a RMSP (Região Metropolitana de São Paulo) na Tabela 2 são apresentadas as coordenadas dos pontos de coleta de onde são retiradas amostras para os testes de toxicidade.

A CETESB publica anualmente um relatório com resultados para os testes ecotoxicológicos, com dados sobre os efeitos observados em porcentagem das amostras e, com isso, comparam os dados com monitoramentos anteriores, permitindo visualizar melhorias ou não na qualidade das águas em relação ao percentual de toxicidade.

1.9 APLICAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS EM SEDIMENTO

A capacidade do sedimento em acumular compostos faz deste compartimento um dos mais importantes na avaliação do nível de contaminação de ecossistemas aquáticos continentais (SCHROPP et al., 1990; ESTEVES, 1998).

Ainda, segundo Esteves (1998), a importância do sedimento como indicador do nível de poluição torna-se ainda mais relevante, quando se considera que as indústrias geralmente lançam seus despejos nos ambientes aquáticos nos finais de semana, quando o controle é reduzido. Neste caso, o sedimento pode atuar registrando a poluição ocorrida em dias anteriores.

O sedimento nada mais é do que um sumidouro de compostos que vão se acumulando com o tempo neste compartimento e, vez ou outra, podem ser liberados para a coluna d'água dependendo das condições locais ao qual este está submetido.

Zagatto; Bertolletti (2008) explicam que os materiais dissolvidos e particulados, de natureza orgânica e inorgânica, que adentram um ambiente aquático invariavelmente se associam, de alguma forma, através de processos de superfície, como a adsorção, complexação e reprecipitação, aos particulados preexistentes no ambiente e, subsequentemente, tendem a se decantar, no fundo desses ambientes, passando assim a fazer parte dos sedimentos.

Quanto menor forem os materiais particulados / sedimento, maior será a área superficial destes elementos, dessa forma aumentando o potencial de adsorção de poluentes.

Em testes com sedimento organismos de hábito bentônico são utilizados. A ABNT possui normas para sua utilização, veja na Tabela 1, a norma 15470:2007, que utiliza o amphípoda *Hyalella spp* como organismo teste e, além desta, Fonseca (2007) também criou um protocolo para utilização de um chironomídeo, o *Chironomus xanthus* (já apresentado anteriormente).

1.10 APLICAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS EM EFLUENTES

Os efluentes em geral, podem conter de centenas até milhares de produtos químicos e alguns, mesmo em pouca quantidade, podem ser responsáveis pela toxicidade aquática. Com o avanço da tecnologia industrial, milhares de compostos orgânicos potencialmente nocivos são lançados no meio ambiente podendo alterar ciclos biológicos, devido a sua toxicidade e potencialidades carcinogênicas e mutagênicas (HIGA, 2008).

Segundo a CONAMA nº 430/2011, em seu artigo 3º, os efluentes de qualquer fonte poluidora poderão ser lançados diretamente nos corpos receptores após o devido tratamento e desde que obedeam às condições, padrões e exigências dispostos nesta resolução e em outras normas aplicáveis (CONAMA, 2011).

No artigo 18, esta resolução determina que o efluente não poderá causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de ecotoxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente (CONAMA, 2011). Anteriormente à resolução CONAMA nº 430/2011, a resolução CONAMA nº 357/2005, lista e padroniza os valores máximos dos compostos que podem estar presentes nos efluentes (CONAMA, 2005).

No teste tóxico agudo, a toxicidade se expressa pelo valor da concentração letal a 50% (CL₅₀), que indica a concentração de tóxico no meio que leva à morte ou inibição de metade dos organismos estudados da população considerada (ANDRADE, 2004).

O teste tóxico crônico é expresso em termos da concentração mais elevada que estatisticamente não teve efeito observado significativo (CENO) nas suas respostas em comparação com o teste controle e em termos de concentração mais baixa, que estatisticamente provocou um efeito observado significativo (CEO) (ANDRADE, 2004).

Para isso, geralmente, a partir de uma determinada concentração específica do efluente, realizam-se 5 ou mais diluições, expõem-se os organismos a elas, tanto no teste agudo quanto crônico, e tratam-se os dados estatisticamente. Existem diversos programas para isso, específicos da área de ecotoxicologia, como o TOXSTAT® e Spearman-Kärber®.

Alguns autores tentaram estabelecer faixas de toxicidade com o intuito de fazer uma classificação de efluentes por níveis de toxicidade, facilitando assim a visualização e interpretação dos resultados. Segundo Coelho (2006) a difícil tarefa de comparar diretamente os resultados da avaliação da toxicidade entre as espécies é minimizada quando se trabalha com valores relativos.

O mesmo autor (COELHO, 2006) apud (BULICH, 1982), faz referência a estas faixas de toxicidade (Tabela 3).

Os resultados expressos neste experimento permitem chegar numa conclusão sobre qual seria o grau de diluição de um efluente para que este não represente risco potencial para a biota local aonde será despejado, após tratamento prévio.

Tabela 3: Graus de toxicidade

GRAU DE TOXICIDADE	
CE - 50 (% v/v)	Classificação
< 25	Muito tóxica
25-50	Moderadamente tóxica
51-75	Tóxica
> 75	Levemente Tóxica

1.11 TESTES AGUDOS E CRÔNICOS

Os testes de toxicidade podem ser agudos ou crônicos, cada um objetivando avaliar situações e parâmetros diferentes, mas obtendo respostas que podem se complementar.

Ensaio agudo de toxicidade avaliam em geral efeitos severos e rápidos que ocorrem em um

curto espaço de tempo nos organismos testados, avaliando a mortalidade e imobilidade destes, ou seja, obtêm-se com esta análise uma resposta imediata do organismo em relação ao composto/amostra ao qual foi exposto.

Como exemplo, tem-se o ensaio agudo com *Daphnia similis*, com uma duração de 48hs em um sistema estático, onde não ocorre alimentação nem troca da amostra a ser testada.

Por serem menos custosos e de fácil realização, estes foram os precursores dos ensaios ecotoxicológicos atuais.

Ensaio crônicos avaliam a ação dos compostos sobre parte ou o ciclo completo de vida do organismo testado. De acordo com Zagatto; Bertoletti (2008), no ambiente aquático, devido a fatores de diluição, em geral, os organismos estão expostos a níveis sub-letais dos poluentes, a menos que estejam em local cujas concentrações de contaminantes possam causar efeitos agudos, sendo que esta exposição em níveis sub-letais, pode causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais a longo prazo, daí a necessidade do uso de testes de longa duração, permitindo assim a avaliação dos efeitos adversos mais sutis aos organismos expostos.

Os mesmos autores (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008), dizem também que os ensaios de toxicidade crônica mais difundidos no mundo são os testes com *Daphnia*, com duração de 21 dias, e com *Ceriodaphnia*, de 7 dias de duração. Este último tem sido mais utilizado para a avaliação de toxicidade crônica de amostras ambientais (águas e efluentes líquidos), enquanto o teste com *Daphnia* é mais utilizado para a avaliação da toxicidade de novas formulações químicas. Nestes casos, a mortalidade / imobilidade dos adultos (teste agudo) e natalidade (teste crônico) são os parâmetros mais avaliados.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ecotoxicologia é uma ferramenta importante na avaliação da toxicidade de diversos compostos. Seus resultados demonstram o potencial tóxico das amostras estudadas, através da utilização de organismos bioindicadores, em que vários parâmetros são analisados durante os testes, como mortalidade, natalidade, crescimento, taxa de alimentação, etc.

Os resultados podem ser utilizados como subsídios para os tomadores de decisão em relação às políticas públicas de meio ambiente, dessa forma influenciando nos contextos relacionados a um maior controle do lançamento de poluentes nos corpos hídricos e fiscalização eficaz dos mesmos pelas agências ambientais.

Devido ao aumento da população humana e habitação irregular em áreas de bacia de drenagem, à crescente poluição dos mananciais, e à necessidade contínua da utilização cada vez maior dos corpos hídricos para abastecimento, a ecotoxicologia se tornou uma tendência mundial nas últimas décadas, sendo abordada pela legislação ambiental de vários países, incluindo a brasileira.

Em nosso país, as pesquisas na área já se encontram em nível avançado, e, além dos testes realizados pelas universidades e agências ambientais, o setor privado possui empresas de consultoria com laboratórios equipados e calibrados segundo padrões internacionais de qualidade.

Espera-se que as pesquisas nesta área possam ser aprimoradas cada vez mais, e que novos protocolos com outros organismos possam ser catalogados e normatizados pelas agências afins. Dessa maneira, com mais organismos sendo utilizados simultaneamente, de diversos táxons, dentro de uma mesma pesquisa, ou entre pesquisas compartilhadas, as respostas obtidas por tais possam produzir dados mais concretos e realistas acerca dos efeitos adversos dos poluentes sobre os corpos hídricos e suas comunidades.

Outros estudos mais recentes, como os de “avoidance” (fuga), estão sendo testados com vários organismos de diferentes níveis tróficos, sendo esta nova metodologia (área de análise de riscos ambientais) algo inovador, cujas respostas possuem maior teor ecológico, indicando em que ponto (concentração de alguma substância) o organismo utilizado inicia o processo de fuga antes da ocorrência de efeitos colaterais sobre seu corpo.

Neste caso, seria interessante intercalar aos estudos de toxicidade, os de “avoidance”, dessa

maneira obtendo maior número de resultados qualitativamente diferentes / complementares, prevendo os futuros cenários envolvendo as populações e comunidades existentes no local de estudo em relação à poluição a qual tais organismos estão sendo expostos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP (Projetos nº 2006/ 51705-0, 2008/00784-3, 2009/16652-1) e ao CNPq (Projeto nº 471404/2010-1).

REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15469**: ecotoxicologia aquática – preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2007a.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: água – ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2004.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13373**: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2006a.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **15088**: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15499**: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2007.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648**: ecotoxicologia aquática – método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15470**: ecotoxicologia aquática – toxicidade em sedimento - método de ensaio com *Hyaella spp* (Amphipoda). Rio de Janeiro, 2007.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15308**: ecotoxicologia aquática – método de ensaio com misídeos (Crustácea). Rio de Janeiro, 2011.
- ANDRADE, R. M. S. L. **Efeitos da exposição de peixe zebra, *Danio rerio*, a um efluente têxtil**. 2004. 75 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2004.
- BUIKEMA, A. L.; VOSHELL, J. R.. Toxicity studies using freshwater benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (Eds.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman and Hall, 1993. p. 344-398.
- BULICH, A. A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. **Process Biochem.**, v. 17, p. 45-47, 1982.
- BUSS, D. F. et al. Monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos continentais. **Oecol. Bras.**, v. 12, n. 3, p. 339-345, 2008.
- CASTANHA, R. F. Avaliação ecotoxicológica e bacteriológica de fontes alternativas de água. **Revista Ciências do Ambiente On-Line**, v. 4, n. 2, p. 1-6, ago. 2008.
- CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Norma Técnica L5.228**: teste de toxicidade água utilizando *Spirillum volutans* - método de ensaio. São Paulo, 1988.
- CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Norma Técnica L5.227**: teste de toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* – método de ensaio. São Paulo, 2001.
- CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Norma Técnica L5.228**: teste de toxicidade aguda utilizando *Spirillum volutans* – método de ensaio. São Paulo, 2001.
- CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório**: qualidade das águas superficiais

no Estado de São Paulo - 2011. São Paulo: CETESB, 2012.

CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Planejamento estratégico**. São Paulo: CETESB - Departamento de Desenvolvimento Institucional Estratégico, 2012.

COELHO, R. S. **Avaliação da toxicidade de fluídos de usinagem através da ecotoxicologia aquática**. 2006. 136 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

CONAMA. **Resolução CONAMA 357/2005, de 17 de Março de 2005**. Dispõem sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, Ministério do Meio ambiente, 2005.

CONAMA. **Resolução CONAMA 430/2011, de 13 de Maio de 2011**. Dispõem sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a resolução nº357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, 2011.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DORNFELD, C. B. Comparação de bioensaios laboratoriais e "in situ" utilizando *Chironomus xanthus* na avaliação da toxicidade de sedimentos do Rio Monjolinho (São Carlos, SP). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 2, p. 161-165, 2006.

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

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

FOSTER, I. D. L.; CHARLESWORTH, S. M. **Metals in the hydrological cycle: trends and explanation**. **Hydrological Processes**, v. 10, p. 227-261, 1996.

FUKUSHIMA, A. R.; AZEVEDO, F. A. História da toxicologia. Parte I: breve panorama brasileiro. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 1, n. 1, p. 2-32, out 2008.

GALÁN, E.; ROMERO, A. Contaminación de suelos por metales pesados. **Macla**, v. 10, p. 48-60, 2008.

HIGA, M. C. **Aplicação de ensaios de toxicidade na avaliação da eficiência da radiação ionizante e da adsorção em zeólitas para o tratamento de efluentes coloridos**. 2008. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2008.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água do sedimento do Rio Corumbataí, SP**. 2004. 119 p. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

KÜHL, A. M. Rural and urban streams: anthropogenic influences and impacts on water and sediment quality. **International Rev. Hydrobiol.**, v. 95, n. 3, p. 260-272, 2010.

LOKESHWARI, H.; CHANDRAPPA, G. T. Effects of heavy metal contamination from anthropogenic sources on Dasarahalli tank, India. **Lakes & Reservoirs: Research and Management**, v. 12, p. 121–128, 2007.

MAGALHÃES, D. P.; FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MEIRA, A. L. O. S. et al. Bioensaios de toxicidade no reservatório da usina hidrelétrica de Ilha Solteira-SP, abrangendo os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul. **Revista Ceciliana**, v. 1, n. 2, p. 170-174, 2009.

MEREGALLI, G. et al. The use of chironomide deformation in a in situ test for sediment toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, p. 23–28, 2000.

MORAIS, A. V. et al. Avaliação da qualidade ambiental do rio Itaguapé, Bertioga-SP, com base em testes de toxicidade e indicadores microbiológicos de balneabilidade. **O mundo da Saúde**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 55-63, 2011.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

- MORIARTY, F. **Ecotoxicology: the Study of Pollutants in Ecosystems**. New York: Academic Press, 1983.
- NOVELLI, A. **Estudo limnológico e ecotoxicológico da água e sedimento do Rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência do cádmio e cobre**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- NOVELLI, A. et al. Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, v. 86, n. 1, p. 36-40, Jan. 2012.
- RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. 2. ed. Washington: Taylor & Francis, 1995. 1125 p.
- RODGHER, S. et al. Limnological and ecotoxicological studies in the cascade of reservoir in the Tietê river (São Paulo, Brazil). **Braz. J. Biol.**, v. 65, n. 4, p. 697-710, 2005.
- RODGHER, S. et al. Ecotoxicological analysis of the water and sediment from middle and low Tietê River Cascade Reservoirs (State of São Paulo, Brazil). **Acta Limnol. Bras.**, v. 15, n. 3, p. 81-93, 2003.
- RODRIGUES, N. L. V. B. **Testes de toxicidade aguda através de bioensaios no extrato solubilizado dos resíduos Classe II A - não inertes e Classe II B – inertes**. 2005. 122 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Santos Livraria e Editora, 2002. 611 p.
- SCHROPP, S. J.; LEWIS, F. G.; WINDOM, H. L.; RYAN, J. D.; CALDER, F. D.; BURNEY, L. C. Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of Florida using aluminum as a reference element. **Estuaries**, v. 13, n. 3, p. 227-235, 1990.
- SUNDFELD-PENIDO, J. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do Ribeirão Limeira – Piquete / Lorena-SP**. 2010. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.
- TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2010. 576 p.
- VARGAS, G. L. P. **Avaliação ecotoxicológica da Represa da Pampulha (MG) e seus principais tributários**. 2002. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2008. 486 p.
- WALKER, C. H. et al. **Principles of ecotoxicology**. 3. ed. New York: CRC Press, 2006.
- YABE, M. J. S.; OLIVEIRA, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 551-556, 1998.