



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

*PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
BIOMONITORAMENTO*



CRISTIANO VENÍCIUS DE MATOS ARAÚJO

*AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA LAGOA DE
DUNAS (CAMAÇARI, BAHIA, BRASIL)*

SALVADOR - BAHIA

2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

*PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
BIOMONITORAMENTO*



CRISTIANO VENÍCIUS DE MATOS ARAÚJO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA LAGOA DE
DUNAS (CAMAÇARI, BAHIA, BRASIL)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento, da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Biomonitoramento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo M. da Silva

Co-orientadora: Dra. Carla B. A. Chastinet

SALVADOR - BAHIA

2005

Aos meus pais, Antônio Délcio e
Neuza Araújo, às minhas irmãs,
Luciana e Emanuela, à minha noiva
Carina Sampaio e a todos os
mentores que me acompanharam
durante esta jornada,
dedico-a!

"Quem conhece a sua ignorância
revela a mais profunda sapiência.
Quem ignora a sua ignorância vive
na mais profunda ilusão". (*Lao-Tsé*)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades e pelas pessoas e espíritos que tem colocado ao meu lado.

À minha família, que sempre acreditou e investiu em mim.

À Carina Sampaio pela companhia e compreensão, e pela revisão do trabalho, agradecimento este extensivo à sua família, em especial a Corinto e Juliana.

A Eduardo Mendes da Silva e à Carla Chastinet, por acreditarem em mim e terem me dado as ferramentas necessárias para que eu construísse minhas dúvidas e respostas.

Aos Profs. Lectícia Scardino e Osvaldo M. Santos, com os quais comecei minhas atividades de pesquisa.

Aos amigos de todas as horas Fabio Fernandes, Lander Alves e Salomão Pinho.

A todos do laboratório de Ecotoxicologia: Flávia Delgado, Hêmyle, Ianara, Ionara, Jéssica, Júlia Niemeyer, Kátia, Lúcia Cristina, Maurício, Samanta, Steve e Vanessa, que de alguma forma ajudaram para a execução deste trabalho.

À Jorgelina Costa por ter colaborado nas análises físico-químicas e à Prof^a. Lourdes Elmoor-Loureiro pela identificação dos cladóceros.

À Millennium Inorganics Chemical pelo suporte de toda ordem e por permitir o acesso à área de estudo, em especial à Cristiane Motta e Vilmar Oliveira.

Ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento e ao Instituto de Biologia, em especial ao Departamento de Botânica.

À Jussara, secretária do programa de Pós-Graduação, pela atenção dispensada.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus colegas e professores do Mestrado.

À minha prima Valéria Monteiro e ao Prof. Rui Ribeiro pela revisão do trabalho e à Marilene Daltro, Osvaldo Neto e Wilson Edington pela análise ortográfica e sintática.

Obrigado e desculpas a todos que colaboraram, mas que não foram citados.

SUMÁRIO

Apresentação	07
Referências bibliográficas	10
1 Discriminação da toxicidade do pH para <i>Poecilia reticulata</i> Peters, 1859 na Lagoa de Dunas (Camaçari, Bahia, Brasil)	12
Resumo	12
Abstract	12
1.1 Introdução	13
1.2 Materiais e métodos	15
1.2.1 Área de estudo e seu processo de contaminação	15
1.2.2 Amostras	18
1.2.3 Análises físico-químicas	18
1.2.4 Organismo-teste e aclimatação	19
1.2.5 Ensaio	19
1.2.6 Análise dos dados	20
1.3 Resultados e discussão	20
1.4 Conclusões	25
Referências bibliográficas	26
2 Bioensaios <i>in situ</i> e laboratoriais com <i>Poecilia reticulata</i> Peters, 1859 no biomonitoramento de um ecossistema tropical acidificado (Lagoa de Dunas: Camaçari, Bahia, Brasil)	33
Resumo	33
Abstract	33
2.1 Introdução	34
2.2 Materiais e métodos	35
2.2.1 Área de estudo	35
2.2.2 Amostras	36
2.2.3 Análises físico-químicas	36

2.2.4	Organismo-teste e aclimatação	36
2.2.5	Ensaio laboratoriais	37
2.2.6	Ensaio <i>in situ</i>	37
2.2.7	Análise dos dados	38
2.3	Resultados e discussão	39
2.4	Conclusões	43
	Referências bibliográficas	44
3	Potencial de <i>Latonopsis australis</i> Sars, 1888 e <i>Macrothrix elegans</i> Sars, 1901 como biomonitorios de uma lagoa acidificada	47
	Resumo	47
	Abstract	47
3.1	Introdução	48
3.2	Materiais e Métodos	50
3.2.1	Área de estudo	50
3.2.2	Amostras	51
3.2.3	Análises físico-químicas	51
3.2.4	Organismos-teste, cultivo e aclimatação	51
3.2.5	Ensaio	52
3.2.6	Análise dos dados	53
3.3	Resultados e discussão	53
3.4	Conclusões	57
	Referências bibliográficas	59
	Considerações finais	63
	Referências bibliográficas	64

APRESENTAÇÃO

As investigações de cunho ecológico têm como proposta básica compreender e explicar fenômenos naturais, processos ecológicos e/ou padrões de distribuição, abundância, diversidade e interações das espécies (Andrew & Mapstone, 1987; Underwood, 1990). O desenvolvimento das atividades industriais em larga escala e o aumento de lançamento de rejeitos nos ecossistemas acarreta, muitas vezes, alterações na estrutura e no funcionamento destes, dificultando essas investigações.

Os estudos ecológicos, isoladamente, não são capazes de avaliar os efeitos da contaminação sobre o ambiente, particularmente, no que se refere às relações entre os contaminantes e os organismos, e como estes alteram a estrutura da comunidade, seja por via direta, pela toxicidade, ou indiretamente, pela cadeia alimentar, pois somente a combinação da ecologia com a toxicologia é que permite isso (Chapman, 2002).

A avaliação de risco ambiental é uma das maneiras de avaliar o efeito de uma substância ou de um grupo destas, tais como efluentes, na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Lacher Jr. & Goldstein, 1997; Chapman, 2002). Durante muito tempo, estas avaliações estavam restritas à identificação e quantificação de substâncias, ou seja, quais substâncias ocorriam e em que quantidade estavam presentes. Tais informações, embora de grande valia não prevêm, nem tampouco identificam os efeitos dos rejeitos ou o potencial tóxico destes para os organismos, que só pode ser obtido com o uso dos bioensaios (testes ecotoxicológicos) (Fernández *et al.*, 1995). Assim, ambos os métodos, físico-químicos e biológicos, são indispensáveis e complementares nos estudos de avaliação de risco (Villegas-Navarro *et al.*, 1999).

Sob essa óptica, a Ecotoxicologia surge como uma ciência destinada a identificar e avaliar o impacto atual e potencial de compostos químicos, efluentes, amostras de água em geral (Calow, 1989; da Silva *et al.*, 1998) e de sedimentos (Bennett & Cubbage, 1992; Guzzella *et al.*, 1996) sobre os organismos, seja em

termos populacionais ou de comunidade. É através dos ensaios ecotoxicológicos que se pode detectar os efeitos da toxicidade aguda ou crônica das substâncias sobre os organismos-teste (Boluda *et al.*, 2002), funcionando como um complemento importante para as técnicas analíticas tradicionais (Fernández *et al.*, 1995).

O foco principal do presente trabalho é de cunho ecotoxicológico, buscando, através desta ferramenta, realizar um programa de biomonitoramento de um ecossistema acidificado, a Lagoa de Dunas (Camaçari, Bahia, Brasil), cujas características e todo o processo de contaminação serão mais amplamente abordados ao longo do trabalho. Todos os ensaios realizados foram do tipo estático (sem renovação das amostras durante o experimento) e agudo (efeito em curto prazo), avaliando a mortalidade/imobilidade nos organismos. Para melhor entendimento, as atividades desenvolvidas foram divididas em três capítulos, os quais foram intitulados como: Capítulo 1 - Discriminação da toxicidade do pH para *Poecilia reticulata* Peters, 1859 na Lagoa de Dunas (Camaçari, Bahia, Brasil); Capítulo 2 - Bioensaios *in situ* e laboratoriais com *Poecilia reticulata* Peters, 1859 no biomonitoramento de um ecossistema tropical acidificado (Lagoa de Dunas: Camaçari, Bahia, Brasil) e o Capítulo 3 - Potencial de *Latonopsis australis* Sars, 1888 e *Macrothrix elegans* Sars, 1901 como biomonitores de uma lagoa acidificada.

No primeiro capítulo, buscou-se: i) avaliar o potencial de toxicidade da redução do pH neste ecossistema para o peixe *P. reticulata*; ii) identificar possíveis reduções na toxicidade devido à elevação do pH da Lagoa de Dunas e iii) determinar a partir de qual valor de pH não se observará mortalidade em neonatos desta espécie.

No capítulo seguinte, foi utilizado o mesmo organismo-teste, porém realizando ensaios laboratoriais e *in situ*. Neste estudo, investigou-se a adequabilidade dos bioensaios agudos *in situ* no biomonitoramento da Lagoa de Dunas e a viabilidade da implementação dos mesmos no plano de biomonitoramento deste ecossistema. Buscou-se também avaliar se as respostas

obtidas em campo eram semelhantes às dos ensaios laboratoriais e comparar a exatidão e precisão encontrada em cada ensaio.

Para o terceiro e último capítulo foram usadas duas espécies de cladóceros, *Latonopsis australis* Sars, 1888 (Cladocera, Sididae) e *Macrothrix elegans* Sars, 1901 (Cladocera, Macrothricidae), objetivando monitorar a Lagoa de Dunas, bem como avaliar e comparar o potencial de ambas espécies como biomonitores. Por serem organismos de ocorrência tropical, este trabalho se propôs também a indicar uma nova espécie para estudos ecotoxicológicos, com relevância para os ecossistemas em que potencialmente podem ocorrer, ao contrário da maioria dos ensaios com metodologias padronizadas, em que são utilizadas espécies de ocorrência em regiões temperadas, sem significado ecológico para ambientes tropicais.

Ao longo destes três capítulos é possível ter uma visão, ainda que geral, do estado ecotoxicológico da Lagoa de Dunas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrew, N.L. & Mapstone, B.D. 1987. Sampling and the description of spatial pattern in marine ecology. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 25: 39-90.

Bennett, J. & Cabbage, J. 1992. Review and evaluation of Microtox[®] test for freshwater sediments. Washington State Department of Ecology, Olympia, WA.

Boluda, R.; Quintanilla, J.F.; Bonilla, J.A.; Sáez, E. & Gamón, M. 2002. Application of the Microtox test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). *Chemosphere* 46: 355-369.

Calow, P. 1989. The choice and implementation of environmental bioassays. *Hydrobiologia* 188/189: 61-64.

Chapman, P.M. 2002. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. *Mar. Pollut. Bull.* 44: 7-15.

da Silva, E.M.; Soares, A.M.V.M.; Sobral, O.M.F.; Lopes, I.M.C.A.; Correia, J.F.J.S.; Marchante, E.M.D.C.; Chastinet, C.B.A.; Moreno, A.J.M. 1998. Ecotoxicological responses of isolated mitochondrial systems to complex effluents. Are they worthwhile? *Chemosphere* 37: 2695-2701.

Fernández, A.; Tejedor, C.; Cabrera, F. & Chordi, A. 1995. Assessment of toxicity of river water and effluents by the bioluminescence assay using *Photobacterium phosphoreum*. *Wat. Res.* 29: 1281-1286.

Guzzella, L.; Bartone, C.; Ross, P.; Tartari, G. & Muntau, H. 1996. Toxicity identification evaluation of Lake Orta (Northern Italy) sediments using the Microtox system. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 35: 231-235.

Lacher Jr., T.E. & Goldstein, M.I. 1997. Tropical ecotoxicology: status and needs. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(1): 100-111.

Underwood, A.J. 1990. Experiments in ecology and management: Their logics, functions and interpretations. *Australian Journal of Ecology* 15: 365-389.

Villegas-Navarro, A.; Romero González, M.C. & Rosas López, E. 1999. Evaluation of *Daphnia magna* of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environ. Int.* 25(50): 619-624.

CAPÍTULO 1

DISCRIMINAÇÃO DA TOXICIDADE DO pH PARA *Poecilia reticulata* PETERS, 1859 NA LAGOA DE DUNAS (CAMAÇARI, BAHIA, BRASIL)

RESUMO

Buscou-se avaliar o potencial tóxico da redução do pH sobre o peixe *Poecilia reticulata*, através de ensaios de ecotoxicidade agudos, bem como avaliar como um aumento no pH da água da lagoa pode influenciar na sua toxicidade. Amostras de água da Lagoa de Dunas foram coletadas e testadas com os seguintes tratamentos: água *in natura* (pH \pm 3,0) e amostras com pH alterados para 3,5, 3,8, 4,0, 4,3, 4,6, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5. Foram usadas ainda amostras da água de cultivo dos peixes, cujos valores de pH foram reduzidos para o mesmo da Lagoa de Dunas. Os resultados médios e respectivos intervalos de confiança do 96 h-LT₅₀ da Lagoa de Dunas e da água de cultivo com pH reduzido foram 1,37 (1,18-1,56) h, e 1,04 (0,73-1,34) h, respectivamente, sem diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$). Para as amostras da Lagoa de Dunas com valores de pH elevados houve uma redução significativa da toxicidade, não sendo detectada toxicidade a partir do pH 6,0. Estes resultados demonstram que, nestas condições, o pH é o fator limitante para *P. reticulata*.

ABSTRACT

This work aimed to assess the toxic potential of the pH reduction to fish *Poecilia reticulata*, through acute toxicity bioassays, as well as to assess the influence of increased pH in the toxicity. Dunas Lake samples were collected and assessed with following treatment: water at local pH (\pm 3.0) and samples with pH changed to 3.5, 3.8, 4.0, 4.3, 4.6, 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5. Control water samples were used with reduced pH values to the same pH from Dunas Lake. Mean results and confidence intervals of 96 h-LT₅₀ from the Dunas Lake and control water with reduced pH were 1.37 (1.18-1.56) h, and 1.04 (0.73-1.34) h, respectively, with no significant statistical difference ($p \geq 0.05$). To the Dunas Lake samples with increased pH

there was a significant reduction of the toxicity, being detected any toxicity at pH 6,0. These results demonstrated that, in these conditions, pH is limiting factor to *P. reticulata*.

1.1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre a acidificação de ecossistemas remonta a meados do século XVIII (Gorham, 1998), porém, nos últimos 30 anos, os cientistas têm direcionado grandes esforços na busca ao entendimento das causas e resultados dos processos de acidificação, o que tem gerado amplo conhecimento de como a deposição ácida pode e tem alterado os ecossistemas (Driscoll *et al.*, 2003).

A acidificação é uma das principais causas de contaminação dos ecossistemas aquáticos de região temperada, não apenas pela sua toxicidade em si, mas em virtude dos seus efeitos na especiação, mobilidade e biodisponibilidade de outros tóxicos (Warwick *et al.*, 1998; Lopes *et al.*, 1999). Muitas regiões são severamente impactadas por influência de chuvas ácidas, drenagens ácidas de minas, atividades vulcânicas ou, ainda, por influência antrópica (Geller *et al.*, 1998; Ribeiro *et al.*, 2000), que, independente da causa, leva a uma intensa redução do valor de pH, acompanhada de uma concomitante biodisponibilidade de metais (Geller *et al.*, 1998). A questão da acidificação em ecossistemas tropicais é ainda bem menos discutida, não obstante, o impacto causado em termos de biodiversidade não seja muito diferente (Jesus, 1996). No entanto, deve-se ter especial atenção neste processo nos ecossistemas brasileiros que, em geral, apresentam baixa alcalinidade e tornam-se mais susceptíveis à acidificação (Esteves, 1998).

O pH, que por definição é o logaritmo negativo da concentração (atividade) de íons hidrogênio (H^+), é uma medida de acidez (Driscoll *et al.*, 2003) que pode influenciar a toxicidade de uma amostra, chegando, às vezes, a uma variação de uma ordem de magnitude em função da alteração de uma unidade de pH (Schubauer-Beringan & Dierkes, 1993).

É sabido que a toxicidade dos elementos traços, principalmente os metais, não depende apenas da sua concentração, mas também da sua biodisponibilidade, a qual se torna maior quando em condições de pH reduzido (Renoux *et al.*, 2001; Prokop *et al.*, 2003). O pH tem influência, também, na regulação iônica das espécies aquáticas, na taxa de decomposição de detritos orgânicos e na produção primária em virtude da diminuição na disponibilidade de nutrientes, e da susceptibilidade do fitoplâncton e das macrófitas ao pH ácido (Abel, 1996; Geller *et al.*, 1998). Adicionalmente, sob tais condições, o mecanismo de absorção ativa de íons da água é inibido, e a incapacidade de manter constantes as concentrações iônicas internas é uma das causas de morte dos organismos (Pough *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 2003).

Dentre os vertebrados, os peixes são os mais sensíveis à acidez (Fjellheim & Raddum (1990). Conforme Driscoll *et al.* (2003), poucas espécies de peixes são capazes de sobreviver a pH menor que 4,5, o que acarreta numa brusca mudança nas interações alimentares do ecossistema (Nixdorf *et al.*, 1998).

Com o aumento do pH, íons livres tendem a formar complexos com outros íons e com ácidos orgânicos (Lopes *et al.*, 1999). Assim, uma melhoria no estado químico dos ambientes acidificados, provavelmente, favorecerá ao restabelecimento das condições ecológicas, sendo necessário um acompanhamento químico e biológico desses ecossistemas (Tipping *et al.*, 2002).

O gênero *Poecilia* é um grupo com ampla distribuição geográfica, ocorrendo do sudeste dos Estados Unidos à Bolívia e até ao sul do Brasil, sendo encontrado em uma ampla faixa de habitats (Breden *et al.*, 1999). *Poecilia reticulata*, conhecido também como *guppy*, bobó e barrigudinho, é uma espécie tropical, sendo abundante ao longo de todo o ano em águas de canais, rios, lagos e reservatórios. Em termos ecotoxicológicos, diversos estudos a consideram uma espécie bastante sensível (Canton *et al.*, 1983; Vittozzi & De Angelis, 1991; Gallo *et al.*, 1995; Miliou *et al.*, 1998; Polat *et al.*, 2002; Yilmaz *et al.*, 2004), sendo adequada para programas de biomonitoramento (Widianarko *et al.*, 2000) e, portanto, recomendada para ensaios

ecotoxicológicos (OECD, 1992; ABNT, 2002). Entretanto, em outros estudos, esta espécie tem-se apresentado mais resistente (Rojíčková-Padrťová *et al.*, 1998; Baptista *et al.*, 2000). Uma vasta informação sobre a sensibilidade de *P. reticulata* em comparação com outras espécies de peixes, como *Brachydanio rerio*, *Cyprinus carpio*, *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas*, *Salmo gairdneri*, pode ser obtida em Vittozzi & De Angelis (1991).

Pelo baixo valor do pH da Lagoa de Dunas, presentemente em torno de 3,0, não foi investigado, ainda, se a toxicidade da água é provocada pelos efeitos diretos do pH ou pela maior biodisponibilidade de outros metais, que não Cd, Cu, Ni, Pb e Zn, uma vez que estes não estão presentes na água da Lagoa de Dunas (de Santana, 2004). Este trabalho teve como objetivos: i) discriminar, através de bioensaios com alteração no pH da Lagoa de Dunas, o potencial de toxicidade da redução do pH neste ecossistema para *P. reticulata*; ii) identificar possíveis reduções na toxicidade em função da elevação do pH da Lagoa de Dunas; iii) determinar a partir de qual valor de pH não se observará mortalidade em ensaios agudos com *P. reticulata*.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 Área de estudo e seu processo de contaminação

A Lagoa de Dunas está inserida nas coordenadas 12°48'09" a 12°48'12.3" S e 38°13'09" a 38°13'14" O, no município de Camaçari (Bahia, Brasil) (Fig. 01). Esta lagoa está dentro de uma depressão circundada por dunas, sendo uma lagoa de proporções pequena e rasa (da Silva *et al.*, 2000) (Fig. 02).

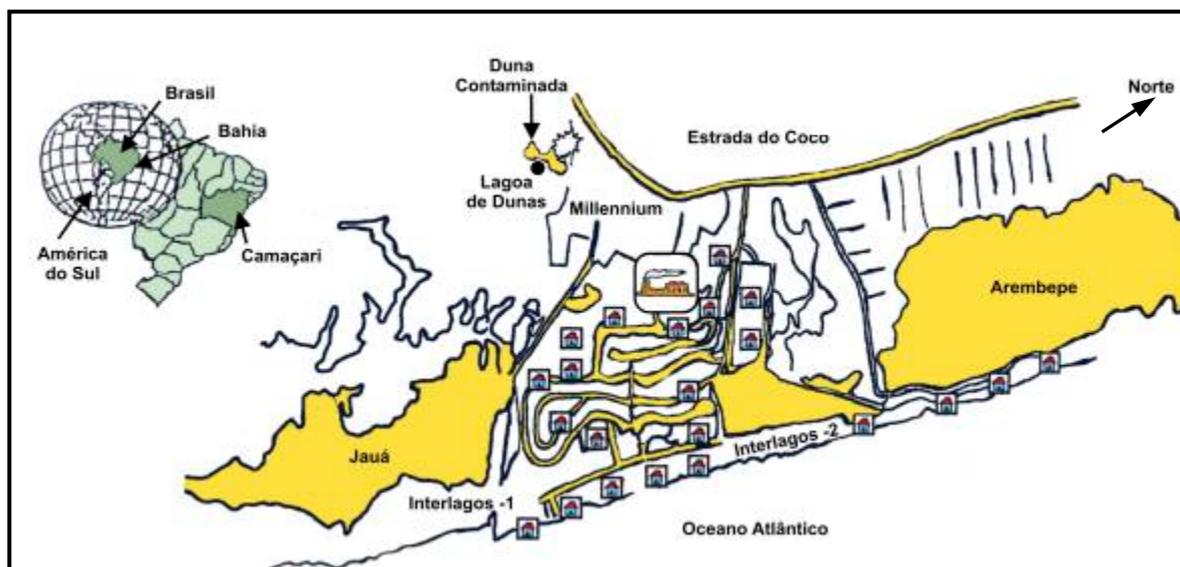


Figura 01. Figura esquemática da área de estudo. Escala 1:10.000.



Figura 02. Lagoa de Dunas.

Segundo da Silva *et al.* (2000), no fim da década de '80, grandes quantidades de rejeitos domésticos e industriais (± 34 t), à base de enxofre, ferro, titânio e resíduos de ilmenita, provenientes da produção de dióxido de titânio, sulfato ferroso e ácido sulfúrico, foram depositados nas dunas circundantes à Lagoa de Dunas (Gomes, 1994). Estes rejeitos, pela ação das chuvas, foram lixiviados e percolaram através das dunas, levando à contaminação do lençol freático e, posteriormente, dos corpos d'água da região. Houve formação de ácido sulfúrico, acarretando na diminuição do pH (1,8), não apenas das águas do lençol freático, mas também nas águas superficiais, conduzindo ao desaparecimento da comunidade biológica neste ecossistema (da Silva *et al.*, 1999a; da Silva *et al.*, 2000).

Um programa de reabilitação, de 1992 a 1993, foi iniciado para melhorar a qualidade das águas subterrâneas e superficiais, e reduzir a fonte de contaminação (Gomes, 1994). Inicialmente, a duna contaminada passou por um processo de encapsulamento hidráulico, sendo impermeabilizada com camadas de argila e solo de cabeceira (*topsoil*), removendo-se os resíduos e parte da duna. Adicionalmente, foi implementado um sistema de bombeamento das águas subterrâneas para remoção das plumas de contaminação, sendo esta água descartada pelo emissário submarino (Gomes, 1994; da Silva *et al.*, 1999a). Após esta fase, iniciou-se um plano de biomonitoramento para avaliar o processo de reabilitação da Lagoa de Dunas, incluindo ensaios com *P. reticulata* (da Silva *et al.*, 1999b).

Um aspecto inovador merece destaque neste plano de reabilitação, que é a não intervenção nas águas da Lagoa de Dunas, o que possibilita fazer um acompanhamento da sucessão biológica de modo natural. Embora seja um processo lento, os resultados da recolonização já são evidentes, tendo sido registrados diversas espécies, com destaque para os grupos Arachnida, Bacillariophyceae, Cyperaceae, Insecta, Rotifera entre outros (Reis, 2004).

1.2.2 Amostras

Mensalmente, durante o período de março de 2003 a novembro de 2004 (n=19), foram realizadas coletas de amostras de água superficial da Lagoa de Dunas. As amostras foram transportadas ao laboratório, no qual permaneceram em vasilhames plásticos até o dia posterior da coleta, a $4,0 \pm 1,0$ °C, para a realização dos ensaios. No dia do ensaio, as amostras foram colocadas em béqueres com capacidade de 5 L, e tiveram os valores de pH aumentados com NaOH 1M, constituindo os seguintes tratamentos: pH local (sem alteração, $\pm 3,0$), 3,5, 3,8, 4,0, 4,3, 4,6, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5. Visto que o pH é uma medida em escala logarítmica em base 10, a diferença em uma unidade de pH implica numa diferença na concentração de H⁺ de dez vezes, assim, buscou-se testar valores intermediários entre unidades de pH. Estes tratamentos objetivaram avaliar a redução da toxicidade com elevação do pH. Para avaliar o efeito do pH, submeteu-se a água de cultivo dos peixes (controle) – água da torneira declorada – a uma redução do pH para o mesmo valor do pH registrado para a Lagoa de Dunas, usando H₂SO₄ 1M, por ter sido o principal ácido formado no processo de acidificação (da Silva *et al.*, 1999a). Uma possível diferença entre estes dois tratamentos, Lagoa de Dunas *in natura* e controle com pH reduzido, deveria ser atribuída à presença de outros fatores que estariam interferindo na toxicidade.

1.2.3 Análises físico-químicas

De todas as amostras, em todos os experimentos, foram determinadas as concentrações de oxigênio dissolvido (OD), modificado pelo método da azida sódica, e dureza total (soma da concentração de cálcio e magnésio) ambos conforme APHA (1998), pH e condutividade. O valor médio do pH foi obtido através da concentração média de H⁺ e, então, calculou-se o valor do pH desta concentração. Os ensaios foram considerados válidos quando não houve variação acima de 10% nos valores de pH no fim dos ensaios em relação ao valor inicial, segundo recomendações de Ribeiro *et al.* (2000).

1.2.4 Organismo-teste e aclimação

Neonatos de *P. reticulata*, com *ca.* duas semanas de vida (comprimento médio de $1,1 \pm 0,2$ cm), foram obtidos de uma loja de piscicultura que vem sendo fornecedora desde os primeiros anos de monitoramento e cujo cultivo ocorre sob condições padronizadas (da Silva *et al.*, 1999b). Apesar da indicação do uso de organismos adultos de *P. reticulata* em ensaios agudos e estáticos (OECD, 1992), foram usados neonatos em estágio de vida inicial, pois os organismos tendem a ser mais sensíveis (Farag *et al.*, 1993; Petersen & Kristensen, 1998), especialmente em mudanças bruscas de pH (Esteves, 1998).

Os animais foram transportados para o laboratório, onde permaneceram em aquários de vidro com capacidade para 20 L por, pelo menos, 24 h para aclimação antes do início dos ensaios, na própria água de cultivo. Durante a aclimação, os organismos não foram alimentados, o mesmo ocorrendo ao longo dos ensaios. A aclimação e os ensaios foram realizados em temperatura constante a $26,0 \pm 1,0$ °C, com fotoperíodo de 12:12 h (claro e escuro). Os ensaios caracterizaram-se por serem agudos e estáticos, sendo seguidas as normas OECD (1992) e ABNT (2002).

1.2.5 Ensaios

Os frascos-teste consistiram de pequenos aquários de vidro com capacidade de 1,2 L, sendo preenchidos com 900 a 1.000 mL da amostra sem diluição. Não houve aeração das amostras durante os experimentos. Todas as amostras foram testadas usando-se cinco réplicas contendo oito a dez indivíduos, os quais foram aleatoriamente selecionados e colocados nos frascos-teste, totalizando 40 a 50 indivíduos por amostra (Fig. 03). Todos os frascos foram distribuídos aleatoriamente para evitar efeitos de pseudo-replicação das amostras. A duração dos ensaios foi de 96 h. A mortalidade foi avaliada em intervalos de tempo reduzidos, *ca.* de 10 min nas horas iniciais dos ensaios, e em intervalos mais espaçados nas horas subseqüentes até o final. O tempo foi a variável independente,

uma vez que não houve diluição das amostras. Após a constatação da morte, estes organismos foram imediatamente retirados, para evitar algum efeito adverso em função da decomposição destes. Foram registradas, também, as alterações de comportamento. Os organismos somente foram considerados mortos quando, após um leve toque na cauda, não apresentaram reação e quando não houve movimentação das guelras. Ao final dos ensaios foi calculado o LT_{50} (tempo mediano letal no qual 50% dos organismos-teste foram afetados).



Figura 03. Distribuição das amostras nos frascos-teste.

1.2.6 Análise dos dados

Os valores do LT_{50} foram determinados por *Probit Analysis* através do programa *EPA PROBIT Analysis* versão 1.5. Para comparação dos valores médios dos LT_{50} foi usada análise de variância (one-way ANOVA) e havendo diferença significativa foi aplicado um teste de comparação múltipla de médias, sendo usado o teste de Tukey. As diferenças consideradas significativas ao nível de $p < 0,05$ (Zar, 1996). Todos os valores são expressos como médias, juntamente com seus intervalos de confiança (95%).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios somente foram aceitos quando os organismos do controle não apresentaram mortalidade acima de 10% e, tampouco, comportamento anormal (OECD, 1992; ABNT, 2002). As concentrações de oxigênio dissolvido foram sempre maiores que $6,5 \text{ mg L}^{-1}$ nas amostras da Lagoa de Dunas e maiores que $8,0 \text{ mg L}^{-1}$ no controle. As boas condições de oxigenação da lagoa de Dunas já foram comprovadas anteriormente, sendo de grande valia para os processos de oxidação da matéria orgânica (de Santana, 2004).

A água da Lagoa de Dunas apresentou-se bastante acidificada. O valor médio do pH das amostras da Lagoa de Dunas foi 3,08 (3,03-3,13) e 7,30 (7,11-7,50) para o controle.

Os valores de condutividade e dureza total estão expressos na Tab. 01.

Tabela 01. Valores médios (n=19), seguidos dos intervalos de confiança (95%), de condutividade e dureza total das amostras-controle e da Lagoa de Dunas.

Amostras	Parâmetros	
	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Dureza Total ($\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$)
Controle	418,55 (351,23-485,87) A	126,25 (105,76-146,75) A
Controle (pH reduzido)	548,86 (482,72-615,01) B	129,56 (106,61-152,52) A
L. Dunas (<i>in natura</i>)	343,80 (331,66-355,96) AC	79,00 (74,93-83,07) B
L. Dunas (pH 3,5)	276,80 (235,52-318,08) C	76,87 (67,40-86,34) B
L. Dunas (pH 3,8)	265,20 (240,91-289,49) C	76,88 (64,68-89,06) B
L. Dunas (pH 4,0)	289,09 (265,14-313,04) C	77,05 (70,88-83,22) B
L. Dunas (pH 4,3)	263,57 (246,65-280,49) C	79,38 (73,05-85,72) B
L. Dunas (pH 4,6)	249,00 (224,47-273,53) C	79,30 (68,84-89,75) B
L. Dunas (pH 5,0)	251,00 (221,61-280,39) C	75,30 (68,12-82,40) B
L. Dunas (pH 5,5)	246,50 (203,33-289,67) C	81,77 (64,08-99,47) B
L. Dunas (pH 6,0)	258,00 (249,48-266,52) C	75,10 (67,72-82,47) B
L. Dunas (pH 6,5)	251,50 (236,27-266,73) C	79,90 (72,26-87,53) B

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa nos valores de condutividade nas amostras da Lagoa de Dunas com pH aumentado. Pôde-se observar que, para as amostras da Lagoa de Dunas, o maior valor médio de condutividade foi na água com pH não alterado, $343,80 \mu\text{S cm}^{-1}$, e o menor foi $246,50 \mu\text{S cm}^{-1}$ nas amostras

com pH 5,5 (Tab. 01). Em baixos valores de pH, o íon H^+ passa a ser o principal fator responsável pela condutividade (Esteves, 1998), por isso, com o acréscimo de hidróxido de sódio, o pH foi aumentado, reduzindo a concentração (atividade) dos íons H^+ , e, por conseqüência, reduzindo a condutividade. No controle, sem alteração do pH, a condutividade média foi de $418,55 \mu S cm^{-1}$.

A influência da dureza sob a biodisponibilidade de alguns compostos químicos e, conseqüentemente, sob a toxicidade, é inegável (Akkanen & Kokkonen, 2001). Atenção especial lhe deve ser dada pela capacidade de modular o efeito do pH (Ribeiro *et al.*, 2000). O valor médio de dureza da água nas amostras do controle foi $126,25 mg CaCO_3 L^{-1}$, enquanto que, para a Lagoa de Dunas, foi $79,00 mg CaCO_3 L^{-1}$ (Tab. 01). A dureza da água pode também influenciar na toxicidade dos íons metálicos (Wren & Stephenson, 1991; Abel, 1996), diminuindo sua disponibilidade quando aumentada (Penttinen *et al.*, 1995), além de afetar a biodisponibilidade de compostos orgânicos (Akkanen & Kukkonen, 2001) devido às interações competitivas com cátions, em especial o cálcio, que podem diminuir a toxicidade (Persoone *et al.*, 1989).

Os valores de dureza da água da Lagoa de Dunas, mesmo com a alteração do pH, não foram alterados. Como a dureza é refletida pelos teores de cálcio e magnésio (Esteves, 1998), a alteração do pH das amostras da Lagoa de Dunas, com NaOH, não influenciou este parâmetro, mesmo com o aumento do pH.

O 96 h-LT₅₀ médio das amostras da Lagoa de Dunas, sem alteração do pH, foi de 1,37 h (Tab. 02). Em relação às outras amostras da Lagoa de Dunas, houve diferença estatística significativa, exceto para as amostras com pH 3,5. Com o aumento gradual do pH houve uma redução da toxicidade, o que resultou num maior tempo de sobrevivência dos organismos. O maior valor médio do LT₅₀ foi para as amostras com pH 5,5, com 74,30 h. Para amostras com pH 6,0 e 6,5 não houve mortalidade acima de 50% até o período de 96 h, desse modo, os resultados foram expressos como > 96 h. A mortalidade máxima nas amostras com pH 6,0 e 6,5 foram 12 e 5%, respectivamente. Embora um aumento gradual do pH possa

resultar em um aumento na toxicidade, pois alguns compostos são mais tóxicos em valores de pH mais elevados (Wren & Stepheson, 1991; Schubauer-Berigan & Dierkes, 1993), tal comportamento não foi observado neste estudo.

Pelo valor médio da água de cultivo (controle) ter sido um pouco acima de 7,0, seria razoável testar amostras da Lagoa de Dunas até este valor de pH, porém, os corpos d'água da região, onde está inserida a Lagoa de Dunas, apresentam pH médio em torno de 6,0 (Araújo *et al.*, 2003; Cohin-de-Pinho *et al.*, 2004; de Santana, 2004), não sendo necessário testar valores de pH tão elevados, uma vez que, provavelmente, isto não ocorrerá em condições naturais. Esta pequena acidificação, destes ecossistemas locais, ocorre em virtude da formação de compostos húmicos nos corpos d'água (Esteves, 1998). Ademais, por não haver ocorrido toxicidade aguda até o período de 96 h para as amostras com pH 6,0 e 6,5, acredita-se que para valores maiores de pH, dentro da faixa aceitável para *P. reticulata*, deve ocorrer o mesmo.

No trabalho de da Silva *et al.* (1999b), com *P. reticulata*, foram registrados valores de 96 h-LT₅₀, para a Lagoa de Dunas, < 1 h, com pH em torno de 3,0, estando a maioria dos valores abaixo de 30 min. Os resultados do presente trabalho demonstram uma melhoria nas condições toxicológicas da lagoa, em virtude do aumento do pH, porém em termos ecológicos não se pode falar de melhorias, uma vez que os peixes continuam a morrer, sem possibilidade de reprodução.

As amostras da Lagoa de Dunas *in natura* foram comparadas às amostras da água de cultivo com pH reduzido, com a finalidade de avaliar se o efeito detectado pela ação do pH na água-controle seria semelhante ao da Lagoa de Dunas. A redução no tempo de sobrevivência entre estas duas amostras indicaria uma toxicidade adicional da Lagoa de Dunas, o que nos permitiria discriminar a toxicidade devida ao pH e a toxicidade provocada por eventuais outros contaminantes (Lopes *et al.*, 1999). Porém, não houve diferença estatística significativa entre os valores médios do LT₅₀ destas duas amostras. A Lagoa de

Dunas apresentou um LT₅₀ médio de 1,37 h e na água-controle, com pH reduzido, foi 1,04 (Tab. 02). De acordo com os resultados aqui obtidos pode-se assegurar que o pH é principal fator responsável pela toxicidade da Lagoa de Dunas.

Tabela 02. Valores médios (n=19) do 96 h-LT₅₀ para *P. reticulata*, seguidos dos respectivos intervalos de confiança (IC) (95%) e dos coeficientes de variação (CV)

Amostras	96 h-LT ₅₀ (h)	IC	CV (%)
L. Dunas (<i>in natura</i>)	1,37 A	1,18-1,56	27,00
Controle (pH reduzido)	1,04 A	0,73-1,34	51,92
L. Dunas (pH 3,5)	10,66 AB	0,40-20,93	60,50
L. Dunas (pH 3,8)	38,55 BC	16,65-60,44	35,69
L. Dunas (pH 4,0)	51,88 CD	36,77-66,99	43,35
L. Dunas (pH 4,3)	61,07 CD	41,71-80,42	34,27
L. Dunas (pH 4,6)	71,62 D	54,08-89,15	19,71
L. Dunas (pH 5,0)	73,03 D	52,12-93,94	11,51
L. Dunas (pH 5,5)	74,30 D	59,72-88,87	7,88
L. Dunas (pH 6,0)	> 96,00	_____	_____
L. Dunas (pH 6,5)	> 96,00	_____	_____

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De modo geral, dentre os efeitos da acidificação nos peixes, que mais se destacam, estão a redução na taxa de crescimento, dificuldade nas trocas gasosas, menor absorção de oxigênio nas brânquias, perdas de íons sódio e cloreto e acidose do sangue (Haines, 1981; Esteves, 1998; Wood *et al.*, 2003). Contudo, algumas mudanças comportamentais foram observadas antes da mortalidade. Os peixes, em geral, apresentaram uma tendência em se manter na superfície da água, sem movimentação, exceto das guelras, apresentado dificuldade na respiração. Houve

mudança na coloração da região abdominal, tornando-a mais esbranquiçada. Em seguida, os organismos apresentaram falta de equilíbrio para nadar, fazendo-o verticalmente e de cabeça para baixo.

Diversas propostas de remediações para lagos acidificados estão à disposição na literatura (Fredmann, 1989; Fischer *et al.*, 1998; George & Davison, 1998; Wendt-Potthoff & Neu, 1998), porém, neste trabalho, não se propõe nenhuma intervenção, pois só assim será possível avaliar e monitorar a capacidade de reabilitação do ecossistema e o tempo natural necessário para isso.

1.4 CONCLUSÕES

O pH da Lagoa de Dunas apresenta elevado potencial de toxicidade para alevinos de *P. reticulata*. Os ensaios aqui aplicados com este organismo foram capazes de detectar a mudança na qualidade da água da Lagoa de Dunas, bem como discriminar a ação tóxica do pH, sendo uma excelente ferramenta no biomonitoramento deste ecossistema.

Apesar dos efeitos já conhecidos da dureza total e da condutividade na toxicidade, especialmente em ambientes aquáticos acidificados, estes parâmetros, aparentemente, não devem ter influenciado na toxicidade do ecossistema em estudo, ou se o fez, foi em menores proporções que o efeito do pH.

De acordo com os dados históricos de toxicidade da Lagoa de Dunas, foi detectado um aumento no tempo de sobrevivência dos organismos-teste, que implica numa redução da toxicidade deste ecossistema, diretamente relacionada com os valores de pH, porém ecologicamente não se pode falar em melhorias deste ecossistema, pois os efeitos agudos, no caso mortalidade, ainda foram detectados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abel, P.D. 1996. Water Pollution Biology. 02 Ed. Taylor & Francis Ltd, London. 286p.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2002. Água – Ensaio de toxicidade aguda com peixes – Parte I – Sistema estático. ABNT, Rio de Janeiro.

Akkanen, J. & Kukkonen, V.K. 2001. Effects of water hardness and dissolved organic material on bioavailability of selected organics chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 20(10): 2303-2308.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 Ed. American Public Health Association, Port City Press, Baltimore, Maryland.

Araújo, C.V.M.; Santos, J.S.; Reis, I.S.; Santos, V.C.; Cohin-de-Pinho, S.J.; Chastinet, C.B.A. & da Silva, E.M. 2003. Bioensaios com *Poecilia reticulata* Peters no biomonitoramento de um ecossistema aquático acidificado. In: Anais do VI Congresso Brasileiro de Ecologia. Fortaleza. 239-240.

Baptista, I.E.; Soares, C.H.L.; Matias, W.G. & Lopes, E.B. 2000. Avaliação da toxicidade aguda de efluentes de uma indústria têxtil utilizando *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Vibrio fischeri*. In: Espíndola, E.L.G.; Botta-Paschoal, C.M.R.; Rocha, O.; Bohrer, M.B.C. & Oliveira-Neto, A.L. (Eds.). Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI. RiMa, São Carlos. pp. 365-377.

Breden, F.; Ptacek, M.B.; Rashed, M.; Taphorn, D. & Figueiredo, C.A. 1999. Molecular phylogeny of the live-bearing fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 12: 95-114.

Canton, J.H.; Wester, P.W. & Mathijssen-Spiekman, E.A.M. 1983. Study on the toxicity of sodium bromide to different freshwater organisms. *Fd Chem. Toxic.* 21(4): 369-378.

Cohin-de-Pinho, S.J.; Araújo, C.V.M.; Delgado, F.; Chastinet, C.B.A. & da Silva, E.M. 2004. Avaliação comparativa do LT₅₀ da Lagoa de Dunas (Camaçari, Ba) para *Latonopsis australis*, *Macrothrix elegans* e *Poecilia reticulata*. In: Resumos do VIII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. Sociedade Brasileiro de Ecotoxicologia, Florianópolis. pp. 101-102.

da Silva, E.M.; Barros, A.F.; Navarro, M.F.T.; Mota, M.F.V.; Cotsifis, P. & Chastinet, C.B.A. 1999a. Rehabilitation following industrial contamination: Jauá Lake, a coastal wetland in Camaçari, Bahia, Brazil. In: Streever, W. An international perspective on wetland rehabilitation. Kluwer Academic Press, Netherlands. pp. 197-203.

da Silva, E.M.; Navarro, M.F.T.; Barros, A.F.; Mota, M.F.V. & Chastinet, C.B.A. 1999b. The utilisation of *Poecilia reticulata* as a biomonitor in the environmental recovery of an aquatic ecosystem. *Ecotoxicol. Environ. Restor.* 2: 51-55.

da Silva, E.M.; Navarro, M.F.T.; Barros, A.F.; Mota, M.F.V. & Chastinet, C.B.A. 2000. Metals in the sediments of Jauá Lake (Camaçari, Bahia, Brazil) following an episode of industrial contamination. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 3: 509-514.

De Santana, L.C.S. 2004. Avaliação da reabilitação e da ecotoxicidade atual da Lagoa das Dunas, Camaçari-Bahia, Brasil. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento. Universidade Federal da Bahia. 104p.

Driscoll, C.T.; Driscoll, K.M.; Mitchell, M.J. & Raynal, D.J. 2003. Effects of acidic deposition on forest and aquatic ecosystems in New York State. *Environ. Pollut.* 123: 327-336.

Esteves, F.A. 1998. Fundamentos da Limnologia. 02 Ed. Interciência, Rio de Janeiro. 602p.

Farag, A.M.; Woodward, D.F. & Little, E.E. 1993. The effects of low pH and elevated aluminum on yellowstone cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki bouvieri*). *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 719-731.

Fischer, R.; Guderitz, T. & Reißig, H. 1998. Model calculations for active treatment of acidic, iron-containing lake water assuming mining lakes as chemical reactors. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 385-400.

Fjellheim, A. & Raddum, G.G. 1990. Acid precipitation: biological monitoring of streams and lakes. *Sci. Tot. Environ.* 96: 57-66.

Fredmann, B. 1989. Environmental ecology: the impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. Academic Press, San Diego. 424p.

Gallo, D.; Merendino, A.; Keizer, J. & Vittozzi, L. 1995. Acute toxicity of two carbamates to the guppy (*Poecilia reticulata*) and zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Sci. Tot. Environ.* 171: 131-136.

Geller, W.; Klapper, H. & Schultze, M. 1998. Natural and anthropogenic sulfuric acidification of lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 3-14.

George, D.G. & Davison, W. 1998. Managing the pH of an acid lake by adding phosphate fertilizer. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). *Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation*. Springer, Berlin. pp. 366-384.

Gomes, D.C. 1994. Poluição de aquífero costeiro de Arembepe-BA por ácido sulfúrico e compostos inorgânicos oriundos da produção de dióxido de titânio. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

Gorham, E. 1998. Acid deposition and its ecological effects: a brief history of research. *Environmental Science & Policy* 1: 153-166.

Haines, T.A. 1981. Acidic precipitation and its consequence for aquatic ecosystems: a review. *Trans. Amer. Fish Soc.* 110: 669-707.

Jesus, E.F.R. 1996. A importâncias do estudo das chuvas ácidas no contexto da abordagem climatológica. *Sitientibus* 14: 143-153.

Lopes, I.; Gonçalves, F.; Soares, A.M.V.M. & Ribeiro, R. 1999. Discriminating the ecotoxicity due to metals and to low pH in acid mine drainage. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 44: 207-214.

Miliou, H.; Zaboukas, N. & Moraitou-Apostopoulou, M. 1998. Biochemical composition, growth, and survival of the guppy, *Poecilia reticulata*, during chronic sublethal exposure to cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35: 58-63.

Nixdorf, B.; Wollmann, K. & Deneke, R. 1998. Ecological potentials for planktonic development and food webinteractions in extremely acidic mining lakes in Lusatia. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). *Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation*. Springer, Berlin. pp. 147-167.

OECD - Organisation Economic Co-operation and Development. 1992. Guideline for testing of chemicals. Fish Acute Toxicity Test. OECD Guideline for Testing of Chemicals, Paris.

Penttinen, S.; Kukkonen, J. & Oikari, A. 1995. The kinetics of cadmium in *Daphnia magna* as affected by humic substances and water hardness. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 30: 72-76.

Persoone, G.; Van de Vel, A.; Van Steertegem, M. & De Nayer, B. 1989. Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates: influence of experimental conditions. *Aquat. Toxicol.* 14: 149-166.

Petersen, G. & Kristensen, P. 1998. Bioaccumulation of lipophilic substances in fish early life stage. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 1385-1395.

Polat, H.; Erkoç, F.Ü.; Viran. R. & Koçak, O. 2002. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. *Chemosphere* 49: 39-44.

Pough, F.H.; Heiser, J.B. & McFarland, W.N. 1999. A vida dos vertebrados. 02 Ed. Atheneu Editora, São Paulo. pp. 123-159.

Prokop, Z.; Vangheluwe, M.L.; Van Sprang, P.A.; Janssen. C.R. & Holoubeck, I. 2003. Mobility and toxicity of metals in sandy sediments deposited on land. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 54: 65-73.

Reis, I.S. 2004. Monitoramento da evolução das comunidades biológicas da Lagoa das Dunas após episódios de contaminação ácida, Camaçari - Bahia - Brasil. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento. Universidade Federal da Bahia. 73p.

Renoux, A.Y.; Tyagi, R.D. & Samson, R. 2001. Assessment of toxicity reduction after metal removal in bioleached sewage sludge. *Wat. Res.* 35: 1415-1424.

Ribeiro, R.; Lopes, I.; Pereira, A.M.M.; Gonçalves, F. & Soares, A.M.V.M. 2000. Survival time of *Ceriodaphnia dubia* in acid waters with metal contamination. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64: 130-136.

Rojíčková-Padrťová, R.; Maršálek, B. & Holoubek, I. 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: selection of an optimal test battery. *Chemosphere* 37: 495-507.

Schubauer-Berigan, M.K. & Dierkes, J.R. 1993. pH-dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegates*. *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 1261-1266.

Tipping, E.; Bass, J.A.B.; Hardie, D.; Haworth, E.Y.; Hurley, M.A. & Wills, G. 2002. Biological responses to the reversal of acidification in surface waters of the English Lake District. *Environ. Pollut.* 116: 137-146.

Vittozzi, L. & De Angelis, G. 1991. A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. *Aquat. Toxicol.* 19: 167-204.

Warwick, P.; Hall, A.; Van der Lee, J. & Maes, A. 1998. Zinc and cadmium mobility in sand: effects of pH, speciation, cation exchange capacity (CEC), humic acid and metals ions. *Chemosphere* 36(10): 2283-2290.

Wendt-Potthoff, K. & Neu, T.R. 1998. Microbial processes for potential in situ remediation of acidic lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). *Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation*. Springer, Berlin. pp. 269-284.

Widianarko, B.; Van Gestel, C.A.M.; Verwij, R.A. & Van Straalen, N.M. 2000. Associations between trace metals in sediment, water, and guppy, *Poecilia reticulata* (Peters), from urban streams of Semarang, Indonesia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46: 101-107.

Wood, C.M.; Matsuo, A.Y.O.; Wilson, R.W.; Gonzalez, R.J.; Patrick, M.L.; Playle, R.C. & Val, A.L. 2003. Protection by natural blackwater against disturbance in ion fluxes caused by low pH exposure in freshwater stingrays endemic to the Rio Negro. *Physiol. Biochem. Zool.* 76: 12-27.

Wren, C.D. & Stephenson, G.L. 1991. The effect of acidification on the accumulation and toxicity of metals to freshwater invertebrates. *Environ. Pollut.* 71: 205-241.

Yilmaz, M.; Gül, A. & Karaköse, E. 2004. Investigation of acute toxicity and effect of cadmium chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) metal salt on behavior of the guppy (*Poecilia reticulata*). *Chemosphere* 56: 375-380.

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. 03 Ed., Prentice-Hall Int, Upper Saddle River, N.J., USA.

CAPÍTULO 2

BIOENSAIOS *IN SITU* E LABORATORIAIS COM *Poecilia reticulata* PETERS, 1859 NO BIOMONITORAMENTO DE UM ECOSSISTEMA TROPICAL ACIDIFICADO (LAGOA DE DUNAS: CAMAÇARI, BAHIA, BRASIL)

RESUMO

Este trabalho investigou a adequabilidade dos bioensaios agudos *in situ* e sua viabilidade no biomonitoramento da Lagoa de Dunas. Buscou-se também avaliar se as respostas obtidas em campo eram semelhantes às dos ensaios laboratoriais e comparar a exatidão e precisão encontrada em cada bioensaio. Foram realizados ensaios laboratoriais e *in situ* com alevinos de *Poecilia reticulata*. Durante a exposição, a diferentes intervalos de tempo, os organismos foram contados, sendo a mortalidade/imobilidade o alvo fisiológico testado, para posterior cálculo do LT₅₀. Os valores médios e os respectivos intervalos de confiança do 96 h-LT₅₀ foram 1,61 (1,56-1,87) h para os ensaios em laboratórios e 0,72 (0,55-0,89) h para os ensaios *in situ*, havendo diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Os ensaios *in situ* na Lagoa de Dunas com *P. reticulata* foram mais exatos que os laboratoriais, demonstrando maior sensibilidade, enquanto os laboratoriais foram mais precisos.

ABSTRACT

This work aimed to investigate the suitability and viability of the *in situ* acute bioassays in the biomonitoring program from Dunas Lake. Also, aimed to assess if the responses in these tests were similar, and to compare the accuracy and precision in both bioassays. Test organism used was *Poecilia reticulata* alevinos, which were exposed to Dunas Lake samples *in situ* and in the laboratory. During the exposure, to time intervals different, the organisms were counted, being the mortality/immobility the endpoint assessed, to calculate of the LT₅₀. The mean 96 h-LT₅₀ values and confidence intervals were 1.61 (1.56-

1.87) h to the laboratory bioassays and 0.72 (0.55-0.89) h to the *in situ* bioassays, having a significant statistic difference ($p < 0,05$). The *in situ* bioassays with *P. reticulata* were more accurate than the laboratories, demonstrating higher sensibility, however laboratory bioassays were more precise.

2.1 INTRODUÇÃO

Os ensaios ecotoxicológicos laboratoriais, empregados para detectar os efeitos agudos e/ou crônicos das mais variadas substâncias sobre os organismos (Boluda *et al.*, 2002), vêm apresentando crescente importância em estudos de avaliação de riscos ambientais em ecossistemas terrestres e aquáticos (Kapanen & Itävaara, 2001). O mais importante não é se um determinado composto químico está presente no ambiente, mas sim qual o impacto que este está exercendo sobre o ambiente (Wiersma *et al.*, 1990).

Apesar de os ensaios serem extremamente importantes, às vezes, carecem de relevância ecológica, porque são, geralmente, realizados sob condições controladas, as quais são mais próximas do ótimo e não simulam as situações de campo (Castro *et al.*, 2003; Moreira-Santos *et al.*, 2004), reduzindo, assim, seu valor de predição e a possibilidade de extrapolação para os ecossistemas naturais (Persoone *et al.*, 1989).

Existem muitas incertezas na extrapolação dos dados laboratoriais para ecossistemas naturais, pois os processos físicos, químicos e biológicos estão integrados no ambiente aquático (*e.g.* intensidade e distribuição da luminosidade, temperatura e as variações associadas, concentração de oxigênio entre outras), sendo extremamente difícil replicar tais processos (Chappie & Burton Jr., 1997; Pereira *et al.*, 2000). Conforme Persoone *et al.* (1989) e Lewis *et al.* (1993), os dados laboratoriais podem sub ou superestimar uma avaliação em virtude destas condições não serem muito semelhantes às naturais. Alguns fatores como coleta, armazenamento e manipulação das amostras podem alterar suas características e, por conseguinte, sua toxicidade (Castro *et al.*, 2003). Vale salientar ainda que outros

fatores como transporte e armazenamento dos organismos, e as condições ambientais, podem dificultar o estabelecimento de uma relação exclusiva de causa para a toxicidade encontrada. Desse modo, o maior desafio dos ensaios laboratoriais é a reprodução das condições naturais de campo (da Silva *et al.*, 1998).

Então, os ensaios *in situ* são uma maneira de investigar o problema da relevância ecológica (Moreira-Santos *et al.*, 2004), reduzindo as incertezas dos ensaios em laboratório (Chappie & Burton Jr., 1997), sendo uma ligação entre os ensaios laboratoriais e os estudos em campo (Schulz & Liess, 1999). Esta combinação pode ser uma valiosa ferramenta no entendimento e previsão dos efeitos dos impactos ambientais sobre as comunidades naturais (Smolders *et al.*, 2004), especialmente se informações ecotoxicológicas específicas para uma área são requeridas (Castro *et al.*, 2003).

O presente estudo objetivou investigar a adequabilidade dos ensaios agudos *in situ* com *P. reticulata* e sua viabilidade no biomonitoramento da Lagoa de Dunas; avaliar se as respostas obtidas em campo eram semelhantes às laboratoriais e comparar a exatidão e precisão encontrada em cada ensaio.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Área de estudo

Uma das áreas de estudo para o presente trabalho foi a mesma descrita no capítulo anterior, a Lagoa de Dunas, porém, adicionalmente, coletou-se também, amostras da Lagoa de Jauá (Fig. 01), usada como sítio de referência, uma vez que comprovadamente não sofreu com o episódio de contaminação, devido à direção das águas do lençol freático. A escolha da Lagoa de Jauá como referência se deu em virtude desta estar inserida no mesmo complexo de lagoas no qual encontra-se a Lagoa de Dunas, apresentar características semelhantes às das lagoas da região e, possivelmente, às que a Lagoa de Dunas apresentava antes da contaminação, além ser um ecossistema no qual a espécie *P. reticulata* ocorre.

2.2.2 Amostras

Mensalmente, durante o período de julho de 2003 a setembro de 2004 (n=14), foram realizadas coletas de amostras de água da Lagoa de Dunas e da Lagoa de Jauá. As amostras foram transportadas ao laboratório e mantidas a $4,0 \pm 1,0$ °C até o dia posterior para a realização dos ensaios. Para o controle foi usada água da torneira decolorada, na qual os organismos são cultivados (água descansada por ± 24 h).

2.2.3 Análises físico-químicas

De todas as amostras, em todos os experimentos, foram determinadas as concentrações de oxigênio dissolvido (OD), modificado pelo método da azida sódica, e dureza total (soma da concentração de cálcio e magnésio) ambos conforme APHA (1998), pH e condutividade. O valor médio do pH foi obtido através da concentração média de H^+ e, então, calculou-se o valor do pH desta concentração. Os ensaios foram considerados válidos quando não houve variação acima de 10% nos valores de pH no fim dos ensaios em relação ao valor inicial, segundo recomendações de Ribeiro *et al.* (2000).

2.2.4 Organismo-teste e aclimatação

Neonatos de *P. reticulata*, com *ca.* 2 semanas de vida, foram obtidos de uma loja de piscicultura que vem sendo fornecedora desde os primeiros anos de monitoramento, cujo cultivo ocorre sob condições padronizadas (da Silva *et al.*, 1999). O mesmo grupo de organismos usado para os ensaios laboratoriais foi usado em campo, sendo os organismos separados aleatoriamente para cada ensaio.

Os animais para os ensaios laboratoriais foram transportados para o laboratório e aclimatados conforme já mencionado no capítulo anterior.

Para os ensaios *in situ*, os organismos foram transportados em frascos de vidro contendo água de cultivo, mantidos em caixas isotérmicas.

2.2.5 Ensaios laboratoriais

Os ensaios foram baseados nas normas OECD (1992) e ABNT (2002). Os frascos-teste usados foram os mesmos descritos no capítulo 01. Não houve aeração das amostras durante os experimentos. Todas as amostras foram testadas usando-se cinco réplicas com oito a dez indivíduos por réplica, os quais foram aleatoriamente selecionados e colocados nos frascos-teste, totalizando 40 a 50 indivíduos por amostra. Todos os frascos foram distribuídos aleatoriamente para evitar efeitos de pseudo-replicação das amostras (Fig. 03).

Os ensaios foram realizados por um período de 96 h. A mortalidade foi avaliada em intervalos de tempo reduzidos, *ca.* de 10 min nas horas iniciais do ensaio, e em intervalos mais espaçados nas horas subseqüentes até o fim do ensaio (96 h). O tempo foi a variável independente, não havendo diluição das amostras. Apenas quando não havia reação do peixe após um leve toque em sua cauda e quando não havia movimento das guelras, os peixes eram considerados mortos. Os organismos considerados mortos foram imediatamente retirados, para evitar algum efeito adverso pela decomposição destes, e as alterações de comportamento foram registradas. Ao final dos ensaios foi calculado o tempo mediano letal (LT₅₀: tempo médio no qual 50% dos organismos-teste foram afetados).

2.2.6 Ensaios *in situ*

Para estes ensaios foram confeccionadas câmaras-teste (Fig. 04), tendo como matéria-prima garrafas plásticas do tipo PET, com capacidade para 500 mL, das quais as laterais e o fundo foram cortados e inserida uma malha de 1mm, com cola quente atóxica, através da qual possibilitava o fluxo contínuo de água. Cinco câmaras-teste foram fixadas em suportes presos ao sedimento da lagoa, distando *ca.* 2 m da margem, a uma profundidade de, aproximadamente, 0,5 m (Fig. 05).

Em cada câmara-teste foram colocados de cinco a sete peixes, totalizando 25 a 35 peixes em cada ensaio. Como a variável independente neste estudo foi o tempo, os peixes de uma mesma câmara-teste eram todos colocados ao mesmo

tempo, esperava-se 1 min e colocavam-se os peixes na outra câmara e, assim, subseqüentemente. Para a leitura dos ensaios, o procedimento foi semelhante aos dos testes laboratoriais, obedecendo-se à diferença de 1 min entre cada câmara-teste.

Para as amostras do controle e da referência, os organismos foram colocados em frascos de vidro fechados preenchidos com 500 mL da amostra, sem contato com a água da Lagoa de Dunas, os quais foram mantidos, durante todo o ensaio, imersos na água da lagoa.

Após a morte do último organismo na Lagoa de Dunas, os ensaios foram dados como finalizados.



Figura 04. Câmara-teste para ensaio *in situ*.



Figura 05. Ensaio *in situ*.

2.2.7 Análise dos dados

Os valores do LT_{50} foram determinados por *Probit Analysis* através do programa *EPA PROBIT Analysis* versão 1.5. Foram calculados os 48 e 96 h- LT_{50} .

Para comparação dos valores médios dos LT_{50} foi usado o teste t com probabilidade ao nível de 0,05 (Zar, 1996). Todos os valores são expressos como médias, juntamente com seus intervalos de confiança (95%).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os 14 ensaios realizados foram aceitos, uma vez que a mortalidade no controle dos ensaios *in situ* e laboratoriais nunca excedeu 10%.

As concentrações de OD estiveram sempre superiores a 8,5 mg L⁻¹ no controle, maiores que 3,5 mg L⁻¹ na Lagoa de Jauá e acima de 7,0 mg L⁻¹ na Lagoa de Dunas.

Os valores médios de pH, condutividade e dureza total, e seus respectivos intervalos de confiança, das amostras da água de cultivo, da Lagoa de Jauá e da Lagoa de Dunas para os ensaios estão descritos na tabela 03. Não houve diferença estatística significativa dos valores de pH, condutividade e dureza total da Lagoa de Dunas entre os ensaios laboratoriais e *in situ*, porém isto não é suficiente para assegurar que as condições de exposição tenham sido as mesmas, de modo que as flutuações naturais das inúmeras variáveis ambientais são difíceis de serem simuladas em laboratório (Pereira *et al.*, 2000).

Tabela 03. Valores médios (n=14), seguidos dos respectivos intervalos de confiança (95%), de pH, condutividade e dureza total das amostras da água de cultivo, da Lagoa de Jauá e da Lagoa de Dunas, dos ensaios *in situ* e laboratoriais, com *P. reticulata*.

Parâmetros	Amostras			
	Controle	Lagoa de Jauá	Lagoa de Dunas <i>in situ</i>	Lagoa de Dunas em laboratório
pH	7,45 (7,14-7,77)	6,06 (5,81-6,19)	3,08 (2,96-3,23)	3,0 (3,03-3,13)
Condutividade (μS cm ⁻¹)	371,21 (330,56-411,87)	109,24 (99,84-118,65)	353,57 (340,04-367,11)	343,00 (328,15-357,85)
Dureza total (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	114,88 (106,66-123,12)	24,25 (21,83-26,66)	79,29 (74,27-84,30)	79,68 (74,60-84,77)

O 96 h-LT₅₀ para a Lagoa de Jauá foi sempre > 96 h, em ambos os ensaios, *in situ* e laboratoriais, não havendo toxicidade durante este período.

Com relação à Lagoa de Dunas, não houve diferença entre os valores de LT₅₀ de 48 e 96h, porém os resultados aqui apresentados referem-se ao período de 96 h. O 96 h-LT₅₀ médio dos ensaios *in situ* foi 0,72 (0,55-0,89) h, enquanto para os ensaios laboratoriais foi 1,61 (1,56-1,87) h (Fig. 06).

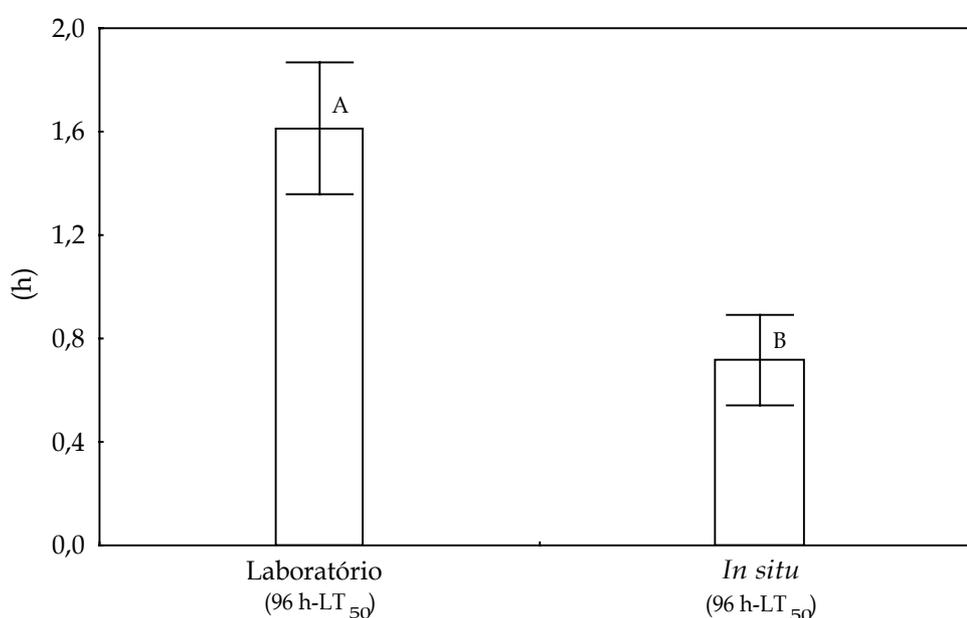


Fig. 06. Valores médios (n=14) do 96 h-LT₅₀ para ensaios laboratoriais e *in situ* com *P. reticulata* e respectivos intervalos de confiança (95%), expostos às amostras da Lagoa de Dunas. As letras iguais ao lado das médias demonstram não haver diferenças estatísticas significativas entre si a 5% de probabilidade.

Freqüentemente, são observadas diferenças nas respostas entre os ensaios laboratoriais e *in situ* (Castro *et al.*, 2003; Moreira-Santos *et al.*, 2004), porém estes geralmente reduzem as incertezas e os erros associados às condições de laboratório

(Ireland *et al.*, 1996; Chappie & Burton Jr., 1997). De acordo com os resultados aqui obtidos, os ensaios laboratoriais tiveram a toxicidade subestimada, o que pode ser reflexo das diferenças das condições dos ensaios (Pereira *et al.*, 2000), pois não demonstraram situação real de campo (Tonissi & Espíndola, 2000). Embora os valores médios das variáveis mensuradas tenham sido similares, é possível que outros efeitos ecológicos estejam a interferir nas respostas toxicológicas (Smolders *et al.*, 2004). Esta diferença nos valores dos LT_{50} mostram a discrepância que muitas vezes acompanha os estudos ecotoxicológicos, devido, principalmente, à dificuldade em reproduzir as condições de campo no laboratório (da Silva *et al.*, 1998). Para estes autores, embora contraditória, esta discrepância deve ser a razão para que novas metodologias e estratégias sejam desenvolvidas na busca de se reduzir os fatores de incerteza. No entanto, nem sempre a simulação em laboratório das condições de campo é o objetivo dos ensaios laboratoriais, porém, para a extrapolação, este é um fator relevante e problemático (Pereira *et al.*, 2000), não podendo, desse modo, negligenciar o funcionamento e os processos inerentes aos ecossistemas (Smolders *et al.*, 2004).

Tendo no pH o principal fator de toxicidade da Lagoa de Dunas (dados do capítulo 01), é pouco provável que fatores como transporte e armazenamento da amostra (Castro *et al.*, 2003) tenham interferido na toxicidade, pois não houve diferença significativa entre os valores de pH medidos em campo e em laboratório.

Sendo a exatidão uma medida mais próxima do real valor da variável que está sendo mensurada (Andrew & Mapstone, 1987), os ensaios *in situ* mostraram-se mais exatos e, portanto, mais sensíveis, pois nestes ensaios a toxicidade detectada foi maior que nos laboratoriais.

Por outro lado, a maior sensibilidade refletida nos ensaios *in situ* pode ser também resultado do transporte e manipulação dos organismos em campo (Pereira *et al.*, 2000), o que pode ter lhes proporcionado um estresse, tornando-os mais sensíveis, podendo ter superestimado os resultados. Assim, todos os esforços devem ser feitos de modo a reduzir este estresse (Chappie & Burton Jr., 1997). Em

geral, quando os procedimentos de transporte e manipulação dos organismos nos ensaios *in situ* estiverem dentro de critérios de aceitabilidade, os efeitos daí decorrentes serão amenizados (Moreira-Santos *et al.*, 2004).

Um fator que pode ter influenciado na diferença dos resultados entre os dois tipos de ensaio seria o período de aclimação dos organismos, o qual não foi semelhante. Em geral, para os ensaios laboratoriais, os organismos ficaram aclimatados, até o momento do teste, por 24 h. Porém, para os ensaios *in situ*, após o transporte ao campo, os organismos foram mantidos sem manipulação por um período de *ca.* 1 h. Schulz & Liess (1999) relatam a importância da aclimação para uma boa avaliação dos efeitos observados. Levando-se em conta que o estresse torna os organismos mais sensíveis, é possível que o aumento no período de aclimação nos ensaios *in situ* reduza o estresse e, por conseguinte, a toxicidade encontrada se reduzirá (Chappie & Burton Jr., 1997), assim as respostas ecotoxicológicas podem ser mais próximas.

De acordo com Castro *et al.* (2003), os ensaios laboratoriais fornecem informações parciais para extrapolação ao campo, por isto devem ser usados cautelosamente em termos interpretativos. Por outro lado, mesmo sendo mais exatos, os ensaios *in situ* são difíceis de serem interpretados devido às variações associadas às condições de exposição (Pereira *et al.*, 2000), principalmente porque a magnitude destas variações depende da amostra-teste (Persoone *et al.*, 1989). Em geral, busca-se com estes ensaios ler o que acontece na natureza para podermos interpretá-la de forma mais adequada.

Por outro lado, a precisão é refletida pela variabilidade de uma estimativa (Andrew & Mapstone, 1987), o que pode ser demonstrado através dos coeficientes de variações (CV). Nos ensaios *in situ*, o CV foi de 41,09%, enquanto nos ensaios laboratoriais foi de 27,16%. A variabilidade em campo foi significativamente maior que em laboratório, conforme já relatado por Schulz & Liess (1999). Em geral, a qualidade de um valor mensurado é refletida pela sua precisão e exatidão (Dave, 1993), assim, embora os ensaios *in situ* tenham sido mais exatos, estes foram menos

precisos que os laboratoriais, pois o grau de interferência dos fatores ambientais no laboratório tende a ser menor, uma vez que podem ser controlados.

2.4 CONCLUSÕES

Os ensaios *in situ* com *P. reticulata* demonstraram ser uma excelente ferramenta para aplicação no biomonitoramento da Lagoa de Dunas. Estes ensaios foram mais exatos que os laboratoriais na identificação da toxicidade da Lagoa de Dunas. É possível utilizar o período de 48 h e não 96 h para os ensaios *in situ*, tornando a avaliação mais rápida. Além disso, este ensaio apresenta uma metodologia fácil e de baixo custo, o que lhe confere vantagem para ser adotado. Apesar de todas essas vantagens, estes ensaios devem ser cuidadosamente interpretados, especialmente pela variedade de fatores não mensurados que podem interferir nos resultados, e pelo estresse associados aos organismos expostos em campo.

Em virtude do histórico do biomonitoramento com ensaios laboratoriais deste ecossistema, estes devem ser mantidos como uma forma de se comparar os resultados atuais com os anteriores e acompanhar seu processo de reabilitação. Assim, o monitoramento da Lagoa de Dunas deve integrar os ensaios laboratoriais e os *in situ*, uma vez que ambos se complementam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2002. Água - Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte I - Sistema estático. ABNT, Rio de Janeiro.

Andrew, N.L. & Mapstone, B.D. 1987. Sampling and the description of spatial pattern in marine ecology. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 25: 39-90.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 Ed. American Public Health Association, Port City Press, Baltimore, Maryland.

Boluda, R.; Quintanilla, J.F.; Bonilla, J.A.; Sáez, E. & Gamón, M. 2002. Application of the Microtox test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). *Chemosphere* 46: 355-369.

Castro, B.B.; Guilhermino, L. & Ribeiro, R. 2003. In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparus*. *Environ. Pollut.* 125: 325-335.

Chappie, D.J. & Burton Jr., A.B. 1997. Optimization of in situ bioassay with *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environ. Toxicol. Chem.* 13(3): 559-564.

da Silva, E.M.; Soares, A.M.V.M.; Sobral, O.M.F.; Lopes, I.M.C.A.; Correia, J.F.J.S.; Marchante, E.M.D.C.; Chastinet, C.B.A.; Moreno, A.J.M. 1998. Ecotoxicological responses of isolated mitochondrial systems to complex effluents. Are they worthwhile? *Chemosphere* 37: 2695-2701.

Dave, G. 1993. Replicability, repeatability, and reproducibility of embryo-larval toxicity tests with fish. In: Soares A.M.V.M. & Calow, P. (Eds.). Progress in Standardization of Aquatic toxicity tests. Lewis, Boca Raton, FL. pp. 129-157.

Ireland, D.S.; Burton Jr., G.A. & Hess, G.G. 1996. In situ toxicity evaluations of turbidity and photoinduction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* 15(4): 574-581.

Kapanen, A.; Itävaara, M. 2001. Ecotoxicity tests for compost applications. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49: 1-16.

Lewis, M.A.; Pittinger, C.A.; Davidson, D.H. & Ritchie, C.J. 1993. In situ response of natural periphyton to an anionic surfactant and an environmental risk assessment for phytotoxic effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 1803-1812.

Moreira-Santos, M.; Soares, A.M.V.M. & Ribeiro, R. 2004. An in situ bioassay for freshwater environments with the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59: 164-173.

OECD - Organisation Economic Co-operation and Development. 1992. Guideline for testing of chemicals. Fish Acute Toxicity Test. OECD Guideline for Testing of Chemicals, Paris.

Pereira, A.M.M.; Soares, A.M.V.M.; Gonçalves, F. & Ribeiro, R. 2000. Water-column, sediment, and *in situ* chronic bioassays with cladocerans. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47: 27-38.

Persoone, G.; Van de Vel, A.; Van Steertegem, M, & De Nayer, B. 1989. Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates: influence of experimental conditions. *Aquat. Toxicol.* 14: 149-166.

Ribeiro, R.; Lopes, I.; Pereira, A.M.M.; Gonçalves, F. & Soares, A.M.V.M. 2000. Survival time of *Ceriodaphnia dubia* in acid waters with metal contamination. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64: 130-136.

Schulz, R. & Liess, M. 1999. Validity and ecological relevance of an active in situ bioassay using *Gammarus pulex* and *Limnephilus lunatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 18(10): 2243-2250.

Smolders, R.; Bervoets, L. & Blust, R. 2004. In situ and laboratory bioassays to evaluate the impact of effluent discharges on receiving aquatic ecosystems. *Environ. Pollut.* 132: 231-243.

Tonissi, F.B. & Espíndola, E.L.G. 2000. Utilização de bioensaios agudo, crônico-parcial e *in situ* com *Danio rerio* para avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: Espíndola, E.L.G.; Botta-Paschoal, C.M.R.; Rocha, O.; Bohrer, M.B.C. & Oliveira-Neto, A.L. (Eds) *Ecotoxicologia: Perspectivas para o século XXI*. RiMa, São Carlos. pp. 483-498.

Wiersma, G.B.; Rogers, R.C.; McFarlane, J.C. & Bradley, D.V. 1980. Biological monitoring techniques for assessing exposure. In: Worf, D.L. (Ed.). *Biological monitoring for environmental effects*. Lexington Books, D.C. Heathand Company, Lexington, Massachusetts, Toronto. pp. 123-132.

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. 03 Ed., Prentice-Hall Int, Upper Saddle River, N.J., USA.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL DE *Latonopsis australis* Sars, 1888 E *Macrothrix elegans* Sars, 1901 COMO BIOMONITORES DE UMA LAGOA ACIDIFICADA

RESUMO

Duas espécies de cladóceros, *Latonopsis australis* e *Macrothrix elegans*, foram usadas objetivando avaliar e comparar o potencial de ambas como biomonitores de um ecossistema acidificado. Coletas mensais de amostras de água da Lagoa de Dunas (sítio de estudo) e da Lagoa de Jauá (sítio de referência) foram realizadas de agosto/2003 a julho/2004. Neonatos, com até 24 h de vida, foram submetidos às amostras-teste, e em intervalos de tempo, ao longo de 48 h, verificaram-se os organismos vivos e mortos, para posterior cálculo do LT₅₀. Para cada teste, foram usadas três réplicas das amostras, com 4 a 5 organismos em cada réplica. O resultado do 48 h-LT₅₀ da Lagoa de Jauá foi > 48 h para as duas espécies. O 24 e 48 h-LT₅₀ médio da Lagoa de Dunas para *M. elegans* foi 0,97 (0,83-1,11) h e para *L. australis* foi 1,75 (1,30-2,21) h, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$), demonstrando uma maior sensibilidade de *M. elegans*, podendo ser usado em programas de biomonitoramento futuros.

ABSTRACT

Two cladocera species, *Latonopsis australis* and *Macrothrix elegans*, were used to assess and compare the potential of them as biomonitors in an acidity ecosystem. Monthly water samples of Dunas Lake (study site) and Jauá Lake (reference site) were collected. In the laboratory were carried out bioassays with both samples, Dunas Lake and Jauá Lake. Neonates (younger than 24 h) were used for tests. At the end of the period of 48 h the organisms were counted and mortality recorded to determinate LT₅₀ values. For each test were used three replicates with four to five organisms in each replicate. The LT₅₀ results of Jauá Lake were > 48 h to both species. Mean 24 and 48 h-LT₅₀ values of Dunas Lake to *M.*

elegans was 0.97 (0.83 - 1.11) h and to *L. australis* was 1.75 (1.30 - 2.21) h, with a significant statistical difference ($p < 0.05$), demonstrating a higher sensibility of *M. elegans*, that can be used as biomonitor in tropical ecosystems.

3.1 INTRODUÇÃO

Os ensaios ecotoxicológicos, empregados para detectar efeitos deletérios das substâncias sobre os organismos (Boluda *et al.*, 2002), constituem-se numa poderosa ferramenta na identificação, entendimento, avaliação e predição dos riscos ambientais inerentes aos compostos tóxicos (Lambolez *et al.*, 1994; Fernández *et al.*, 1995; da Silva *et al.*, 1998). Basicamente, a maior vantagem dos ensaios sobre as técnicas de análise química é a capacidade de avaliar efeitos sobre a biota, a biodisponibilidade dos compostos e prever possíveis impactos sobre os ecossistemas (Sillanpää & Oikari, 1996; Manusadžianas *et al.*, 2003). No entanto, os métodos biológicos ou bioquímicos usados para tais finalidades devem ser ecologicamente relevantes, de alta sensibilidade, ter boa reprodutibilidade e de fácil aplicação (Kapanen & Itävaara, 2001).

A escolha do ensaio deve estar diretamente relacionada com a informação que se busca obter (Rojičkova-Padrtoová *et al.*, 1998). Muitos ensaios ecotoxicológicos, realizados em países tropicais, usam espécies que não ocorrem em ecossistemas tropicais ou carecem de relevância, o que dificulta os estudos de avaliação de riscos (Oliveira-Neto & Botta-Paschoal, 2000). Para estes mesmos autores, as condições dos ensaios não retratam as condições encontradas nos ecossistemas tropicais e subtropicais; assim, a extrapolação dos resultados e a predição de impactos perdem em qualidade. A ecotoxicologia tropical ainda tem forte influência das metodologias desenvolvidas e empregadas nos países de regiões temperadas (Lacher Jr. & Goldstein, 1997). É de fundamental importância entender as restrições e os potenciais dos ensaios, porque um único organismo-teste não pode ser usado para detectar todos os efeitos biológicos (Kapanen & Itävaara, 2001). Diferentes organismos não são igualmente susceptíveis aos

mesmos compostos tóxicos, e uma bateria de bioensaios pode ser necessária para avaliar as diferentes respostas (Pardos *et al.*, 1999; Hadjispyrou *et al.*, 2001). Assim, parece não ser muito adequado o uso de um bioensaio padronizado com determinada espécie, sendo mais importante se esforçar na busca por uma espécie mais sensível e relevante aos estudos, a fim de obter respostas mais reais para uma dada região (Gray, 1989).

Latonopsis australis Sars, 1888 (Cladocera, Sididae) é uma espécie habitante da zona litoral de lagos e reservatórios de regiões tropicais, como África, América, Ásia e Austrália, porém ocorre também em algumas regiões temperadas (Korovchinsky, 1992; Elmoor-Loureiro, 1997). Para Korovchinsky (1992), *L. occidentalis* Birge, 1892 e *L. breviremis* Daday, 1905 são sinônimos de *L. australis*. Quanto ao ciclo de vida, em nosso laboratório, a longevidade máxima desta espécie a 23 °C, com fotoperíodo de 16/8 h (claro/escuro), foi em torno de 30 dias.

Macrothrix elegans Sars, 1901 (Cladocera, Macrothricidae) é uma espécie que geralmente vive associada às macrófitas das margens de lagos e rios, coletando partículas no fundo, devido ao hábito de alimentação raspador, ocorrendo esporadicamente como planctônico, embora não o seja (Elmoor-Loureiro, 1997). De acordo com Güntzel *et al.* (2003, 2004), esta espécie vive em corpos d'água tropicais, com um ciclo de vida de 27 dias, a 23 °C. A esta mesma temperatura, em nosso laboratório, Andrade (2003) encontrou uma longevidade máxima em torno de 40 dias. *M. elegans* apresenta alguns problemas quanto à taxonomia, de modo que, provavelmente, *M. flabelligera* Smirnov, 1992 e *M. triserialis* Brady, 1886 devem ser sinônimos de *M. elegans* (Güntzel *et al.*, 2004).

Existem poucos estudos sobre a ecologia de *M. elegans*, destacando-se o trabalho de Andrade (2003), embora em ambientes de água doce estes cladóceros sejam bem representativos (Güntzel *et al.*, 2002). Há, também, estudos com espécies ditas sinônimas de *M. elegans*, nos quais podem ser obtidas mais informações desta espécie (Güntzel *et al.*, 2002, 2003, 2004). A carência de estudos também ocorre com *L. australis*, sendo o presente estudo uma proposta pioneira na avaliação do

potencial destas espécies em estudos ecotoxicológicos. Estes organismos têm ampla distribuição em ambientes aquáticos das regiões tropicais e subtropicais, e alta relevância no ecossistema, pois estão localizados em um ponto importante da cadeia alimentar (Serafim Jr. *et al*, 2003).

Além da importância ecológica destas duas espécies, as razões para serem aplicadas como organismos-teste se deu pela contínua disponibilidade de neonatos, devido à reprodução por partenogênese, gerando filhotes constantemente, pela facilidade do cultivo, por necessitarem de pouco investimento, espaço e infra-estrutura para manutenção em laboratório.

Os objetivos do presente estudo foram: i) avaliar e comparar a sensibilidade de *L. australis* e *M. elegans* em ensaios de ecotoxicidade agudos na Lagoa de Dunas; ii) verificar qual o tempo de resposta destes organismos para ensaios agudos, se 24 ou 48 h; iii) avaliar o potencial destas espécies como biomonitores em ecossistemas tropicais e iv) optar pela espécie a ser incorporada ao plano de biomonitoramento da Lagoa de Dunas.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo

A área de estudo para o presente trabalho foi a mesma descrita nos capítulos anteriores, a Lagoa de Dunas, tendo a Lagoa de Jauá como sítio de referência, uma vez que comprovadamente não sofreu com o episódio de contaminação, devido à direção das águas do lençol freático. A escolha da Lagoa de Jauá como referência se deu em virtude desta estar inserida no mesmo complexo de lagoas no qual encontra-se a Lagoa de Dunas, apresentar características semelhantes às das lagoas da região e, possivelmente, às que a Lagoa de Dunas apresentava antes da contaminação, além ser um ecossistema no qual a espécie *P. reticulata* ocorre.

3.2.2 Amostras

Mensalmente, durante o período de agosto de 2003 a julho de 2004 (n=12), foram realizadas coletas de amostras de água da Lagoa de Dunas e da Lagoa de Jauá, as quais foram transportadas ao laboratório e mantidas em vasilhames plásticos a $4,0 \pm 1,0$ °C até o momento do teste. Para o controle, foi usada água do Rio Capivari (Cruz das Almas, BA), na qual estas espécies são mantidas no laboratório por mais de três anos.

3.2.3 Análises físico-químicas

De todas as amostras, em todos os ensaios, foram determinadas as concentrações de oxigênio dissolvido (OD), modificado pelo método da azida sódica, e dureza total (soma da concentração de cálcio e magnésio) ambos conforme APHA (1998), pH e condutividade. O valor médio do pH foi obtido através da concentração média de H^+ e, então, calculou-se o valor do pH desta concentração.

3.2.4 Organismos-teste, cultivo e aclimação

M. elegans (Fig. 07) e *L. australis* (Fig. 08) foram coletados no Rio Capivari ($12^{\circ}38'24''$ S e $39^{\circ}04'25''$ O), no município de Cruz das Almas, tendo sido obtidos a partir da coleta de macrófitas aquáticas, *Salvinia oblongifolia* (Andrade, 2003).



Fig. 07. *Macrothrix elegans*. Aumento de 40X.



Fig. 08. *Latonopsis australis*. Aumento de 40X.

O cultivo se deu em laboratório, a temperatura em torno de $23,0 \pm 1,0$ °C, com fotoperíodo de 16/8 h (claro/escuro). Os organismos foram mantidos em frasco de vidro, do tipo cristalizadores, contendo 500 mL da água de cultivo, com ca. 150 a 200 organismos adultos e alimentados, em dias alternados, com uma suspensão algal de *Pseudokirchineriela subcaptata*, sendo ministrados em torno de $1,0 \times 10^5$ células por indivíduo.

3.2.5 Ensaios

No dia anterior ao ensaio, foram separadas fêmeas adultas ovígeras das duas espécies, de modo a serem utilizados os neonatos nascidos durante o intervalo de tempo de 24 h de vida. No momento da separação, as fêmeas foram devidamente alimentadas. Após a separação das fêmeas, e durante os ensaios, não foi fornecida alimentação aos neonatos. Os frascos-teste consistiram em béquer de 50 mL, com 40 mL da amostra. Para cada amostra testada foram estabelecidas três réplicas contendo, cada uma, 4 a 5 organismos de cada espécie. Foram realizados ao todo 24 ensaios, 12 com cada espécie, os quais ocorreram sob as mesmas condições de cultivo.

O alvo fisiológico testado foi mortalidade/imobilidade, durante um período de 48 h. Ao longo do experimento, em diferentes intervalos, os organismos vivos foram contados, sendo os mortos retirados para evitar possíveis interferências em virtude da decomposição. Os organismos foram considerados mortos se após 15 s de observação, seguida de uma leve agitação na amostra, não apresentassem movimento. De posse dos números de organismos vivos e mortos, em função do tempo, foi possível calcular o valor do LT_{50} (tempo mediano letal que causa efeito em 50% da população), com seus respectivos intervalos de confiança (95%). Os valores do LT_{50} foram calculados para o período de 24 e 48 h. Os ensaios tiveram como referência a norma para ensaios com *Daphnia similis* (ABNT, 1993) e o trabalho de Andrade (2003).

Os resultados obtidos foram, ainda, comparados com os ensaios com o peixe *Poecilia reticulata*, o qual vem sendo usado no programa de biomonitoramento da Lagoa de Dunas, cujos resultados foram apresentados nos capítulos anteriores.

3.2.6 Análise dos dados

Os valores do LT_{50} foram determinados por *Probit Analysis* através do programa *EPA PROBIT Analysis* versão 1.5. Os valores médios dos LT_{50} foram comparados usando o teste t com probabilidade ao nível de 0,05 (Zar, 1996). Todos os valores são expressos como médias, juntamente com seus intervalos de confiança (95%).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de OD foram sempre maiores que $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ em todas as amostras do controle, maiores que $4,5 \text{ mg L}^{-1}$ nas amostras da Lagoa de Jauá e maiores que $6,5 \text{ mg L}^{-1}$ nas amostras da Lagoa de Dunas. Por não haver ocorrido mortalidade nas amostras onde houve a menor concentração de OD, seguramente, este parâmetro não afetou os resultados.

Os resultados médios de pH, condutividade e dureza total, e seus intervalos de confiança, do controle, da Lagoa de Jauá e da Lagoa de Dunas estão na tabela 04. O uso da água do rio Capivari como água de cultivo e controle para este trabalho, ocorreu devido ao melhor desenvolvimento destes organismos em relação ao desenvolvimento em outros meios sintéticos (Andrade, 2003). Os valores de pH, condutividade e dureza estiveram de acordo com o estabelecido para *M. elegans* (Andrade, 2003) e, provavelmente, dentro de uma faixa aceitável para *L. australis*.

As amostras da Lagoa de Jauá, durante os ensaios com *L. australis* e *M. elegans*, registraram, respectivamente, valores médios de 6,07 (5,89-6,27) e 6,19 (5,89-6,37) para pH, 110,77 (100,17-121,37) $\mu\text{S cm}^{-1}$ e 108,91 (97,04-120,90) $\mu\text{S cm}^{-1}$ para condutividade e 22,59 (20,23-24,95) $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e 21,60 (20,25-22,95) $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ para dureza total (Tab. 04).

O pH médio da Lagoa de Dunas nos ensaios com *L. australis* foi de 3,06 (2,98-3,16), e de 3,10 (3,03-3,16) nos ensaios com *M. elegans*. Os valores médios de condutividade foram 335,80 (315,91-355,69) $\mu\text{S cm}^{-1}$ e 332,80 (314,37-351,23) $\mu\text{S cm}^{-1}$ nos ensaios com *L. australis* e *M. elegans*, respectivamente (Tab. 04).

De acordo com os valores apresentados (Tab. 04), assegura-se que os organismos foram submetidos às mesmas amostras-teste, podendo desta forma comparar os resultados, uma vez que os ensaios não foram realizados concomitantemente.

Tabela 04. Valores médios (n=12) de pH, condutividade e dureza total das amostras da água de cultivo, da Lagoa de Jauá e da Lagoa de Dunas, juntamente com seus respectivos intervalos de confiança (95%), dos ensaios com *L. australis* e *M. elegans*.

Parâmetros	Organismos	Amostras		
		Controle	Lagoa de Jauá	Lagoa de Dunas
pH	<i>L. australis</i>	6,83 (6,63-7,14)	6,07 (5,89-6,27)	3,06 (2,98-3,16)
	<i>M. elegans</i>	6,77 (6,57-7,14)	6,19 (5,89-6,37)	3,10 (3,03-3,16)
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	<i>L. australis</i>	255,40 (241,60-269,20)	110,77 (100,17-121,37)	335,80 (315,91-355,69)
	<i>M. elegans</i>	249,40 (231,70-267,10)	108,91 (97,04-120,90)	332,80 (314,37-351,23)
Dureza total (mg $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$)	<i>L. australis</i>	24,86 (24,43-25,58)	22,59 (20,23-24,95)	83,91 (77,69-90,14)
	<i>M. elegans</i>	24,86 (24,43-25,58)	21,60 (20,25-22,95)	84,20 (76,60-91,80)

Não houve mortalidade no controle, validando todos os ensaios realizados e proporcionando valores de LT_{50} semelhantes para os períodos de 24 e 48 h.

Para a Lagoa de Jauá os valores médios do 48 h- LT_{50} foram sempre > 48 h, indicando que esta lagoa não apresenta toxicidade para estas espécies, até o período de 48 h.

Quanto aos valores do LT_{50} da Lagoa de Dunas, os resultados aqui apresentados referem-se ao período de 24 h. Em geral, a determinação do tempo de exposição está relacionada com a duração do ciclo de vida do organismo (APHA, 1998). Para ensaios agudos com *Daphnia magna* (ISO, 6341) e *D. similis* (ABNT, 1993), o período é de 24 ou 48 h, por isso tomou-se como parâmetro estas duas espécies de cladóceros, pois a manutenção do ensaio por períodos maiores poderia levar à morte por falta de alimento (APHA, 1998).

Para *L. australis*, o 24 h- LT_{50} médio da Lagoa de Dunas foi 1,75 (1,30 - 2,21) h, no entanto, para *M. elegans*, o valor médio do 24 h- LT_{50} foi 0,97 (0,83 - 1,11) h. Os resultados demonstraram uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a sensibilidade destes organismos (Fig. 09).

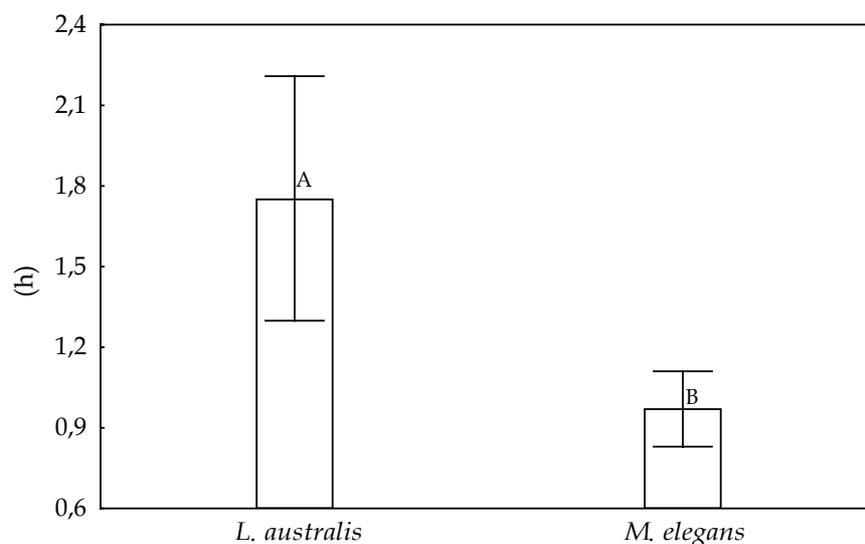


Fig. 09. Valores médios (n=12) do 24 h- LT_{50} dos ensaios com *L. australis* e *M. elegans* e respectivos intervalos de confiança (95%), expostos às amostras da Lagoa de Dunas. As letras iguais ao lado das médias demonstram não haver diferenças estatísticas significativas entre si a 5% de probabilidade.

Os resultados dos ensaios com *M. elegans*, além de maior sensibilidade, apresentaram, também, menor variabilidade, o que os tornam mais precisos, tendo um coeficiente de variação de 18,5%, enquanto os ensaios com *L. australis* apresentaram uma variabilidade quase duas vezes maior, com coeficiente de variação de 33,7%. Tais variações são bastante evidentes ao se avaliar os intervalos de confiança apresentados na Fig. 08. Deste modo, em virtude da maior sensibilidade e precisão, requisitos importantes na ecotoxicologia (Boluda *et al.*, 2002), os ensaios com *M. elegans* tornam-se mais vantajosos para serem aplicados em programas de biomonitoramento de águas acidificadas, em especial, no biomonitoramento da Lagoa de Dunas.

Em geral, não foram detectadas mudanças comportamentais bruscas antes de se atestar a morte dos organismos. Tanto *L. australis* quanto *M. elegans* permaneciam na coluna d'água, sem apresentarem movimentos, fazendo-o apenas quando estimulados, e em seguida, lentamente, se mantinham no fundo até morrerem.

De modo a poder verificar diferenças nos resultados obtidos com o peixe *Poecilia reticulata* com os dados dos cladóceros aqui estudados, foi feita uma comparação dos resultados apenas com as amostras mensais em que as três espécies foram submetidas aos bioensaios. Comparando-se os resultados dos LT₅₀ destas espécies com os valores do 48 h-LT₅₀ da Lagoa de Dunas para *P. reticulata* que foi 1,11 h (0,6 - 1,7) h, pode-se perceber que *M. elegans* apresenta sensibilidade equivalente a esta espécie, a qual já vem sendo usada no programa de biomonitoramento deste ecossistema. Em um estudo com 50 amostras ambientais, Rojičková-Padrťová *et al.* (1998) também encontraram semelhanças na sensibilidade entre uma espécie de cladóceros, *Daphnia magna*, e *P. reticulata*, porém, *Ceriodaphnia dubia*, neste mesmo estudo, apresentou-se mais sensível que ambas. Embora seja um ponto crucial na escolha do organismo-teste, a sensibilidade varia geograficamente, de modo que a padronização universal de um bioensaio é muitas vezes inapropriada (Gray, 1989).

Em muitos casos, os ensaios são conduzidos com organismos que podem ser facilmente coletados, cultivados e testados, sendo o significado ecológico um fator secundário (Chapman, 2002). Pelo curto ciclo de vida e alta frequência de reprodução, bem como a rapidez do ensaio, facilidade e repetitividade, requisitos importantes para o uso de uma espécie na ecotoxicologia (Kapanen & Itävaara, 2001; Terra & Feiden, 2003), essas espécies podem ser melhor estudadas para aplicação em estudos futuros, particularmente devido à carência de estudos quanto à ocorrência e à tolerância aos fatores ambientais.

A utilização de espécies de alta relevância para ecossistemas tropicais, possibilita à ecotoxicologia tropical maior autonomia, deixando de ser apenas uma extensão da ecotoxicologia desenvolvida nos países temperados (Lacher Jr. & Goldstein, 1997).

A sensibilidade observada neste estudo, deve ser analisada com cuidado, pois tão importante quanto ser ou não sensível, é o mecanismo de ação dos tóxicos sobre os organismos (da Silva *et al.*, 1998) e os processos de resistência (Calow, 1989).

O uso potencial dos cladóceros em bioensaios é amplamente investigado, a exemplo de *Daphnia magna* (ISO,1989), *D. similis* (ABNT, 1993) e *Ceriodaphnia dubia* (ABNT, 1995), porém, antes de serem adotados como organismos-teste, um estudo aprofundado da sua biologia precisa ser desenvolvido (Andrade, 2003).

3.4 CONCLUSÕES

Os ensaios com *L. australis* e *M. elegans* mostraram-se promissores, pois são de baixo custo e requerem pouco espaço para sua execução. Estas duas espécies, em virtude da disponibilidade contínua de neonatos, da alta sensibilidade demonstrada neste estudo e do curto período do ensaio (24 h), apresentam grande potencial de aplicação na ecotoxicologia para o monitoramento de ecossistemas tropicais. Vale salientar que, embora neste estudo tenha sido possível se detectar os efeitos tóxicos das amostras-teste em um período de 24 h, não é descartada a

hipótese de que, para outras amostras, seja necessário um período maior que 24 h a fim de que seja observado seu efeito, pois alguns compostos são influenciados pelo tempo de exposição (Dave, 1993).

M. elegans, por ter apresentado maior sensibilidade e menor variabilidade, deve ser adotado preferencialmente como organismo biomonitor no programa de monitoramento da Lagoa de Dunas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1993. NBR 12713. Água - Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Crustácea, Cladocera). ABNT, Rio de Janeiro.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 1995. NBR 13373. Água - Avaliação de toxicidade crônica, utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Crustácea, Cladocera). ABNT, Rio de Janeiro.

Andrade, A. M. S. 2003. Estudo sobre a biologia de *Macrothrix elegans* Sars (1901) (Crustacea: Anomopoda) e uma avaliação sobre sua sensibilidade ao dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). Monografia (Graduação). Universidade Federal da Bahia. 49p.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 Ed. American Public Health Association, Port City Press, Baltimore, Maryland.

Boluda, R.; Quintanilla, J.F.; Bonilla, J.A.; Sáez, E. & Gamón, M. 2002. Application of the Microtox[®] test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). *Chemosphere* 46: 355-369.

Calow, P. 1989. The choice and implementation of environmental bioassays. *Hydrobiologia* 188/189: 61-64.

Chapman, P.M. 2002. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. *Mar. Pollut. Bull.* 44: 7-15.

da Silva, E.M.; Soares, A.M.V.M.; Sobral, O.M.F.; Lopes, I.M.C.A.; Correia, J.F.J.S.; Marchante, E.M.D.C.; Chastinet, C.B.A. & Moreno, A.J.M. 1998. Ecotoxicological responses of isolated mitochondrial systems to complex effluents. Are they worthwhile? *Chemosphere* 37: 2695-2701.

Dave, G. 1993. Replicability, repeatability, and reproducibility of embryo-larval toxicity tests with fish. In: Soares A.M.V.M. & Calow, P. (Eds.). Progress in Standardization of Aquatic toxicity tests. Lewis, Boca Raton, FL. pp. 129-157.

Elmoor-Loureiro, L.M.A. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Universa, Brasília. 156p.

Fernández, A.; Tejedor, C.; Cabrera, F. & Chordi, A. 1995. Assessment of toxicity of river water and effluents by the bioluminescence assay using *Photobacterium phosphoreum*. *Wat. Res.* 29: 1281-1286.

Gray, J.S. 1989. Do bioassays adequately predict ecological effects of pollutants? *Hydrobiologia* 188/189: 397-402.

Güntzel, A.M.; Rocha, O.; Santos-Wisniewisk, M.J. & Matsumura-Tundisi, T. 2002. Diversity of littoral Cladocera (Macrothricidae and Ilyocryptidae) from BrazCWPilian lakes and reservoirs, with some remarks on the life cycle of *Macrothrix flabeligera*, Smirnov, 1992. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 28: 1-6.

Güntzel, A.M.; Matsumura-Tundisi, T. & Rocha, O. 2003. Life cycle of *Macrothrix flabeligera* Smirnov, 1992 (Cladocera, Macrothricidae), recently reported in the Neotropical region. *Hydrobiologia* 490: 87-92.

Güntzel, A.M.; Matsumura-Tundisi, T. & Rocha, O. 2004. *Macrothrix flabeligera* a newly-recorded Cladocera Macrothricidae in Brazilian freshwaters. *Braz. J. Biol.* 64(1): 1-6.

Hadjispyrou, S.; Kungolos, A. & Anagnostopoulos, A. 2001. Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotox. Environ. Saf.* 49: 179-186.

ISO 6341. 1989. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Paris.

Kapanen, A. & Itävaara, M. 2001. Ecotoxicity tests for compost applications: Review. *Ecotox. Environ. Saf.* 49: 1-16.

Korovchinsky, N.M. 1992. Sididae and Holopediidae. Guides to the identification of microinvertebrates of the continental waters of the world. n. 3. SPB Academic Publishing.

Lacher Jr., T.E. & Goldstein, M.I. 1997. Tropical ecotoxicology: status and needs. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(1): 100-111.

Lambolez, L.; Vasseur, P.; Ferard, J.F. & Gisbert, T. 1994. The environmental risks of industrial waste disposal: an experimental approach including acute and chronic toxicity studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 28: 317-328.

Manusadžianas, L.; Balkelyte, L.; Sadauskas, K.; Blinova, I.; Pöllumaa, L. & Kahru, A. 2003. Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters: selection of the biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices. *Aquat. Toxicol.* 63: 27-41.

Oliveira-Neto, A.L. & Botta-Paschoal, C.M.R. 2000. Sensibilidade do cladocera lacustre planctônico *Ceriodaphnia silvestrii* (Família Daphnidae) aos metais cádmio, cromo e chumbo. In: Espíndola, E.L.G.; Botta-Paschoal, C.M.R.; Rocha, O.; Bohrer, M.B.C. & Oliveira-Neto, A.L. (Eds) *Ecotoxicologia: Perspectivas para o século XXI*. RiMa, São Carlos. pp. 537-543.

Pardos, M.; Benninghoff, C.; Guéguen, C.; Thomas, R.; Dobrowolski, J. & Dominik, J. 1999. Acute toxicity assessment of Polish (waste) water with a microplate-based

Hydra attenuata assay: a comparison with the Microtox[®] test. *Sci. Total Environ.* 243/244: 141-148.

Rojčková-Padrťová, R.; Maršálek, B. & Holoubek, I. 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: selection of an optimal test battery. *Chemosphere* 37(3): 495-507.

Serafim Jr., M.; Lansac-Tôha, F.A.; Paggi, J.C.; Velho, L.F.M. & Robertson, B. 2003. Cladocera fauna composition in a river-lagoon system of the upper Paraná river floodplain, with a new record for Brazil. *Braz. J. Biol.* 63(2): 349-356.

Sillanpää, M. & Oikari, A. 1996. Assessing the impact of complexation by EDTA and DTPA on heavy metal toxicity using Microtox bioassay. *Chemosphere* 32(8): 1485-1497.

Terra, N.R. & Feiden, I.R. 2003. Reproduction and survival of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Cladocera) under different hardness conditions. *Acta Limnol. Bras.* 15(2): 51-55.

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. 03 Ed., Prentice-Hall Int, Upper Saddle River, N.J., USA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A seleção do bioensaio para avaliação ecotoxicológica está na dependência das informações requeridas, das amostras a serem testadas e da sensibilidade do organismo (Rojičkova-Padrťová *et al.* 1998). Para este estudo, em especial, as três espécies apresentaram-se adequadas, tendo-se destacado *M. elegans* e *P. reticulata*. *P. reticulata* deve ser mantida a fim de se comparar continuamente a evolução do *status* ecotoxicológico da Lagoa de Dunas, adicionando o monitoramento *in situ*, e *M. elegans* deve ser adotado como um organismo adicional de nível trófico diferente e que apresentou alta sensibilidade.

Embora existam evidências quanto ao processo de reabilitação da Lagoa de Dunas (de Santana, 2004; Reis, 2004), não se pode dizer que os dados obtidos neste estudo demonstram haver uma melhora em termos ecológicos, pois os organismos usados ainda não foram capazes de sobreviver quando expostos à água da lagoa *in natura*.

O progresso do processo de neutralização de um corpo d'água acidificado depende da sua idade, sendo que os valores de pH aumentam a partir da alcalinidade gerada no sedimento em virtude de reações redutoras, a exemplo da redução do sulfato (Gorham, 1998; Peine & Peiffer, 1998) e do nitrato (Wendt-Potthoff & Neu, 1998) e mesmo com a própria produção primária (Nixdorf *et al.*, 1998). Porém, a reabilitação é um processo específico para cada ecossistema (Geller *et al.*, 1998), de modo que se torna uma questão aberta e que ainda não se tem uma resposta segura (Kalin & Geller, 1998).

Ainda hoje, as condições na Lagoa de Dunas são muito ácidas, todavia, com o tempo, acredita-se que estas condições sejam mais amenizadas, acarretando num aumento nos valores de pH e, por conseqüência, uma redução na toxicidade, que possibilitará uma reabilitação da comunidade biológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

De Santana, L.C.S. 2004. Avaliação da reabilitação e da ecotoxicidade atual da Lagoa das Dunas, Camaçari-Bahia, Brasil. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento. Universidade Federal da Bahia. 104p.

Geller, W.; Klapper, H. & Schultze, M. 1998. Natural and anthropogenic sulfuric acidification of lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 3-14.

Gorham, E. 1998. Acid deposition and its ecological effects: a brief history of research. *Environmental Science & Policy* 1: 153-166.

Kalin, M. & Geller, W. 1998. Limnological fundamentals of acid mining lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 423-425.

Nixdorf, B.; Wollmann, K. & Deneke, R. 1998. Ecological potentials for planktonic development and food webinteractions in extremely acidic mining lakes in Lusatia. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 147-167.

Peine, A. & Peiffer, S. 1998. In-lake neutralization of acid mine lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation. Springer, Berlin. pp. 47-63.

Reis, I.S. 2004. Monitoramento da evolução das comunidades biológicas da Lagoa das Dunas após episódios de contaminação ácida, Camaçari - Bahia - Brasil. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento. Universidade Federal da Bahia. 73p.

Rojičková-Padrťová, R.; Maršálek, B. & Holoubek, I. 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: selection of an optimal test battery. *Chemosphere* 37(3): 495-507.

Wendt-Potthoff, K. & Neu, T.R. 1998. Microbial processes for potential in situ remediation of acidic lakes. In: Geller, W.; Klapper, H. & Salomons, W. (Eds.). *Acidic mine lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation*. Springer, Berlin. pp. 269-284.