

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DA ÁGUA EM UM SISTEMA DE RANICULTURA**

Natália Palermo Pereira Caruso

Orientador: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação do Instituto de Pesca- APTA- SAA, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Aquicultura e Pesca

**São Paulo
Setembro- 2009**

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DA ÁGUA EM UM SISTEMA DE RANICULTURA**

Natália Palermo Pereira Caruso

Orientador: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação do Instituto de Pesca- APTA- SAA, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Aquicultura e Pesca

**São Paulo
Setembro- 2009**

P436e

Caruso, Natália Palermo Pereira

Ensaio ecotoxicológico para avaliação da qualidade da água de
ranicultura / Natália Palermo Pereira Caruso. – São Paulo, 2009.

iii, 66f. ; il. ; graf. ; tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e
Abastecimento.

Orientador: Julio Vicente Lombardi

1. Ecotoxicologia. 2. Ranicultura. 3. Cladóceros. 4. Microalga. 5. Eutrofização.

I. Lombardi, Julio Vicente. II. Título.

CDD 597.82

Ficha catalográfica elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação – Instituto de Pesca, São Paulo

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Ensaio Ecotoxicológicos para avaliação da qualidade da água em um sistema de ranicultura

AUTOR: NATÁLIA PALERMO PEREIRA CARUSO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi



Prof.ª. Dra. Regina Sawaia Sáfaci



Prof.ª. Dra. Cintia Badaró Pedroso

Data da realização: 10 de setembro de 2009



Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

DEDICO
Aos meus pais Marilda e Nicolau, pelo amor e apoio incondicional em todas as escolhas de minha vida.

**Escrevo te em desordem, bem sei
mas é como eu vivo, só trabalho
com os achados e perdidos.**

Clarisse Lispector

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesca, pela viabilização logística do projeto que originou este trabalho e todas as oportunidades esses anos todos.

A FAPESP- Fundação para o Amparo da Pesquisa no Estado de São Paulo, pela concessão do auxílio financeiro utilizado na realização deste estudo, Processo nº. 05/05180-0.

Ao proprietário da ranicultura estudada por ter permitido as coletas, fornecido dados e aceitado as recomendações da equipe.

Ao meu orientador Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi, por todas as oportunidades que me deu nessa longa caminhada científica, desde minha iniciação até o fim do mestrado. Muito obrigada pela confiança, pelas lições e paciência nesses seis anos, e tenho certeza que esse não será nosso ultimo trabalho juntos.

A meus pais Marilda e Nicolau, ao meu irmão Rômulo e minha vó Hilda, por serem minha base, meu porto, meus heróis e melhores amigos. Admiro cada um de uma maneira única e eterna. Obrigada também pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos de minha vida.

Aos meus padrinhos Maria das Graças e Rubens Contini por serem meus segundos pais, pela preocupação, amor e por continuarem presentes na minha vida.

A todos meus colegas de pós-graduação, especialmente: Luciana Miashiro, João Alexandre Saviolo Osti, Luis Eugênio B. Moreira, Antonio Mataresio Antonucci e Jeniffer Sati Pereira, pela amizade e companheirismo.

Aos estagiários do projeto Ecotox: Felipe Franchim Madeira e Paulo Lahoz Concilio pela companhia e ajuda no laboratório.

Ao Luiz Evangelista e ao Marcão pela ajuda e amizade em todas as coletas e viagens.

Aos pesquisadores do Instituto de Pesca: Dra. Suzana Sendacz, Dr. Hélcio Luis de Almeida Marques, Dra. Cíntia B. Pedroso, Dra. Cláudia Maris Ferreira, Dr. Clovis Ferreira do Carmo, Dra. Cacilda Thais J. Mercante e Dra. Maria José T. Ranzani de Paiva, pelo incentivo e conselhos.

As minhas amigas e companheiras do Instituto de Pesca: Fernanda, Flávia, Solange, Jackeline, Marina, Danielle e Patrícia, pelos cafés, conversas, risadas, trocas de conhecimento e amizade desde o meu primeiro dia de Pesca.

A todos os meus amigos, principalmente: Alena, Cíntia, Jamil, Lubna, Tarcila, Paulo e Vanessa, pela paciência, incentivo, companheirismo, amizade e

carinho incondicional que definitivamente fizeram a diferença para meu sucesso. Amo vocês.

Ao Fernando Wehby, que surgiu já no final desta etapa, trazendo-me calma, carinho, amor e apoio. Você foi fundamental!

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e meu crescimento pessoal, que, por descuido, não foram agradecidas nominalmente.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	i
Lista de tabelas.....	iii
Resumo.....	01
Abstract.....	02
INTRODUÇÃO GERAL	
A aquicultura e seus impactos.....	04
A ranicultura e seus impactos.....	05
Exigências legais de controle de efluente.....	06
Soluções para reduzir os impactos de efluente de aquicultura.....	07
A ecotoxicologia na avaliação dos efluentes aquícolas.....	08
Objetivos.....	09
Referências Bibliográficas.....	11
CAPÍTULO 1- Ensaio ecotoxicológico para avaliação da qualidade da água em um sistema de ranicultura.	
Resumo.....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	18
Resultados e Discussão.....	23
Conclusões.....	31
Agradecimentos.....	31
Referências Bibliográficas.....	31

CAPÍTULO 2- Análises ecotoxicológicas para avaliação da fitodepuração no tratamento de efluente de ranicultura.

Introdução.....	37
Material e Métodos.....	38
Resultados e Discussão.....	42
Conclusões.....	48
Referências Bibliográficas.....	49

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
----------------------------------	-----------

APÊNDICE- Caracterização da área de amostragem

Localização.....	52
Atividades do entorno e seus efeitos.....	52
Referências Bibliográficas.....	54

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Representação das estações de amostragem da ricultura em Tremembé,(SP).....19
- Figura 2.** Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das estações amostrais de ricultura, Tremembé, SP.....26
- Figura 3.** Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente de ricultura, Tremembé, SP.....28
- Figura 4.** Média do crescimento algáceo nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) com amostras dos locais de coletas de ricultura, Tremembé, SP.....29
- Figura 5-** Média do crescimento algáceo nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) com diluição do efluente de ricultura, Tremembé, SP.....30

CAPÍTULO 2

- Figura 1-** Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das estações amostrais de ricultura (afluente, efluente sem tratamento e efluente tratado pela fitodepuração). Barras brancas indicam ausência de toxicidade, barras cinzas indicam presença de toxicidade crônica, e barras pretas indicam toxicidade aguda.....46
- Figura 2-** Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente (após a fitodepuração) de ricultura. Barras brancas indicam ausência de toxicidade, barras cinzas indicam presença de toxicidade crônica, e barras pretas indicam toxicidade aguda.....46

Figura 3- Média do crescimento algáceo da microalga verde *P. subcapitata* nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) com amostras das estações de coletas de ricultura (afluente, efluente sem tratamento e efluente tratado pela fitodepuração). Barras brancas indicam ausência de efeito estimulante ou redutor, barras pretas indicam presença de efeito estimulante ou redutor no crescimento algáceo.....47

Figura 4- Média do crescimento algáceo da microalga verde *P. subcapitata* nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente (após a fitodepuração) de ricultura. Barras brancas indicam ausência de efeito estimulante ou redutor, barras pretas indicam presença de efeito estimulante ou redutor no crescimento algáceo.....48

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1:Valores médios e desvio-padrão das variáveis limnológicas nas estações de amostragem de ricultura em Tremembé,SP, e valores recomendados pela resolução CONAMA 357 (Brasil, 2005) para as águas doces de classe 2.....24

Tabela 2. Valores médios do Índice de Estado Trófico (IET) segundo Toledo *et al.* (1983) das estações amostradas durante um período produtivo de rã- touro em Tremembé, SP.....26

CAPÍTULO 2

Tabela 1 :Valores médios e desvio-padrão das variáveis limnológicas nas estações de amostragem de ricultura em Tremembé,SP, no período de outubro de 2006 a março de 2007 e valores recomendados pela resolução CONAMA 357 (Brasil, 2005) para as águas doces de classe 2.....43

RESUMO

O notável crescimento das atividades de aquicultura, nas últimas décadas, tem despertado uma proporcional preocupação com a questão ambiental, pois, a criação de organismos aquáticos em sistemas confinados pode representar uma fonte de poluição orgânica, gerada pelo lançamento de seus efluentes diretamente no ambiente natural. Atualmente, a resolução CONAMA 357 de 2005 propõe a utilização de ensaios ecotoxicológicos para o controle da qualidade de efluentes lançados nos corpos hídricos naturais. Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar ensaios ecotoxicológicos em amostras de água provenientes da atividade de ranicultura e testar a eficiência da fitodepuração no tratamento deste efluente, através do uso do cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e a microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismos-teste. As análises deste trabalho foram desenvolvidas em duas campanhas. Na primeira, analisou-se o potencial ecotoxicológico de todo empreendimento (afluente, efluente e corpo receptor) e verificou-se que a atividade estudada gera um efluente com altos níveis de nutrientes e uma grande capacidade eutrofizante, comprovando o risco ecotoxicológico do lançamento deste no corpo hídrico receptor. Na segunda campanha amostral avaliou-se a eficiência de um sistema de fitodepuração instalado por iniciativa do produtor, na saída do efluente geral da ranicultura. Foram utilizados os mesmos organismos-teste e metodologia da primeira campanha e, a partir dos resultados dos ensaios ecotoxicológicos aliados às análises químicas da água, chegou-se à conclusão que a fitodepuração, da maneira como foi projetada, não foi eficiente no tratamento do efluente da ranicultura analisada. Ou seja, mesmo após o tratamento, o efluente continuou a exercer efeitos tóxicos ao organismo-teste *C. dubia* e efeito estimulante à *P. subcapitata*. Supõem-se que um melhor equacionamento e manejo do sistema de fitodepuração possa produzir resultados mais positivos no tratamento deste tipo de efluente.

ABSTRACT

The remarkable growth in aquaculture activities in recent decades has given rise to a proportional growth in worries over environmental issues, as the culture of aquatic organisms in confined systems can be a source of organic pollution generated by the disposal of its effluents directly in the natural environment. Nowadays, CONAMA's 357 resolution of 2005 proposes the use of ecotoxicological tests in order to control the quality of the effluents disposed in natural receiving waters. The present study had the objective of performing ecotoxicological tests in water samples from a frog culture enterprise and to test the efficiency of fitodepuration as a method of treatment of effluents through the use of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* and the green microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* as test organisms. The analysis in this study were carried out in two stages: first, the ecotoxicological potential of the whole enterprise (influent, effluent and receiving water) was analyzed, and it was verified that the studied frog farm generates an effluent with high levels of nutrients and a great eutrophizing capacity, which confirmed the existence of an ecotoxicological risk in the disposal of effluent on the receiving water. In the second stage, it was tested the efficiency of a fitodepuration system installed, by initiative of the producer, at the outlet of the effluents. The same test organisms and methodology of the first stage were used in this stage, and, it was concluded that the fitodepuration, in the way it was designed, was not efficient in the treatment of the effluent of the frog farm facility analyzed - that is, even after the treatment, the effluent continued to exercise a toxic effect on the test organism *C. dubia* and a stimulating effect on *P. subcapitata*. Apparently, a better equation and management of the fitodepuration system will enable it to deliver better results regarding the treatment of this kind of effluent.

INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura e seus impactos

A aquicultura é uma atividade importante na produção de alimentos e mundialmente, em 2006, produziu aproximadamente 51,7 milhões de toneladas, movimentando mais de US\$ 78,8 bilhões. Isto significa que a aquicultura continua crescendo mais rapidamente que qualquer outro tipo de produção animal (FAO, 2008). Este crescimento proporciona benefícios econômicos e sociais, mas também tem despertado a preocupação de órgãos governamentais, e pesquisadores quanto aos impactos ambientais que podem causar (Goldburg & Triplett, 1997).

Os impactos ambientais provocados pela aquicultura incluem a redução de áreas naturais, o escape de espécies exóticas cultivadas no ambiente natural, a disseminação de patologias dos organismos cultivados aos nativos e a produção de efluentes com alto potencial de eutrofização dos ambientes receptores destes (Boyd, 2003). Em relação à eutrofização do meio receptor, vários autores já destacaram esse fenômeno como Schwartz & Boyd, 1994; Boyd & Gautier, 2000 e Baccarin & Camargo, 2005.

O efluente aquícola é especialmente enriquecido por nutrientes como nitrogênio, fósforo, matéria orgânica, sólidos totais em suspensão, devido a sobras de ração e excretas dos organismos e, também, pode conter antibióticos ou outros produtos químicos utilizados no controle de doenças (Paez-Osuna, 2001). No entanto, as características do efluente podem variar em função da espécie cultivada e da densidade dos organismos (Boyd, 2000).

O lançamento do efluente aquícola sem tratamento em ambientes aquáticos pode resultar em uma acumulação crônica de nutrientes, principalmente de fósforo e nitrogênio, levando ao processo de eutrofização (Redding, 1997). Este provoca mudanças nas condições físicas e químicas dos ambientes aquáticos e também na estrutura das comunidades aquáticas bem como aumenta o nível de produção primária (Esteves, 1998).

A eutrofização também pode trazer efeitos nocivos ao homem, como o caso de floração de cianobactérias relatado por Calijuri *et al.*(2006), em que a produção e liberação de toxinas na água causaram um grande número de óbito em humanos.

A ranicultura e seus impactos

A ranicultura vem crescendo de forma acelerada na última década. De acordo com estatísticas da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 2002), a produção média da carne de rã, durante o período de 1989-2001, situou-se em torno de 5.500 toneladas anuais. O crescimento da produção do período foi de 13%, enquanto no Brasil, o crescimento superou 2600%, demonstrando o crescimento da sua participação na produção mundial. Em 2001, a produção mundial da carne de rã foi de 6.515 toneladas, sendo a maioria (73%) proveniente do continente asiático.

O Brasil é pioneiro na tecnologia de criação de rãs e praticamente toda a produção brasileira está alicerçada na espécie *Lithobates catesbeianus* (Frost *et al.*,2006), popularmente conhecida como rã-touro. A carga orgânica gerada pelos

efluentes da ranicultura, na maioria das vezes, supostamente não deveriam comprometer a sustentabilidade ecológica do empreendimento, porque não demandam, comparativamente com outras criações de organismos aquáticos, grandes quantidades de água. Entretanto, as alterações da qualidade da água de uso advêm, principalmente, do acúmulo de alimentos e excretas, além de restos de troca de pele, que são transportados na lavagem das baias e tanques de criação. Embora a demanda pela água seja variável, a concentração de matéria orgânica é relativamente alta nas operações de ranicultura. Assim, os efluentes gerados nesta atividade também merecem especial atenção nos estudos de impacto ambiental.

Exigências legais de controle de efluente

A Constituição Federal e a Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, estabelecem medidas que visam controlar os poluentes no meio ambiente, proibindo o seu lançamento em níveis nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras formas de vida. Há algumas décadas, o controle da poluição em corpos hídricos vinha sendo exercido, no Brasil, com base somente nos parâmetros estipulados pela resolução nº 20 de 1986 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), para as variáveis físicas e químicas de água. Segundo Bassoi *et al.* (1990), as avaliações realizadas pela CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental), nas principais fontes de recurso hídrico do Estado de São Paulo, já vinham demonstrando que os efluentes líquidos, que atendiam aos padrões numéricos de emissão e de qualidade de água, não

estavam isentos de causar efeitos tóxicos à biota aquática, concluindo que a toxicidade dos efluentes dificilmente poderia ser prevista somente através das análises físicas e químicas de substâncias específicas e, portanto, os testes de ecotoxicidade foram implementados por aquela Companhia há mais de três décadas.

A recente resolução CONAMA de nº 357, de 17 de março de 2005, atualiza a antiga resolução nº 20 de 1986 e estipula que as águas da União (doces, salobras e salinas) devem seguir uma exigência de níveis de qualidade e padrões específicos para garantir seus usos preponderantes em cada classe e estabelece, além dos parâmetros físicos e químicos, a necessidade da realização de testes ecotoxicológicos em efluentes líquidos para a verificação dos possíveis efeitos tóxicos (agudo ou crônico) a organismos aquáticos.

Solução para reduzir os impactos de efluente de aquicultura

Para que os efluentes aquícolas atinjam os padrões de qualidade correspondente a sua classe, em algumas situações, é necessária a implementação de um tratamento, devido a sua alta concentração de nutrientes e sólidos totais em suspensão. Segundo Kivaisi (2001), Lin *et al* (2005) e Henry-Silva & Camargo (2006) , os efluentes com altas cargas de nutrientes, como os obtidos em empreendimentos aquícolas, podem ser tratados através de sistemas de fitodepuração com macrófitas, através da construção de wetlands, que naturalmente removem os poluentes da água.

A ecotoxicologia na avaliação dos efluentes aquícolas

A Ecotoxicologia é a ciência bastante utilizada como excelente ferramenta que possibilita analisar a qualidade dos efluentes líquidos (industriais, domésticos e agrícolas) lançados nos recursos hídricos naturais, com o intuito alertar para os possíveis impactos e riscos à saúde do homem e do meio ambiente (Lombardi, 2004). A realização de ensaios ecotoxicológicos considera, basicamente, a exposição de alguns tipos de organismos-teste às amostras de água, por um período de tempo padronizado para cada tipo de avaliação. Segundo Lombardi (2004), os organismos-teste cultiváveis em laboratório, tais como microalgas (*Pseudokirchneriella subcapitata*), microcrustáceos cladóceros (*Daphnia similis* ou *Ceriodaphnia dubia*) e peixes (*Danio rerio*) são os mais utilizados internacionalmente na realização de ensaios ecotoxicológicos e a sua escolha deve considerar diversos critérios baseados na resposta que se pretende obter. De acordo com este mesmo autor, o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* é o tipo de organismo geralmente utilizado em avaliações que permitem duas leituras de resultado no mesmo ensaio (toxicidade aguda e crônica).

A microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* tem sido frequentemente utilizada como organismo-teste em efluentes industriais e agrícolas, como no estudo de Rodicková-Padrtová e Marsálek (1999) que compararam a sensibilidade de sete espécies de microalgas em testes de toxicidade com metais pesados e pesticidas e verificaram que a *P.subcapitata* foi, de maneira geral, a mais sensível.

Os ensaios ecotoxicológicos podem oferecer a falsa impressão de ferramenta pouco eficiente na avaliação de efluentes de aquicultura, principalmente devido à origem orgânica dos seus principais poluentes. A observação deste tipo de resultado permite inferências sobre o risco de eutrofização ambiental.

Além disto, os ensaios ecotoxicológicos podem ser bastante eficientes para detectar os efeitos de outros poluentes comumente lançados no meio aquático durante o manejo dos viveiros de aquicultura, tais como aplicações de inseticidas, herbicidas, hormônios e antibióticos.

Objetivos

Este estudo teve como objetivo geral realizar ensaios ecotoxicológicos ao longo de várias estações amostrais em um sistema de criação de rãs.

Objetivos específicos e metas:

- Realizar ensaios ecotoxicológicos (testes de toxicidade aguda e crônica) com amostras de água (afluente, efluente e corpo receptor) provenientes de projeto de ranicultura, utilizando os seguintes organismos-teste: *Ceriodaphnia dubia* (cladóceros) e *Pseudokirchneriella subcapitata* (microalga verde).
- Avaliar a eficiência do sistema de fitodepuração instalado pelo produtor para o tratamento do efluente de ranicultura.

- Confrontar os resultados com as recomendações expressas pelas agências ambientais, especialmente a resolução CONAMA 357 de 2005.

Os capítulos 1 e 2 desta dissertação constituem artigos científicos que serão submetidos a duas revistas especializadas. O primeiro artigo, intitulado “Ensaio ecotoxicológico para avaliação da qualidade da água em um sistema de ranicultura”, será submetido à Revista Agropecuária Brasileira – PAB – que é editada mensalmente pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa –, vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Destina-se à divulgação de trabalhos técnico-científicos, resultantes de pesquisas ligadas à agropecuária. O segundo artigo, intitulado “Análises ecotoxicológicas para avaliação da fitodepuração no tratamento de efluente de ranicultura”, será submetido ao Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology que publica, mensalmente, artigos referentes a avanços e descobertas sobre a poluição atmosférica, aquática e terrestre bem como seus efeitos em humanos e no ambiente.

O apêndice desta dissertação consiste na caracterização da área estudada, com detalhamento da região e atividades do entorno na propriedade aquícola.

Referências Bibliográficas

- Bacarin, A.E. & Camargo, A.F.M. 2005. **Characterization and evaluation of the impact of feed management on the effluents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture**. Brazilian Archives of Biology and Technology, 48: 81-90 p.
- Boyd, C.E. 2000. **Water Quality: An introduction** Kluwer Academic Publishers, Norwell, 330 p.
- Boyd, C.E. 2003. **Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level**. Aquaculture, 226: 111-112 p.
- Boyd, C.E. & Gaultier, D. 2000. **Effluent composition and water quality standards**. Global Aquaculture Advocate, 3: 61- 66 p.
- Brasil, 2005, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial*, 17 mar 2005.
- Calijuri, M.C., Alves, M.S.A. & Santos, A.C.A. 2006. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. Rima, São Carlos, 188 p.
- Constituição Federal e a **Lei nº 6.938, de 31 de Agosto de 1981**
- Esteves, F.A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª ed. FINEP, Rio de Janeiro, 602 p.
- FAO, Food And Agriculture Organization Of The United Nation . 2002. **The State of Worl Fishers and Aquaculture 2001**. FAO Fisheries and Aquaculture Departamente, Rome. Italy.162p
- FAO, Food And Agriculture Organization Of The United Nation . 2009.**The State of Worl Fishers and Aquaculture 2008**. FAO Fisheries and Aquaculture Departamente, Rome. Italy.146p
- Frost D. R., Grant T., Faivovich J., Bain R. H., Haas A., Haddad C. F. B., Desa R., Channing A., Wilkinson M., Donnelan S. C., Raxworthy C. J., Campbell J. A., Blotto B. L., Moler P., Drewes R. C., Nussbaum R. A., Lynch J. D., Green D. M. & Wheeler W. C. 2006. **The Amphibian tree of Life**. Bulletin American Museum of Natural History. 297: 1-370.
- Goldburg, R. & Triplett, T. 1997. **Murky waters: Environmental effects of aquaculture** in the United States. Environmental Defense Fund, Washington, 198 p.

- Henry- Silva, G.G. & Camargo, A.F.M. 2006. **Efficiency of aquatic macrophytes to treat Nile tilapia pond effluents.** Scientia Agricola, v. 63. p. 433-438.
- IWA- International Water association. 2000. **Constructe Wetlands for Pollution Control. Processes, Performace, Design and Operation.** IWA Publishing. London. 156 p.
- Kivaisi, A. K. 2001 **The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review.** Ecological Engineering.:16,545 – 560 p.
- Lin, Y.F; Jing, S.R.; Lee,D.Y.; Chang, Y.F.; Chen, Y.M. & Shih, K.C.. 2005. **Performace of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate.** Environmental Pollution, 134. p 37- 45.
- Lombardi, J.V., 2004, **Fundamentos de Toxicologia Aquática.** In: R. Paiva *et al.* (ed.), *Sanidade de organismos aquáticos*, p.263-272.
- Páez-Osuna, F. 2001. **The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective.** Environmental Pollution, 112 : 229-231 p.
- Redding, T., Todd, S. & Midlen, A. 1997. **The treatment of aquaculture wastewaters- A botanical approach.** Journal of Environmental Management, 50: 283- 299 p.
- Rojicková-Pardrtová, R. e Marsálek,B. 1999. **Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing.** Chemosphere. 38: 3329-3338 p.
- Schulz, C., Gelbrecht, J. & Rennert B. 2003. **Treatment of rainbow trout farm effluents in constructed wetland with emergent plants and subsurface horizontal water flow.** Aquaculture, 217: 207- 221 p.
- Schwartz, M.F. & Boyd, C.E. 1994. **Effluent quality during harvest of channel catfish from watershed ponds.** Progressive Fish Culturist, 56: 25-32 p.
- Schwartz, M.F. & Boyd, C.E. 1995. **Constructed wetlands for treatment of channel catfish pond effluents.** Progressive Fish Culturist, 57: 255-267 p.
- SMA.Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 2000. **Resolução SMA- 3, de 22/02/2000.** Publicada no Diário Oficial do Estado em 25/02/2000, 24 p.
- USEPA- United States Environmental Protection Agency. 2000. **Manual for Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters.** EPA. Cincinnati, 166 p.

CAPÍTULO 1

ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA EM UM SISTEMA DE RANICULTURA

Natália Palermo Pereira Caruso^{1*}, Julio Vicente Lombardi², Luciana Miashiro¹, Cacilda Thais Janson Mercante²

¹ Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca – Instituto de Pesca – APTA – SAA – SP. Av. Francisco Matarazzo, 455, 05001-900 – São Paulo - SP

² Pesquisador Científico – Instituto de Pesca – APTA – SAA – SP. Av. Francisco Matarazzo, 455, 05001-900 – São Paulo - SP

* Endereço para correspondência: Rua Engenheiro Reynaldo Cajado, 73. São Paulo, SP. CEP 03061-030, e-mail: nataliacaruso@uol.com.br

Resumo

O notável crescimento das atividades de aquicultura, nas últimas décadas, tem despertado uma proporcional preocupação com a questão ambiental, pois a criação de organismos aquáticos em sistemas confinados pode representar uma considerável fonte de poluição orgânica, gerada pelo lançamento de seus efluentes diretamente no ambiente natural. O monitoramento da qualidade da água nestes sistemas pode seguir metodologias bastante distintas. Atualmente, a resolução CONAMA nº 357 de 2005 propõe a utilização de ensaios ecotoxicológicos para o controle da qualidade de efluentes lançados nos corpos hídricos naturais. O objetivo do presente trabalho foi realizar ensaios ecotoxicológicos em amostras de água provenientes da atividade de ranicultura, utilizando o cladócero *Ceriodaphnia dubia* e a microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismos-teste. As amostragens foram realizadas em seis coletas mensais, a fim de contemplar todas as etapas zootécnicas (desde girinagem até a recria), em um empreendimento de criação comercial da rã touro *Lithobates catesbeianus*. Os locais de amostragem foram distribuídos para avaliar todo o fluxo hídrico: desde o abastecimento do sistema (afluente), passando pelos viveiros de criação, pelo efluente e o seu lançamento no corpo receptor. Todos os locais de amostragem manifestaram resultados de toxicidade (aguda ou crônica) Para *C. dubia*. Avaliaram-se o efluente bruto e suas diluições conforme as orientações descritas pela NBR 13373 e NBR 12648 ABNT, 2005. Verificou-se que o empreendimento em estudo gerou um efluente com altos níveis de nutrientes e, conseqüentemente, sua capacidade de eutrofização do meio ficou demonstrada, especialmente nas análises realizadas com o organismo-teste *Pseudokirchneriella subcapitata*, que comprovaram os riscos ecotoxicológicos do lançamento do efluente diretamente no corpo hídrico receptor.

Abstract

The remarkable growth in aquaculture activities in the last decades has given rise to a proportional preoccupation with environmental issues, mainly because the culture of aquatic organisms in confined systems can represent a considerable source of organic pollution through the disposal of its residues directly into the environment. The process of monitoring the quality of the water in these systems, may follow very distinct methodologies. Currently, CONAMA 357/2005 resolution proposes the use of ecotoxicological tests to control the quality of the effluent disposed at natural receiving waters. The objective of this study was to carry out ecotoxicological tests in water samples collected from a frogculture activity, using the cladoceros *Ceriodaphnia dubia* and the green microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* as test- organisms. The samples were taken during six monthly collection, in order to contemplate all zootechnical steps (from tadpole raising to growout) of a commercial bullfrog farming (*Lithobates catesbeianus*). The sampling sites were distributed in order to evaluate the whole water flow, from the supplying of the system through the frog tanks, its effluent and its release into the natural receiving water. The raw effluent and its dilution were evaluated according to NBR 13373 and NBR 12648 ABNT, 2005. All sampling sites showed results of toxicity, acute or chronic to *C dubia*. It was verified that the studied bullfrog farm produced effluent with high levels of nutrients and, consequently, its capacity of eutrophization was demonstrated, specially in the analysis carried out with the test-organism *Pseudokirchneriella subcapitata*, which detected the existence of ecotoxicological risks in releasing of effluents directly into the natural receiving water.

Introdução

A aquicultura é uma atividade que, supostamente, deveria demonstrar maior preocupação com a preservação da qualidade do ecossistema aquático, pois depende inteiramente desta para o seu sucesso. Nas últimas décadas, a aquicultura obteve um grande desenvolvimento tecnológico, que resultou em um considerável incremento da capacidade produtiva de pescados em geral. Todavia, esta atividade ainda continua apresentando riscos de deteriorar a qualidade da água, contribuindo com o declínio das sustentabilidades ambiental, social e econômica. As abordagens concernentes aos parâmetros de qualidade de água na aquicultura encontram-se contempladas em diversas obras literárias, dentre as quais se destacam Boyd (1990), Brune & Tomasso (1991) e Boyd & Tucker (1998), cujas tendências passaram a incluir, além dos cuidados com a seleção de água de boa qualidade para abastecimento de viveiros, também a preocupação com a carga de poluentes dos efluentes gerados nesta atividade.

Os efluentes líquidos produzidos pela aquicultura e a sua forma de lançamento nos corpos d'água têm sido questionados pela sociedade, como potencial aporte de poluição, que coloca em risco as comunidades aquáticas naturais. Valenti (2002) lança uma dúvida sobre a possibilidade da aquicultura gerar produção, sem provocar alterações ambientais. De acordo com este autor, o impacto ambiental faz parte do processo produtivo e pode ser reduzido a um mínimo indispensável, de modo que não haja redução da biodiversidade, esgotamento ou comprometimento negativo de qualquer recurso natural ou alterações significativas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas.

Segundo Tiago *et al.* (2002), os efluentes de aquicultura ainda representam um grande volume de água com baixos teores de nutrientes, quando comparados aos efluentes de origem doméstica. No entanto, o seu lançamento direto e contínuo no ambiente pode resultar em uma bioacumulação crônica de poluentes e gerar ainda a eutrofização do meio, com consequências ecológicas negativas sobre o ecossistema aquático.

A aquicultura mundial, em 2006, produziu aproximadamente 51,7 milhões de toneladas, movimentando mais de US\$ 78,8 bilhões. Isto significa que a aquicultura continua crescendo mais rapidamente que qualquer outro tipo de produção animal (FAO, 2008).

Dentre as atividades de destaque na aquicultura continental destaca-se a ranicultura, que vem crescendo de forma acelerada na última década. De acordo com estatísticas da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 2002), a produção média da carne de rã, durante o período de 1989-2001, situou-se em torno de 5.500 toneladas anuais. O crescimento da produção do período foi de 13%, enquanto no Brasil o crescimento superou 2600%, demonstrando o crescimento da sua participação na produção mundial. Em 2001, a produção mundial da carne de rã foi de 6.515 toneladas, sendo a maioria (73%) proveniente do continente asiático.

O Brasil é pioneiro na tecnologia de criação de rãs e praticamente toda a produção brasileira está alicerçada na espécie *Lithobates catesbeianus* (Frost et al., 2006), popularmente conhecida como rã-touro. A carga orgânica gerada pelos efluentes da ranicultura, na maioria das vezes, supostamente não deveriam comprometer a sustentabilidade ecológica do empreendimento, porque não demandam, comparativamente com outras criações de organismos aquáticos, grandes quantidades de água. Entretanto, as alterações da qualidade da água de uso advêm, principalmente, do acúmulo de alimentos e excretas, além de restos de troca de pele, que são transportados na lavagem das baias e tanques de criação. Embora a demanda pela água seja variável, a concentração de matéria orgânica é relativamente alta nas operações de ranicultura. Assim, os efluentes gerados nesta atividade também merecem especial atenção nos estudos de impacto ambiental.

A recente resolução CONAMA de nº 357, de 17 de março de 2005, atualiza a antiga resolução nº 20 de 1986 e estipula que as águas da União (doces, salobras e salinas) devem seguir uma exigência de níveis de qualidade e padrões específicos para garantir seus usos preponderantes em cada classe e estabelece, além dos parâmetros físicos e químicos, a necessidade da realização de testes ecotoxicológicos em efluentes líquidos para a verificação dos possíveis efeitos tóxicos (agudo ou crônico) a organismos aquáticos.

A Ecotoxicologia é a ciência que vem sendo bastante utilizada como excelente ferramenta que possibilita analisar a qualidade dos efluentes líquidos (industriais, domésticos e agrícolas) lançados nos recursos hídricos naturais, com o intuito alertar para os possíveis impactos e riscos à saúde do homem e do meio ambiente (Lombardi, 2004). A realização de ensaios ecotoxicológicos considera, basicamente, a exposição de alguns tipos

de organismos-teste às amostras de água, por um período de tempo padronizado para cada tipo de avaliação. De acordo com este mesmo autor, o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* é o tipo de organismo geralmente utilizado em avaliações que permitem as duas leituras de resultado no mesmo ensaio (toxicidade aguda e crônica).

A microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* tem sido frequentemente utilizada como organismo-teste em efluentes industriais e agrícolas, como no estudo de Rodicková-Padrtoová e Marsálek (1999) que compararam a sensibilidade de sete espécies de microalgas em testes de toxicidade com metais pesados e pesticidas e verificaram que a *P. subcapitata* foi, de maneira geral, a mais sensível.

O presente estudo teve como objetivo realizar ensaios ecotoxicológicos em amostras de água provenientes de um empreendimento comercial de ranicultura, utilizando-se os organismos-teste *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneriella subcapitata*, a fim de avaliar os possíveis riscos de impacto ambiental no ecossistema aquático.

Material e Métodos

Local de Amostragem

As amostragens foram realizadas em um empreendimento comercial, que está localizado no Município de Tremembé-SP, que desenvolve a atividade de ranicultura desde 1997. Para que os dados refletissem a realidade da atividade, este empreendimento foi selecionado aleatoriamente, sem qualquer interferência do presente estudo na concepção de alocação do mesmo, bem como nas operações corriqueiras de manejo geral ou nas decisões dos empreendedores.

Dados de caracterização da produção de rãs foram levantados durante o período amostral, revelando as seguintes informações: produtividade média= 3,4 kg de carne de rã/m² e conversão alimentar aparente= 5,31:1.

As amostras de água foram coletadas em seis campanhas mensais, durante o período de outubro de 2006 a março de 2007, compreendendo todo o ciclo zootécnico de produção da rã-touro (girinagem, pré-engorda e engorda).

Os locais de amostragem compreenderam as seguintes disposições (Figura 1):

Estação 1: Afluente (fonte de abastecimento do viveiro);

Estação 2: Baía de criação (piscina dentro do viveiro);

Estação 3: Efluente (sistema de saída de água da baía);

Estação 4: Zona de mistura (local de lançamento do efluente no corpo hídrico receptor);
Estação 5: À montante (16 m) do ponto de mistura (selecionado pela situação logística);
Estação 6: À jusante (24 m) do ponto de mistura (selecionado pela situação logística).

Todas as estações de coleta eram constituídas por localização fixa, à exceção da estação 2, que , para cobrir o ciclo total do manejo de criação, teve as amostragens concentradas na estrutura de baia, durante os meses 1 a 5, seguidas de uma única amostragem no viveiro de girinagem (mês 6).

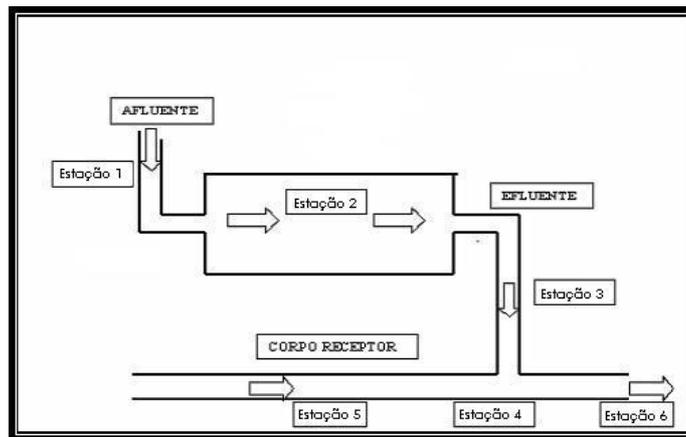


Figura 1: Representação das estações de amostragem da ranicultura em Tremembé,(SP).

Para as análises das variáveis físicas e químicas da água, os valores de oxigênio dissolvido (mg/L), potencial hidrogeniônico (pH), temperatura (°C) e turbidez (NTU) foram determinados através da sonda de multiparâmetros marca Horiba® U-22. No mesmo momento da medição dos parâmetros com a sonda, amostras de água foram coletadas na sub-superfície da coluna d' água e encaminhadas ao Laboratório do Instituto de Pesca, em São Paulo-SP, para as seguintes determinações: clorofila *a* (µg/L) ; fósforo total (mg/L), nitrogênio total (mg/L), amônia total (mg/L), nitrito e nitrato (mg/L) e dureza total de acordo com a metodologia padronizada em APHA *et al.* (2005). Para o cálculo de amônia não ionizada utilizou-se a metodologia descrita por Bower & Bidwell (1978).

O cálculo do índice de estado trófico (IET) foi feito conforme as recomendações apresentadas em Toledo *et al.* (1983), em que se aplicou o índice de Carlson, ajustado para ambientes tropicais, utilizando-se como variável os valores de fósforo total em µg/L (IET

(PT)), sendo que valores de IET abaixo de 44, entre 44 e 54 e acima de 54 caracterizam o ambiente, respectivamente, como oligotrófico, mesotrófico e eutrófico.

Ensaio com *Ceriodaphnia dubia*

A água utilizada no cultivo do organismo *C. dubia* e nas diluições das amostras nos ensaios foi coletada, mensalmente, no Ribeirão do Pirai (Salto - SP), cuja qualidade e indicação para sua utilização foram atestadas por Buratini-Mendes (2002). Uma vez coletada, a água de cultivo passava por uma correção dos valores de dureza e pH, conforme indicações registradas em APHA *et al.* (2005) e ABNT (2005), a fim de estabelecer os parâmetros adequados para a manutenção do organismo-teste em questão.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Instituto de Pesca – SP. A manutenção de todos os ensaios foi feita dentro de incubadoras, permitindo o controle das seguintes condições ambientais: temperatura em $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, intensidade luminosa entre 500 a 1000 lux e fotoperíodo de 16 horas claro/ 8 horas escuro.

Seguindo a metodologia recomendada por Aragão & Pereira (2003), a idade inicial dos organismos-teste variou de 6 a 30 horas. Estes, então, foram acondicionados individualmente em recipientes de 15 ml da amostra-teste, totalizando 10 réplicas por amostra.

As amostras-teste eram constituídas das alíquotas de 15ml de cada estação de coleta. A estação 3 (efluente) foi ainda analisada em cinco concentrações distintas: 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, e 100%, em água de cultivo, de acordo com as recomendações da NBR 13373 (ABNT, 2005).

Cada ensaio teve a duração de 7 dias, sendo que a troca total de água ocorria, diariamente, a partir de 48 horas decorridas de seu início. A cada troca de água era monitorado o pH, oxigênio dissolvido e condutividade da amostra a ser descartada, que sempre se manteve nos limites recomendados para o organismo-teste. Como alimento utilizou-se ração fermentada e suspensão de microalgas (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

Como critério de leitura de resultados, os dados numéricos relacionados à sobrevivência e à reprodução dos organismos, serviram para as avaliações dos efeitos de toxicidade aguda e crônica, respectivamente, conforme NBR 13373 (ABNT, 2005). Os ensaios foram validados quando o grupo controle (água de cultivo sem adição de amostra) apresentou taxa de sobrevivência igual ou superior a 80%, além da observação da média mínima reprodutiva de 12 neonatos por organismo genitor, seguindo recomendações de McNulty *et al.* (1999) e ABNT (2005).

As análises estatísticas seguiram o protocolo recomendado pela USEPA (2002). Desta forma, aplicou-se a prova exata de “Fisher” para a constatação de efeito tóxico agudo, que era confirmada sempre que os dados de mortalidade das amostras fossem estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos valores registrados para o grupo controle. A constatação de efeito tóxico crônico foi confirmada, através do teste de Dunnet, sempre que a quantificação reprodutiva registrada nas amostras “número de neonatos” fosse significativamente inferior ($p < 0,05$) aos mesmos dados apurados no grupo controle. Todas estas análises foram realizadas através do pacote estatístico Toxstat 3.3 (Gulley *et al.* 1991), que permitiu, inclusive, a confirmação dos aspectos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias, antes da aplicação dos testes estatísticos.

Ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Os ensaios com a microalga *P. subcapitata* foram realizados concomitantemente aos testes com *C. dubia*, no mesmo Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Instituto de Pesca – SP. O método de ensaio foi o sistema estático, em que a amostra não era renovada e os organismos-teste permaneciam expostos à mesma solução durante todo o ensaio (KNIE e LOPES, 2004). A duração do ensaio foi de 72 horas, realizado em incubadora sob constante agitação a 175 rpm, iluminação de aproximadamente 4.500 lux e temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$.

Seguindo a metodologia descrita na NBR 12548 (ABNT 2005), três dias antes de cada bateria de ensaios, um pré-cultivo foi montado, a fim de que as células, que seriam

expostas às amostras, estivessem em fase exponencial de crescimento. No dia do início dos ensaios, o inóculo foi preparado pela centrifugação de 100 mL do pré-cultivo, a 1500 rpm, durante 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido em 100 mL de meio de cultivo (L.C. Oligo). A densidade de células da suspensão resultante foi determinada através de contagem em câmara de “Neubauer”.

O inóculo utilizado era preparado de maneira que sempre contivesse 1×10^5 células em um volume entre 0,1 e 1 mL. O volume final da solução-teste era de 50 mL e as análises aconteceram em triplicata.

Para as estações 1 (afluente), 2 (baía), 4 (zona de mistura), 5 (a montante do ponto de mistura) e 6 (a jusante do ponto de mistura), as soluções-teste foram preparadas adicionando-se o inóculo (1×10^5 células) à 50 mL de amostra bruta. Para a estação 3 (efluente), o inóculo foi adicionado às diluições da amostra para atingir as seguintes concentrações da mesma: 3,1 %, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% e 100%. Ao final do período teste (72 horas), a densidade celular de cada réplica foi determinada através da contagem em câmara de “Neubauer”.

A validação do ensaio foi feita de acordo com as recomendações da NBR 12548 (ABNT 2005), em que era considerado válido o ensaio que, após as 72 horas de exposição, obtivesse biomassa algácea média do controle (somente o meio de cultivo L.C.Oligo), 16 vezes maior que a biomassa inicial e apresentasse o coeficiente de variação da biomassa algácea, entre as repetições do controle, menor ou igual a 20%. O Teste de “Tukey” foi aplicado para a análise dos resultados dos ensaios. Para tanto, utilizou-se o pacote estatístico Toxstat 3.3 (Gulley *et. al* 1991) , que permitiu, inclusive, a confirmação dos aspectos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias, antes da aplicação dos testes estatísticos.

Avaliação de enquadramento aos limites de lançamento de efluente

A Resolução SMA-3 (2000) atende ao disposto na Lei nº 997, de 31 de março de 1976, que institui o Sistema de Prevenção e Controle da Poluição do Meio Ambiente e ressalta a necessidade de implementar o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo. Este controle é feito a partir das considerações das eventuais interações entre o efluente e o corpo receptor. Nesta consideração o efluente não deverá possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos, de acordo com as relações que fixam os níveis permissíveis de suas diluições no corpo hídrico receptor, conforme indica a seguinte expressão:

$$D.E.R \leq \frac{CENO}{10} \quad \text{onde: } D.E.R = \frac{\text{Vazão Média do Efluente}}{\text{Vazão Média do Efluente} + Q_{7,10} \text{ do corpo receptor}} \cdot 100$$

D.E.R= Diluição do Efluente no Corpo Receptor

CENO= Concentração do efluente que não causa efeito observável, em % .

$Q_{7,10}$ do corpo receptor = média de sete vazões mínimas observadas durante o período de 10 anos (Vazão Crítica). OBS: A vazão crítica utilizada no presente estudo foi a menor vazão do corpo receptor observada durante o período amostral.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises das variáveis físicas e químicas, apresentados por estações de amostragem, referentes aos seis meses de coleta, encontram-se registrados na TABELA 1, juntamente com os padrões de referência sugeridos pela resolução CONAMA nº 357 de 2005 para as águas doces de classe 2, ou seja, águas destinadas à aquicultura e pesca. Foram observados valores divergentes ao recomendado pelo CONAMA nas seguintes variáveis: fósforo total, nitrogênio total, amônia total e turbidez em várias estações amostrais. Vale destacar a ocorrência do incremento desses nutrientes nas estações, sob interferência direta do manejo de criação dos organismos.

Tabela 1: Valores médios e desvio-padrão das variáveis limnológicas nas estações de amostragem de rancultura em Tremembé, SP e valores recomendados pela resolução CONAMA 357 (Brasil, 2005) para as águas doces de classe 2.

	Est 1	Est 2	Est 3	Est 4	Est 5	Est 6	CONAMA Res. 357
T (°C)	23,8 ± 1,33	24,11 ± 1,52	24,22 ± 1,67	24,32 ± 1,39	24,50 ± 1,48	24,45 ± 1,54	**
pH	6,40 ± 0,19	6,50 ± 0,17	6,43 ± 0,18	6,19 ± 0,49	6,40 ± 0,19	6,53 ± 0,49	Varição entre 6 e 9
Dureza (mg/L)	8,04 ± 2,20	27,96 ± 18,07	26,14 ± 11,09	15,26 ± 9,40	15,59 ± 12,69	18,99 ± 15,42	**
Clorofila a (µg/L)	0,90 ± 1,14	6,07 ± 3,34	3,30 ± 3,77	2,72 ± 4,10	2,50 ± 2,74	1,80 ± 1,38	Valor Max. 10,00
P total (mg/L)	0,03 ± 0,036	1,78 ± 1,45	2,23 ± 1,97	0,24 ± 0,18	1,22 ± 0,03	0,24 ± 0,14	Valor Max. 0,05
N total (mg/L)	0,33 ± 0,26	1,73 ± 1,69	2,4 ± 2,68	0,36 ± 204,73	0,52 ± 0,53	1,29 ± 1,92	Valor Max. 1,27
Amônia total (mg/L)	0,44 ± 0,09	3,68 ± 3,93	4,38 ± 3,78	1,38 ± 0,89	1,10 ± 0,75	1,43 ± 0,87	Varição entre 0,5 e 3,7 *
Nitrito (mg/L)	0,004 ± 0,0017	0,005 ± 0,049	0,07 ± 0,084	0,011 ± 0,004	0,006 ± 0,003	0,013 ± 0,007	Valor Max. 1,00
Nitrato (mg/L)	0,13 ± 0,13	0,81 ± 0,68	1,06 ± 0,99	0,30 ± 0,19	0,20 ± 0,16	0,23 ± 0,21	Valor Max. 10,00
STD (mg/L)	25,06 ± 21,7	49,40 ± 27,66	31,67 ± 11,61	36,23 ± 22,93	41,54 ± 39,78	50,06 ± 43,37	Valor Max. 500,00
Turbidez (UNT)	29,7 ± 39,5	157,1 ± 172,5	139 ± 174,4	118,4 ± 186,6	173,2 ± 333	82,2 ± 102	Valor Max. 100
OD (mg/L)	7,16 ± 1,53	6,18 ± 2,11	6,87 ± 2,07	7,11 ± 1,38	7,52 ± 0,83	8,23 ± 0,70	Valor Mín. 6,00
							USEPA
Amônia não ionizada	0,0007 ± 0,0004	0,0054 ± 0,0057	0,010 ± 0,009	0,002 ± 0,0026	0,0016 ± 0,0014	0,0057 ± 0,0084	0,53 a 1,2 mg/L ⁻¹

T= temperatura, Ptotal= Fósforo total, Ntotal= Nitrogênio total, TDS= Sólidos Totais Dissolvidos, OD= Oxigênio dissolvido, *- limite máximo de 3,7 mg/L (pH ≤ 7,5), 2,0 mg/L (7,5 < pH ≤ 8,0), 1,0 mg/L (8,0 < pH ≤ 8,5) e 0,5 mg/L (pH > 8,5), **= Valores não disponíveis na resolução do CONAMA (Brasil, 2005).

Foi observada melhora desses teores após o ponto de mistura, sendo mantida a inconformidade com a resolução CONAMA nº 357 (Brasil, 2005) até a última estação analisada (estação 6 : à jusante do ponto de mistura). Exceção feita à variável amônia total que sofreu uma diluição a partir da estação 4 (ponto de mistura), retornando aos limites aceitáveis por tal resolução.

Os elevados níveis das variáveis relacionadas aos nutrientes (Nitrogênio e Fósforo) provavelmente foram condicionados pela alta deposição de restos metabólicos dos organismos (excretas) e por possíveis sobras de alimento (ração).

Na tentativa de averiguar correlações com outros estudos semelhantes a este, verificou-se que Sipaúba-Tavares *et. al* (2008) observaram valores médios de pH entre 4,9 e 6,6, abaixo dos valores encontrados no presente estudo. Em contraste, Hayashi (2004) registrou valores entre 7,9 e 9,2, que foi um valor médio bem mais elevado.

Em relação aos compostos nitrogenados, Sipaúba-Tavares *et. al* (2008) analisaram a água de cultivo de girinos, na qual foram encontrados valores acima daqueles mencionados no presente estudo para amônia e nitrito, o que corrobora com o que foi observado por Flores-Nava e Gasca-Leyva (1997), que verificaram altos níveis de amônia e fósforo, atingindo concentrações acima de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ na água, devido à deposição de fezes de girinos. USEPA (1986) reporta que a amônia não ionizada causa toxicidade aguda para invertebrados aquáticos entre $0,53$ a $22,8 \text{ mgL}^{-1}$ e efeitos crônicos são reportados em concentrações entre $0,304$ a $1,2 \text{ mgL}^{-1}$ para Daphnídeos. Os valores de amônia não ionizada encontrados neste presente estudo, estiveram sempre dentro dos limites de sensibilidade para o organismo-teste (tabela1).

Os Índices de Estado Trófico (IET) de cada estação de amostragem podem ser visualizados na TABELA 2. A estação 1 apresentou nível mesotrófico (IET=44). Supõe-se que, como consequência do manejo, as estações 2 e 3 apresentaram elevação do IET para 99 e 101, respectivamente, passando para a classificação de eutróficos. Suspeitava-se que este quadro de eutrofia fosse modificado a partir da diluição do efluente no corpo hídrico receptor. No entanto, o resultado do IET= 71, na estação 4, demonstrou que esta modificação não ocorreu.

Tabela 2. Valores médios do Índice de Estado Trófico (IET) segundo Toledo *et al.* (1983) das estações amostradas durante um período produtivo de rã- touro em Tremembé, SP.

Estações Amostrais	1	2	3	4	5	6
IET	44	99	101	71	65	72
Nível Trófico	mesotrófico	eutrófico	eutrófico	eutrófico	eutrófico	eutrófico

Em linhas gerais, vale observar que o corpo hídrico receptor (estação 5) já demonstrava características de eutrofia e, portanto, não sofreu alterações desta classificação após o despejo do efluente da ranicultura (estações 4 e 6). Por outro lado, nota-se que, ao longo da passagem pelo sistema, a água sofre incremento de nutrientes, o bastante para transformar a classificação mesotrófica (estação 1) para eutrófica (estações 2, 3 e 4).

Com relação às análises ecotoxicológicas realizadas com o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* (FIGURA 2), verificou-se que, nas estações de 1 a 4, houve constatação de toxicidade predominantemente aguda em todas as amostras. As estações 5 (montante) e 6 (jusante) do corpo hídrico receptor apresentaram, em todas coletas, toxicidade crônica e aguda na mesma proporção.

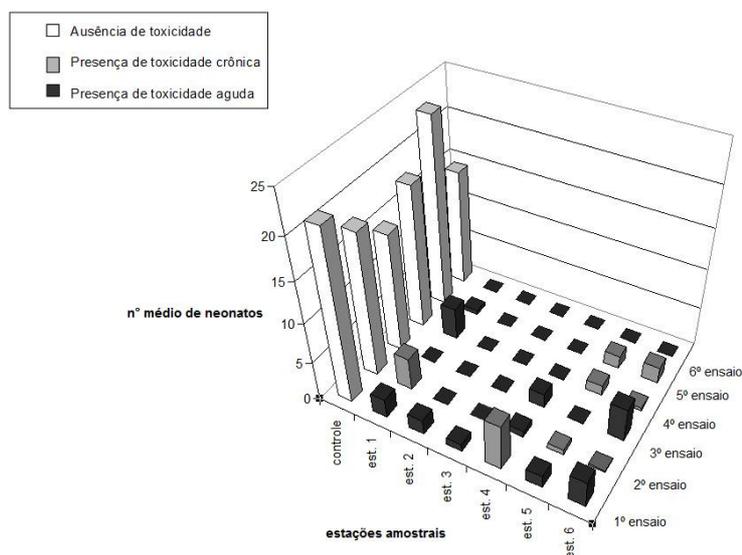


Figura 2. Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das estações amostrais de ranicultura, Tremembé, SP.

Dentro da baía (estação 2), a água sofre mais incremento de nutrientes (fósforo total, nitrogênio total, nitrito e amônia) devido a introdução de ração e a produção de excretas e fezes das rãs. Este aspecto pode ter interferido de forma negativa na sobrevivência e reprodução dos organismos-teste.

Comparando os resultados obtidos no corpo hídrico receptor à montante (estação 5) e à jusante do lançamento do efluente (estação 6), verificou-se que não houve transformação neste parâmetro. Isso significa dizer que o lançamento do efluente não interferiu de forma ecotoxicologicamente negativa no corpo receptor. Todavia, essa afirmação é válida para esse organismo-teste e essa situação de estudo. Corroborando com os resultados obtidos por Moreira (2007) e Bazante-Yamaguishi (2007), que, ao analisarem o potencial ecotoxicológico de efluentes aquícolas (carcinicultura e piscicultura, respectivamente) no corpo receptor, também não encontraram incremento da ecotoxicidade nos ensaios desenvolvidos com *C. dubia*, após o lançamento dos efluentes nos corpos hídricos naturais.

Os resultados dos ensaios desenvolvidos com amostras diluídas do efluente estão apresentados na FIGURA 3. Considerando-se uma média de todas coletas, as análises estatísticas, revelaram diferenças significativas entre o grupo controle e as diluições em vários momentos, exceto em quatro ocasiões: no segundo ensaio, na concentração de 12,5%; no terceiro ensaio, nas concentrações de 6,2 e 12,5%; e no quarto ensaio, a 6,2%. Portanto, os valores de CEO e CENO não foram estimados devido às inconstâncias encontradas entre os momentos amostrais. Notou-se que somente uma concentração do efluente (100%) demonstrou maior constância qualitativa nos resultados, manifestando toxicidade aguda em 5 dos 6 momentos amostrados. Tais resultados qualitativos diferem dos relatados por Moreira (2007) que encontrou predominância de toxicidade crônica nos ensaios desenvolvidos a partir da diluição do efluente de carcinicultura. Por outro lado, os dados do presente estudo corroboram aqueles encontrados por Bazante-Yamaguishi (2007), que também observou predominância de toxicidade aguda nos ensaios desenvolvidos a partir do efluente de piscicultura.

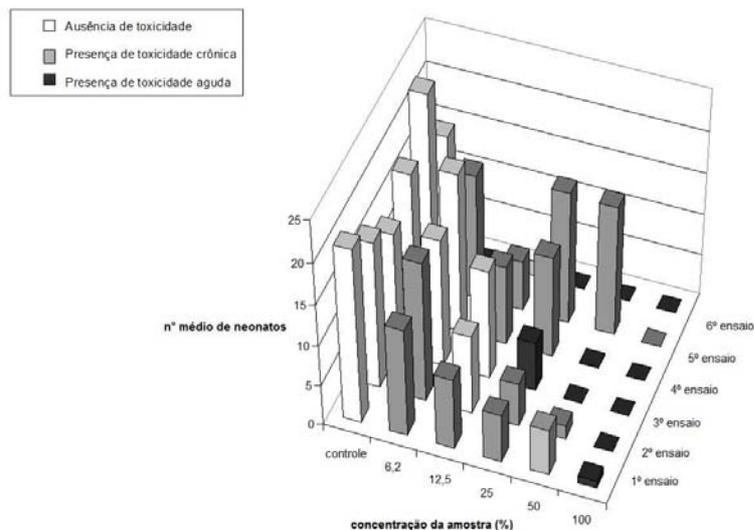


Figura 3. Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente de ranicultura, Tremembé, SP.

Quanto às análises ecotoxicológicas realizadas com a microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* nas mesmas estações de amostragem (FIGURA 4), foi observada uma resposta contrária quando comparada à reposta obtida nos ensaios com o cladóceros *C. dubia*. Os resultados demonstram que houve um estímulo no crescimento das colônias desta microalga. Este aspecto pode estar relacionado diretamente à capacidade de incremento de nutrientes, como principal característica de transformação da qualidade da água observada no sistema de ranicultura. O período amostrado, que manifestou maior evidência deste aspecto, foi o 6º ensaio. Neste período, as amostragens concentravam-se no tanque de girinagem, que apresentou o maior teor de compostos nitrogenados e, como consequência, deve ter estimulado um maior crescimento algáceo.

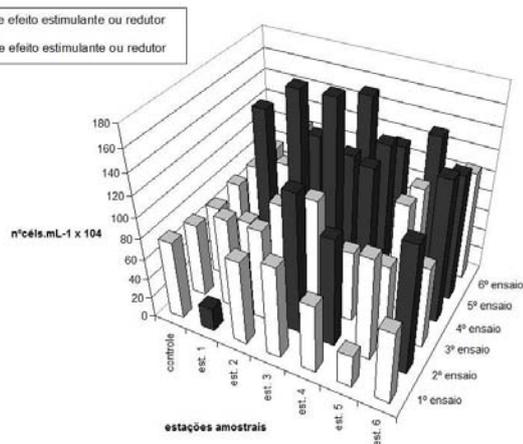


Figura 4. Média do crescimento algáceo nos ensaios ecotoxicológicos (célis.mL⁻¹ x 10⁴) com amostras dos locais de coletas de ranicultura, Tremembé, SP.

Como pode ser observado na FIGURA 4, a estação 1 (afluente) apresentou respostas distintas em dois momentos analisados: no primeiro, houve inibição do crescimento algáceo; enquanto que, no segundo, ocorreu o contrário. Este fenômeno leva à suposição de que a qualidade da água de abastecimento, durante o período de estudo, já chegava ao empreendimento portando características tóxicas (1º ensaio), passando a manifestar características estimulantes, a partir do final do período amostral (ensaios 4,5 e 6). Em linhas gerais, notou-se que nos períodos de engorda e girinagem, as amostras obtidas dentro das baias estimularam o crescimento algáceo de maneira mais acentuada que na etapa de pré-engorda (1º e 2º ensaios) e, após o encontro com o corpo receptor, esta característica se manteve.

Os resultados dos ensaios com diluição do efluente (Figura 5) mostraram, pelo teste de Tukey, que cada etapa zootécnica apresentou um resultado ecotoxicológico distinto. Assim, determinou-se CEO e CENO para cada etapa. Para a etapa de girinagem (6º ensaio), foram determinados CEO de 12,5% e CENO de 6,2%. Durante o período de pré-engorda e engorda foram determinadas CEO de 50% e CENO de 25%. Este aspecto caracterizou a girinagem como a fase de maior potencial de eutrofização do corpo hídrico receptor mais tóxica do sistema de cultivo da rã-touro (*L. catesbeianus*). Tais dados assemelham-se aos encontrados por Miashiro (2008), que, ao avaliar o potencial ecotoxicológico do efluente de piscicultura, com a microalga verde *P.subcapitata*, verificou também o fenômeno

estimulante nas colônias algáceas e determinou CEO de 25% e CENO de 12,5%. Ou seja, no presente estudo pode-se inferir que o efluente da ranicultura possui efeito estimulante à comunidade fitoplanctônica (capacidade de eutrofização) e que, para uma maior margem de segurança, este efeito estende-se, até o momento, em que a pluma do efluente estiver naturalmente diluída a 6,2% de sua concentração no corpo hídrico receptor. A importância deste dado diz respeito à sua utilização nas medidas de avaliação de risco ecotoxicológico, assim como nas estimativas da extensão do possível impacto ambiental do lançamento de efluentes desta natureza.

O cálculo da D.E.R (Diluição do Efluente no corpo Receptor, em %) elaborado para esta circunstância revelou que o lançamento do efluente superou 144 vezes o limite permissível estabelecido pela Resolução SMA nº 3 (2000).

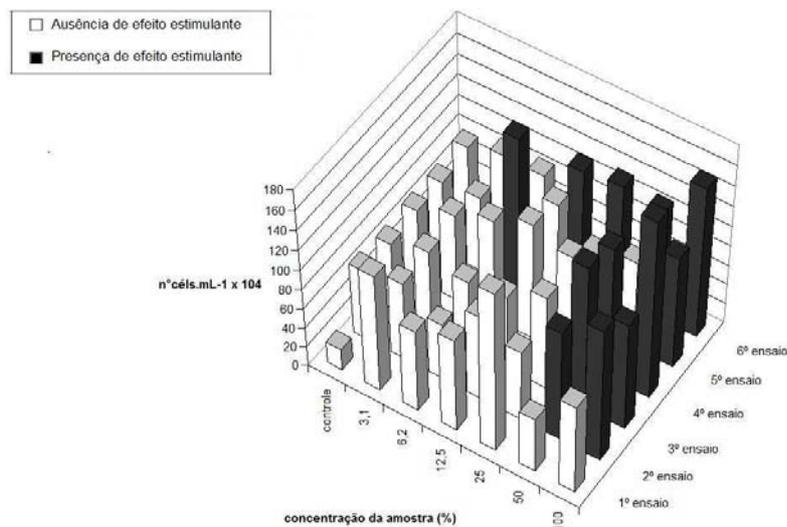


Figura 5- Média do crescimento algáceo nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) com diluição do efluente de ranicultura, Tremembé, SP.

O efeito estimulante observado neste trabalho pode estar relacionado aos altos níveis de nutrientes observados (TABELA 1), devido ao arraçoamento e a deposição de excretas. Assim, quando a microalga verde *P.subcapitata* foi exposta a essas amostras, houve, na maioria dos ensaios, o estímulo de crescimento algáceo.

Segundo Lin *et al* (2005) e Henry-Silva & Camargo (2006), os efluentes que contêm altas cargas de nutrientes podem ser tratados através de sistemas de fitodepuração,

pois algumas espécies de plantas aquáticas possuem alta capacidade de assimilação deste tipo de material dissolvido. Portanto, os resultados observados no presente estudo apontam a fitodepuração como uma técnica passível de ser utilizada para tratamento de efluente de ranicultura.

Conclusões

As ferramentas de análises ecotoxicológicas utilizadas neste estudo, especialmente os ensaios com o organismo-teste *P.subcapitata*, aliadas às análises químicas da água, demonstraram que o sistema de ranicultura estudado possui alta capacidade de gerar impacto ao ecossistema aquático, principalmente devido às características de enormes cargas de nutrientes em seu efluente, podendo levar a eutrofização do corpo hídrico receptor.

Agradecimentos

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro concedido ao projeto que deu origem a este artigo, através do Processo nº 05/05180-0.

Referências Bibliográficas

- ABNT, 2005, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 12548: ***Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)***. ABNT, Rio de Janeiro.
- ABNT, 2005, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 13.373: ***Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com Ceriodaphnia spp (Crustácea, Cladocera)***. ABNT, Rio de Janeiro.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation), 2005, ***Standard Methods for the examination of Water and Wastewater***. 21^a ed., Washington, D.C. 1085p.
- Aragão, M.A., Bertoletti, E., 2006, ***Avaliação da toxicidade de amostras de águas superficiais preservadas de diferentes formas: refrigeração e congelamento***. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, 1 (2): 153-156.
- Aragão, M.A., Pereira, E.V., 2003, ***Sensitivity of Ceriodaphnia dubia of different ages to sodium chloride***. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70: 1247-1250.

- Bazante- Yamaguishi, R. 2007. **Análise ecotoxicológica em viveiro de produção de tilápia (*Oreochromis niloticus*), utilizando o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* como organismo- teste.** Dissertação em aquicultura e pesca, Instituto de Pesca, São Paulo.
- Bower, C.E. and Bidwell, J.P. 1978. **Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity.** J.Fish.Res.Board Can., 35: 1012-1016
- Boyd, C.E., 1990, **Water Quality in Ponds for Aquaculture.** Alabama Agricultural Experiment Station, Alabama, US, 482p.
- Boyd, C.E. & Tucker, C.S., 1998, **Water Quality Management.** Kluwer Academic Publishers, Boston, 700p.
- Brasil, 2005, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial*, 17 mar 2005.
- Brune, D.E. & Tomasso, J.R., 1991, **Aquaculture and Water Quality, Advances in World Aquaculture.** Vol.3. World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Buratini – Mendes, S.V., 2002. **Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*.** Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 90p.
- CETESB, 2002, **Métodos de avaliação da toxicidade a organismos aquáticos.** São Paulo, 27p.
- CETESB, 1988, **Teste de toxicidade crônica, utilizando *Ceriodaphnia dubia*.** Richard, 1984 (*Cladocera, Crustacea*). L5. 022. Cia. de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo, Brasil, 25p.
- Constituição Federal e a Lei nº 6.938, de 31 de Agosto de 1981**
- FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION . 2002. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2001.** FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. Italy.162p
- FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION . 2009. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2008.** FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. Italy.146p

- Flores- Nava, A.; Gasca-Leyva, E. 1997. **Use of artificial grazing substrates in bullfrog tadpole culture.** *Aquaculture*, Amsterdam, v. 152, p.91- 1001.
- Frost D. R., Grant T., Faivovich J., Bain R. H., Haas A., Haddad C. F. B., Desa R., Channing A., Wilkinson M., Donnellan S. C., Raxworthy C. J., Campbell J. A., Blotto B. L., Moler P., Drewes R. C., Nussbaum R. A., Lynch J. D., Green D. M. & Wheeler W. C. 2006. **The Amphibian tree of Life.** *Bulletim American Museum of Natural History*. 297: 1-370.
- Gulley, D.D.; Boetter, A.M.; Bergman, H.L. Toxstat 3.3. 1991. **Computer Program.** University of Wyoming. Wyoming. USA.
- Hayashi, C., 2004. **Desenvolvimento de girinos de rã touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802) cultivados em diferentes densidades de estocagem em tanques-rede.** *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, v.33, n.1, p. 14- 20.
- Henry- Silva, G.G. & Camargo, A.F.M. 2006. **Efficiency of aquatic macrophytes to treat Nile tilapia pond effluents.** *Scientia Agricola*, v. 63. p. 433-438.
- Knie, J. L. W. & Lopes, E.W.B. 2004. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis, FATMA/GTZ
- Lin, Y.F; Jing, S.R.; Lee,D.Y.; Chang, Y.F.; Chen, Y.M. & Shih, K.C.. 2005. **Performace of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate.** *Environmental Pollution*, 134. p 37- 45.
- Lombardi, J.V., 2004, **Fundamentos de Toxicologia Aquática.** In: R. Paiva *et al.* (ed.), *Sanidade de organismos aquáticos*, p.263-272.
- Mercante,C.T.J. & Tucci-Moura, A., 1999. **Comparação entre os índices de Carlson e de Carlson modificado aplicados a dois ambientes aquáticos subtropicais.** São Paulo, SP. *Acta Limnol. Brasiliensia.*, 11(1):1-14.
- Miashiro, L. 2008. **Avaliação ambiental de um sistema de piscicultura, através da caracterização do fitoplâncton e de ensaios ecotoxicológicos realizados com a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*.** Dissertação em aquicultura e pesca, Instituto de Pesca, São Paulo.
- Moreira, L.E.B. 2007. **Análise ecotoxicológica em viveiro de carcinicultura de água doce, utilizando o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* como organismo-teste.** Dissertação em aquicultura e pesca, Instituto de Pesca, São Paulo.

- Mc Nulty, E.W., Dwyer, F.J., Ellersick, M.R., Greer, E.I., Ingersoll, C.G. & Rabeni, C.F., 1999. **Evaluation of ability of reference toxicity tests to identify stress in laboratory populations of the amphipod *Hyalella azteca***. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(3): 544-548.
- Nascimento, I.A., Sousa, E.C.P.M. & Nipper, M., 2002, **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações do Brasil**. São Paulo. Ed.Artes Gráficas e Indústria Ltda, 262 p.
- Rojicková- Pardrtová, R. e Marsálek, B. 1999. **Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing**. *Chemosphere*. 38: 3329- 3338 p.
- Sipaúba-Tavares, L.H.; Morais, J.C.L.; Stéfani, M.V.; 2008. **Comportamento alimentar e qualidade da água em tanques de criação de girinos de rã- touro *Lithobates catesbeianus***. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. Maringá, v.30, n.1, p. 95-101.
- SMA. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 2000. **Resolução SMA- 3, de 22/02/2000**. Publicada no Diário Oficial do Estado em 25/02/2000, 24 p.
- Tiago, G.G. & Giancesella, S.M.F., 2002, **Recursos hídricos para a aqüicultura: reflexões temáticas**. In: I Encontro da Associação Nacional de Pós-Graduandos e Pesquisadores em Ambiente e Sociedade, Indaiatuba, Resumos do I Encontro da Associação Nacional de Pós-graduandos e Pesquisadores em Ambiente e Sociedade. Campinas: ANPPAS., 20p.
- Toledo Jr., A. P., Talarico, M., Chinez, S. J. & Agudo, E. G., 1983. **A aplicação de modelos simplificados para a avaliação do processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais**. In: *Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária, 12º, Rio de Janeiro*. Anais, p. 1-34.
- USEPA, 1986. **Quality criteria for water 1986**. U. S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Washington, D.C. 477p.
- USEPA, 2002 **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms**. EPA-821-R-02-013, U.S. Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC., 4th Ed.

Valenti, W.C., 2002, **Aquicultura sustentável**. In: *Congresso de Zootecnia, 12º, Vila Real, Portugal, 2002*, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais, p.111-18.

CAPÍTULO 2

ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DA FITODEPURAÇÃO NO TRATAMENTO DE EFLUENTE DE RANICULTURA

N.P.P. Caruso. J.V.Lombardi. L. Miashiro

Instituto de Pesca/APTA/SAA SP. Avenida Francisco Matarazzo, 455. CEP: 05001-900.
São Paulo, SP. Brasil

Introdução

A aquicultura é uma atividade importante na produção de alimentos e mundialmente, em 2006, produziu aproximadamente 51,7 milhões de toneladas, movimentando mais de US\$ 78,8 bilhões. Isto significa que a aquicultura continua crescendo mais rapidamente que qualquer outro tipo de produção animal (FAO, 2009). Dentre as atividades da aquicultura destaca-se a ranicultura, que tem o Brasil como pioneiro na tecnologia de criação de rãs e praticamente toda a produção está alicerçada na espécie *Lithobates catesbeianus* (Frost et al. ,2006), popularmente conhecida como rã-touro. A ranicultura se destaca com um grande crescimento nas últimas décadas. Este crescimento proporciona benefícios econômicos e sociais, mas também tem despertado a preocupação de órgãos governamentais e pesquisadores quanto aos impactos ambientais que pode causar (Goldburg & Triplett,1997).

O efluente aquícola é especialmente enriquecido por nutrientes como nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e sólidos totais em suspensão, devido a sobras de ração e excretas dos organismos e, também, pode conter antibióticos ou outros produtos químicos utilizados no controle de doenças (Paez-Osuna,2001). No entanto, as características do efluente podem variar em função da espécie cultivada e da densidade dos organismos (Boyd, 2000).

O lançamento do efluente sem tratamento em ambientes aquáticos pode resultar em uma acumulação crônica de nutrientes, principalmente de fósforo e nitrogênio, levando ao processo de eutrofização (Redding, 1997). Este processo provoca mudanças nas condições físicas e químicas dos ambientes aquáticos; na estrutura das comunidades aquáticas; aumenta o nível de produção primária (Esteves, 1998) e pode trazer efeitos ao homem,

como o caso de floração de cianobactérias relatado por Calijuri *et al.*(2006) em que a produção e liberação de toxinas na água causaram um grande número de óbitos em humanos.

Para que os efluentes atinjam os padrões de qualidade previstos em lei, em algumas situações, é necessária a implementação de um tratamento do efluente, devido a sua alta concentração de nutrientes e sólidos totais em suspensão. Segundo Kivaisi (2001), Lin *et al* (2005) e Henry-Silva & Camargo (2006) , os efluentes com altas cargas de nutrientes, como os obtidos em empreendimentos aquícolas, podem ser tratados através de sistemas de fitodepuração com macrófitas, através da construção de wetlands, que naturalmente removem os poluentes do efluente. A ecotoxicologia tem sido utilizada como ferramenta no monitoramento da qualidade do efluente aquícola a ser lançado no corpo hídrico receptor, com o intuito de alertar a sociedade para os possíveis impactos gerados pelo empreendimento à saúde do homem e do meio ambiente (Lombardi, 2004). A realização de ensaios ecotoxicológicos considera, basicamente, a exposição de alguns tipos de organismos-teste às amostras de água, por um período de tempo padronizado para cada tipo de avaliação.

Este trabalho teve como objetivo avaliar ecotoxicologicamente a eficiência do tratamento do efluente de uma ranicultura através da fitodepuração.

Material e Métodos

Foram realizadas cinco amostragens mensais em um empreendimento comercial, que está localizado no Município de Tremembé-SP, que desenvolve a atividade de ranicultura desde 1997. Dados de caracterização da produção de rãs foram levantados durante o período amostral, revelando as seguintes informações: produtividade média= 3,4 kg de carne de rã/m² e conversão alimentar aparente= 5,31:1.

Os locais de amostragem compreenderam as seguintes disposições: Estação 1 (afluente do empreendimento); Estação 2 (calha de escoamento do efluente do empreendimento para a fitodepuração) e a Estação 3 (efluente que deságua no corpo receptor, após o tratamento da fitodepuração).

O tratamento de fitodepuração foi instalado por iniciativa do proprietário da ranicultura, que declarou tem projetado a estrutura de forma empírica, sem qualquer

orientação técnica ou científica. Assim, o aparato de fitodepuração consistiu em uma estrutura em forma de tanque de alvenaria (227m²) e 0,90m de profundidade, com fundo natural; Este tanque possuía entrada e saída em situações opostas, permitindo que a água permeasse pelas raízes das plantas aquáticas (*Eichornia crassipes*), conhecida popularmente como aguapé. A biomassa de plantas no sistema foi estimada em 2,77 kg/m² (peso úmido) e o tempo de residência do efluente no tanque foi de 92 horas.

Para as análises das variáveis físicas e químicas da água foi utilizada sonda multiparâmetros e análises laboratoriais. O cálculo do índice de estado trófico (IET) foi feito conforme as recomendações apresentadas em Toledo *et al.* (1983), em que se aplicou o índice de Carlson, ajustado para ambientes tropicais, utilizando-se como variável os valores de fósforo total em µg/L (IET (PT)), sendo que valores de IET abaixo de 44, entre 44 e 54 e acima de 54 caracterizam o ambiente, respectivamente, como oligotrófico, mesotrófico e eutrófico.

Ensaio com *Ceriodaphnia dubia*

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Instituto de Pesca – SP. A manutenção de todos os ensaios foi feita dentro de incubadoras, permitindo o controle das seguintes condições ambientais: temperatura em 25±1°C, intensidade luminosa entre 500 a 1000 lux e fotoperíodo de 16 horas claro/ 8 horas escuro.

Seguindo a metodologia recomendada por Aragão & Pereira (2003), a idade inicial dos organismos-teste variou de 6 a 30 horas. Estes, então, foram acondicionados individualmente em recipientes de 15 ml da amostra-teste, totalizando 10 réplicas por amostra, os ensaios desenvolvidos com as amostras das estações 1 e 2 foram analisadas sem diluições.

A estação 3 (efluente) foi ainda analisada em cinco concentrações distintas: 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, e 100%, em água de cultivo, de acordo com as recomendações da NBR 13373 (ABNT, 2005).

Cada ensaio teve a duração de 7 dias, sendo que a troca total de água ocorria, diariamente, a partir de 48 horas decorridas de seu início. A cada troca de água era monitorado o pH, oxigênio dissolvido e condutividade da amostra a ser descartada, que

sempre se manteve nos limites recomendados para o organismo-teste. Como alimento utilizou-se ração fermentada e suspensão de microalgas (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

Como critério de leitura de resultados, os dados numéricos relacionados à sobrevivência e à reprodução dos organismos, serviram para as avaliações dos efeitos de toxicidade aguda e crônica, respectivamente, conforme NBR 13373 (ABNT, 2005). Os ensaios foram validados quando o grupo controle (água de cultivo sem adição de amostra) apresentou taxa de sobrevivência igual ou superior a 80%, além da observação da média mínima reprodutiva de 12 neonatos por organismo genitor, seguindo recomendações de McNulty *et al.* (1999) e ABNT (2005). Concomitantemente aos ensaios com amostras, foram realizados os ensaios com substância de referência (NaCl) para que os lotes de organismos tivessem sua sensibilidade comprovada.

As análises estatísticas seguiram o protocolo recomendado pela USEPA (2002). Desta forma, aplicou-se a prova exata de “Fisher” para a constatação de efeito tóxico agudo, que era confirmada sempre que os dados de mortalidade das amostras fossem estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos valores registrados para o grupo controle. A constatação de efeito tóxico crônico foi confirmada, através do teste de Dunnett, sempre que a quantificação reprodutiva registrada nas amostras “número de neonatos” fosse significativamente inferior ($p < 0,05$) aos mesmos dados apurados no grupo controle. Todas estas análises foram realizadas através do pacote estatístico Toxstat 3.3 (Gulley *et al.* 1991), que permitiu, inclusive, a confirmação dos aspectos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias, antes da aplicação dos testes estatísticos.

Ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Os ensaios com a microalga *P. subcapitata* foram realizados concomitantemente aos testes com *C. dubia*, no mesmo Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Instituto de Pesca – SP. O método de ensaio foi o sistema estático, em que a amostra não era renovada e os organismos-teste permaneciam expostos à mesma solução durante todo o ensaio (KNIE e LOPES, 2004). A duração do ensaio foi de 72 horas, realizado em incubadora sob constante agitação a 175 rpm, iluminação de aproximadamente 4.500 lux e temperatura de 25 ± 1 °C.

Seguindo a metodologia descrita na NBR 12548 (ABNT 2005), três dias antes de cada bateria de ensaios, um pré-cultivo foi montado, a fim de que as células, que seriam expostas às amostras, estivessem em fase exponencial de crescimento. No dia do início dos ensaios, o inóculo (células algais que foram expostas às amostras) foi preparado pela centrifugação de 100 mL do pré-cultivo, a 1500 rpm, durante 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido em 100 mL de meio de cultivo (L.C. Oligo). A densidade de células da suspensão resultante foi determinada através de contagem em câmara de “Neubauer”.

O inóculo utilizado era preparado de maneira que sempre contivesse 1×10^5 células em um volume entre 0,1 e 1 mL. O volume final da solução-teste era de 50 mL e as análises aconteceram em triplicata.

Para as estações: 1 (afluente do empreendimento) e 2 (calha de escoamento do efluente para a fitodepuração), as soluções-teste foram preparadas adicionando-se o inóculo (1×10^5 células) à 50 mL de amostra bruta. Para a estação 3 (efluente após fitodepuração), o inóculo foi adicionado proporcionalmente às diluições da amostra para atingir as seguintes concentrações da mesma: 3,1 %, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% e 100%. Ao final do período teste (72 horas), a densidade celular de cada réplica foi determinada através da contagem em câmara de “Neubauer”.

A validação do ensaio foi feita de acordo com as recomendações da NBR 12548 (ABNT 2005), em que era considerado válido o ensaio que, após as 72 horas de exposição, obtivesse biomassa algácea média do controle (somente o meio de cultivo L.C.Oligo), 16 vezes maior que a biomassa inicial e apresentasse o coeficiente de variação da biomassa algácea, entre as repetições do controle, menor ou igual a 20%. O Teste de “Tukey” foi aplicado para a análise dos resultados dos ensaios. Para tanto, utilizou-se o pacote estatístico Toxstat 3.3 (Gulley *et. al* 1991), que permitiu, inclusive, a confirmação dos aspectos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias, antes da aplicação dos testes estatísticos.

Avaliação de enquadramento aos limites de lançamento de efluente

A Resolução SMA-3 (2000) atende ao disposto na Lei nº 997, de 31 de março de 1976, que institui o Sistema de Prevenção e Controle da Poluição do Meio Ambiente e ressalta a necessidade de implementar o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo. Este controle é feito partir das considerações das eventuais interações entre o efluente e o corpo receptor. Nesta consideração o efluente não deverá possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos, de acordo com as relações que fixam os níveis permissíveis de suas diluições no corpo hídrico receptor, conforme indica a seguinte expressão:

$$D.E.R \leq \frac{CENO}{10} \quad \text{onde: } D.E.R = \frac{\text{Vazão Média do Efluente} \cdot 100}{\text{Vazão Média do Efluente} + Q_{7,10} \text{ do corpo receptor}}$$

D.E.R= Diluição do Efluente no Corpo Receptor

CENO= Concentração do efluente que não causa efeito observável, em % .

$Q_{7,10}$ do corpo receptor = média de sete vazões mínimas observadas durante o período de 10 anos (Vazão Crítica). OBS: A vazão crítica utilizada no presente estudo foi a menor vazão do corpo receptor observada durante o período amostral.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises das variáveis físicas e químicas, para as estações de amostragem, referentes aos cinco meses de coleta, encontram-se registrados na Tabela 1, juntamente com os padrões de referência sugeridos pela resolução CONAMA nº 357 de 2005 para as águas doces de classe 2, ou seja, águas destinadas à aquicultura e pesca.

Tabela 1: Valores médios e desvio-padrão das variáveis limnológicas nas estações de amostragem de ranicultura em Tremembé, SP e valores recomendados pela resolução CONAMA 357 (Brasil, 2005) para as águas doces de classe 2.

	Estação 1	Estação 2	Estação 3	CONAMA Res. 357
T (°C)	23,7 ± 2,64	24,55 ± 2,56	23,36 ± 2,45	**
pH	6,69 ± 0,51	6,15 ± 0,33	5,84 ± 0,31	Varição entre 6 e 9
Dureza (mg/L)	8,81 ± 2,25	15,8 ± 1,97	22,41 ± 3,91	**
Clorofila a (µg/L)	1,74 ± 1,14	2,28 ± 3,77	1,64 ± 2,74	Valor Max. 10,00
P total (mg/L)	0,01 ± 0,002	0,539 ± 0,14	0,586 ± 0,11	Valor Max. 0,05
N total (mg/L)	0,09 ± 0,10	0,576 ± 0,35	0,453 ± 0,02	Valor Max. 1,27
Amônia total (mg/L)	0,37 ± 0,14	2,29 ± 0,52	3,44 ± 0,35	Varição entre 0,5 e 3,7 *
Nitrito (mg/L)	0,002 ± 0,001	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,005	Valor Max. 1,00
Nitrato (mg/L)	0,02 ± 0,03	0,35 ± 0,48	0,04 ± 0,05	Valor Max. 10,00
STD (mg/L)	25,06 ± 21,7	31,67 ± 11,61	41,54 ± 39,78	Valor Max. 500,00
Turbidez (UNT)	8 ± 14,84	115 ± 198,3	8,38 ± 4,5	Valor Max. 100
OD (mg/L)	7,47 ± 1,88	7,45 ± 1,19	5,38 ± 4,5	Valor Mín. 6,00
Amônia não ionizada	0,0015 ± 0,0023	0,017 ± 0,014	0,0012 ± 0,0011	0,53 a 1,2 mg/L ⁻¹

T= temperatura, Ptotal= Fósforo total, Ntotal= Nitrogênio total, TDS= Sólidos Totais Dissolvidos, OD= Oxigênio dissolvido, *- limite máximo de 3,7 mg/L (pH ≤ 7,5), 2,0 mg/L (7,5 < pH ≤ 8,0), 1,0 mg/L (8,0 < pH ≤ 8,5) e 0,5 mg/L (pH > 8,5), **= Valores não disponíveis na resolução do CONAMA (Brasil, 2005).

Foram observados valores divergentes ao recomendado pelo CONAMA para o pH, que se apresentou um pouco mais ácido do que o recomendado na estação 3, o que corrobora com os dados obtidos por Sipaúba-Tavares et al (2008) que também observaram uma média de pH ácido em efluente de ranicultura.

Para Fósforo total, foram observados valores acima do recomendado pelo CONAMA nas estações 2 e 3, o que indica que o manejo dos organismos gerou um incremento deste nutriente e que a fitodepuração, da forma como foi concebida, não foi eficiente na sua remoção.

A eficiência da fitodepuração no tratamento de efluentes aquícolas tem sido reportada em diversos trabalhos, como Schwartz & Boyd (1995) que utilizaram wetlands construídas no tratamento de efluente de viveiros de bagre; Redding *et al.* (1997) e Henry-Silva & Camargo (2006) avaliaram um sistema de fitodepuração com macrófitas aquáticas flutuantes para efluente de tilapicultura e constataram que as espécies *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* foram as mais eficientes na remoção de nitrogênio e fósforo total.

A ineficiência do sistema de fitodepuração, avaliado no presente estudo, na remoção de nutrientes, especialmente fósforo e nitrogênio, pode estar associada à forma empírica utilizada na projeção do sistema, principalmente no tocante ao dimensionamento do tanque de depuração, bem como do manejo adotado para o controle de biomassa de plantas e do tanque de depuração, bem como do efluente no sistema.

A alta turbidez do efluente (estação 2) pode estar relacionada ao transporte de excretas e restos de ração que são removidos nas lavagens das baias. Todavia após a passagem pelo tanque de fitodepuração, essa condição retornou aos limites recomendados pelo CONAMA (2005), corroborando com o observado por Schulz *et al.* (2003) que utilizaram macrófitas emersas no tratamento de efluente de viveiros de truta arco-íris, onde encontraram uma remoção do material particulado em até 97%.

De maneira geral, os estudos realizados por outros autores sobre o uso da fitodepuração no tratamento do efluente de aquicultura mostram que esta tecnologia é capaz de remover nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e material particulado. Alguns ainda comentam que a eficiência da fitodepuração depende da espécie utilizada e do período de retenção do fluxo hídrico na wetland construída (Redding *et al.*, 1997). Outro aspecto importante na eficácia do processo é sua manutenção, com a troca constante das macrófitas, pois essas possuem uma capacidade limitada de estocar nutrientes e matéria orgânica (Henry-Silva & Camargo, 2006).

A média do valor de oxigênio dissolvido (Tabela 1) da estação 3 foi abaixo do recomendado, esta diminuição pode ter ocorrido devido ao período que o efluente ficou decantando no tanque de fitodepuração, não sofrendo o turbilhonamento natural, que manteria o nível de oxigênio dissolvido dentro dos valores limites.

Os Índices de Estado Trófico (IET) de cada estação foram: a estação 1 apresentou nível oligotrófico (IET= 32). Supõe-se que, como consequência do manejo, a estação 2 apresentou elevação do IET para 87 passando para a classificação de eutrófico. Suspeitava-se que este quadro de eutrofia fosse modificado a partir do tratamento do efluente por fitodepuração. No entanto, o resultado do IET= 88, na estação 3, demonstrou que esta modificação não ocorreu. Essa característica eutrófica foi mantida após o tratamento do efluente porque não foi verificada a remoção de Fósforo total (Tabela 1).

Com relação às análises ecotoxicológicas realizadas com o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* (Figura 1), verificou-se manifestação de toxicidade predominantemente aguda em todas as amostras e em todo período de estudo, inclusive na estação 1 (água de abastecimento). Ou seja, a água já chegava ao empreendimento portando características tóxicas, provavelmente devido às atividades existentes no entorno da ranicultura: pecuária de leite; áreas de reflorestamento; estrutiocultura (granja de avestruz) e à disposição final de resíduos sólidos (industrial e doméstico, aterros classes 1, 2 e 3). Pode-se notar, inclusive, que a toxicidade sofre uma potencialização, passando de crônica para aguda a medida que o fluxo de água recebe influência do aporte de ranicultura. Este aspecto foi observado, especialmente, nas 1ª e 2ª coletas.

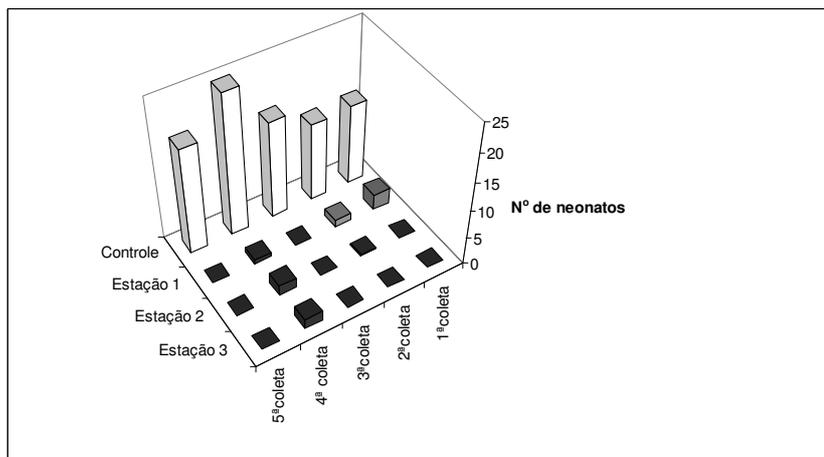


Figura 1: Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das estações amostrais de ranicultura (afluente, efluente sem tratamento e efluente tratado pela fitodepuração). Barras brancas indicam ausência de toxicidade, barras cinzas indicam presença de toxicidade crônica, e barras pretas indicam toxicidade aguda.

Os resultados das análises desenvolvidas com amostras diluídas do efluente estão apresentados na Figura 2. Considerando-se uma média de todas coletas, as análises estatísticas revelaram diferenças significativas entre o grupo controle e as diluições em todos os momentos. Portanto, os valores de CEO e CENO não foram estimados porque a menor concentração testada gerou efeito na reprodução dos organismos em todos os ensaios.

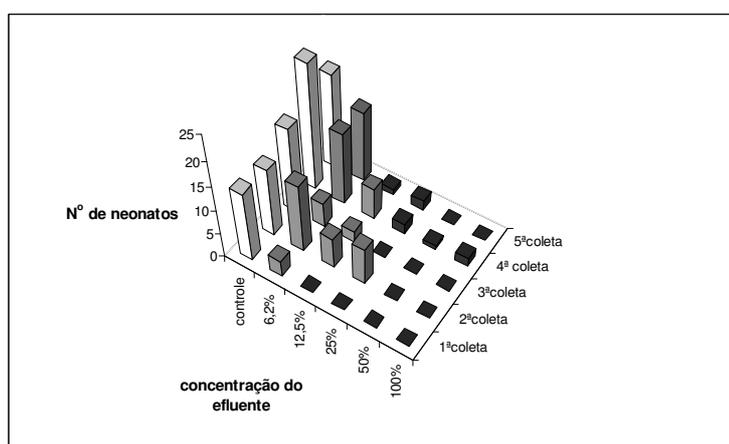


Figura 2. Média da reprodução de *C. dubia* nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente (após a fitodepuração) de ranicultura. Barras brancas indicam ausência de toxicidade, barras cinzas indicam presença de toxicidade crônica, e barras pretas indicam toxicidade aguda.

Os resultados obtidos nos ensaios com *C. dubia* levam à suspeita da presença de algum xenobiótico que estivesse causando efeito tóxico aos organismos- teste. Embora, a exceção do fósforo total, as variáveis limnológicas analisadas estivessem dentro dos limites aceitáveis pelo CONAMA.

Quanto às análises ecotoxicológicas realizadas com a microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* nas mesmas estações de amostragem (Figura 3), verificou-se uma resposta contrária quando comparada à resposta obtida nos ensaios com o cladóceros *C. dubia*. Foi observado um estímulo no crescimento algáceo nas estações 2 e 3. Este aspecto evidencia a carga de nutrientes como principal tipo de poluente agregado ao efluente.

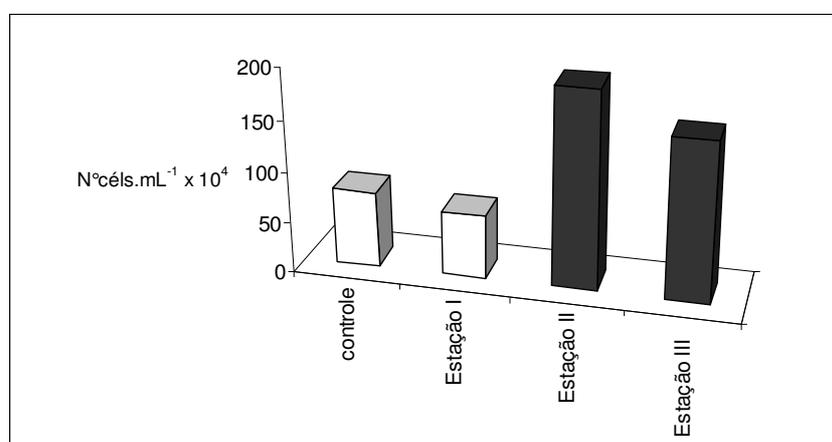


Figura 3. Média do crescimento algáceo da microalga verde *P. subcapitata* nos ensaios ecotoxicológicos (células.mL⁻¹ x 10⁴) com amostras das estações de coletas de ranicultura (afluente, efluente sem tratamento e efluente tratado pela fitodepuração). Barras brancas indicam ausência de efeito estimulante ou redutor, barras pretas indicam presença de efeito estimulante ou redutor no crescimento algáceo.

Os resultados dos ensaios com diluição do efluente (Figura 4) mostraram, pelo teste de Tukey, que mesmo após o tratamento por fitodepuração, a CEO (Concentração de Efeito Observado) foi de 100% e a CENO (Concentração de Efeito Não Observado) foi de 50%. Isso quer dizer que este efluente gera efeito estimulante sobre a comunidade fitoplanctônica (capacidade de eutrofização) e este estímulo estende-se até o momento em que a pluma do efluente estiver naturalmente diluída a 50% de sua concentração no corpo hídrico receptor. A importância deste dado diz respeito à sua utilização nas medidas de avaliação de risco ecotoxicológico, assim como nas estimativas da extensão do possível impacto ambiental do lançamento de efluentes desta natureza.

O cálculo da D.E.R (Diluição do Efluente no corpo Receptor, em %), elaborado para esta circunstância, revelou que o lançamento do efluente superou 12 vezes o limite permissível estabelecido pela SMA nº3 (2000).

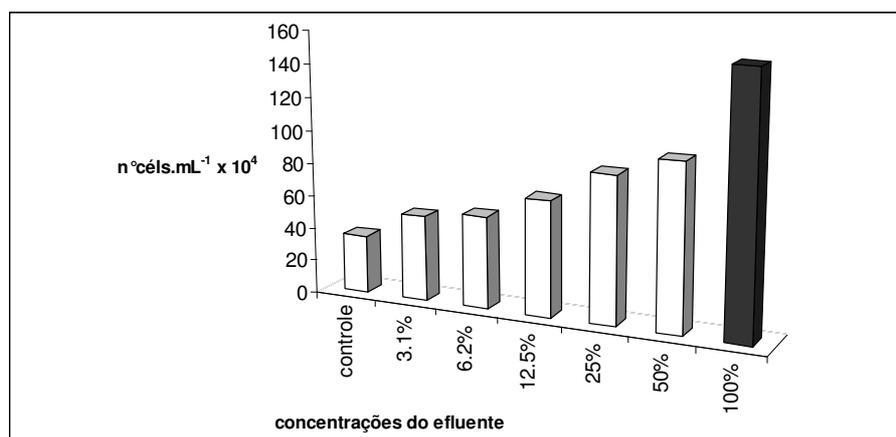


Figura 4. Média do crescimento algáceo da microalga verde *P. subcapitata* nos ensaios ecotoxicológicos (céls.mL⁻¹ x 10⁴) nos ensaios ecotoxicológicos das diferentes diluições do efluente (após a fitodepuração) de ranicultura. Barras brancas indicam ausência de efeito estimulante ou redutor, barras pretas indicam presença de efeito estimulante ou redutor no crescimento algáceo

Conclusões

O sistema de fitodepuração analisado no presente estudo não foi eficiente para amenizar o efeito tóxico do efluente sobre o organismo- teste *C. dubia*, nem mesmo para a contenção de nutrientes que estimularam o crescimento algáceo no teste com *P. subcapitata*. Isto denota que o sistema, da forma como foi projetado, não pode ser recomendado para minimizar os impactos ecotoxicológicos da atividade de ranicultura.

Referências Bibliográficas

- ABNT, 2005, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 12548: ***Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)***. ABNT, Rio de Janeiro.
- ABNT, 2005, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 13.373: ***Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com Ceriodaphnia spp (Crustácea, Cladocera)***. ABNT, Rio de Janeiro.
- Aragão, M.A., Pereira, E.V., 2003, **Sensitivity of *Ceriodaphnia dubia* of different ages to sodium chloride**. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70: 1247-1250.
- Boyd, C.E. & Gaultier, D. 2000. **Effluent composition and water quality standards**. *Global Aquaculture Advocate*, 3: 61- 66 p.
- Calijuri, M.C., Alves, M.S.A. & Santos, A.C.A. 2006. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. Rima, São Carlos, 188 p.
- Esteves, F.A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. 2^a ed. FINEP, Rio de Janeiro, 602 p.
- FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION . 2009. **The State of World Fishers and Aquaculture 2008**. FAO Fisheries and Aquaculture Departmente, Rome. Italy.146p
- Frost D. R., Grant T., Faivovich J., Bain R. H., Haas A., Haddad C. F. B., Desa R., Channing A., Wilkinson M., Donnellan S. C., Raxworthy C. J., Campbell J. A., Blotto B. L., Moler P., Drewes R. C., Nussbaum R. A., Lynch J. D., Green D. M. & Wheeler W. C. 2006. **The Amphibian tree of Life**. *Bulletim American Museum of Natural History*. 297: 1-370.
- Goldburg, R. & Triplett, T. 1997. **Murky waters: Environmental effects of aquaculture in the United States**. Environmental Defense Fund, Washington, 198 p.
- Gulley, D.D.; Boetter, A.M.; Bergman, H.L. Toxstat 3.3. 1991. **Computer Program**. University of Wyoming. Wyoming. USA.
- Henry- Silva, G.G. & Camargo, A.F.M. 2006. **Efficiency of aquatic macrophytes to treat Nile tilapia pond effluents**. *Scientia Agricola*, v. 63. p. 433-438.
- Kivaisi, A. K. 2001 **The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review**. *Ecological Engineering*:.16,545 – 560 p.

- Knier, J. L. W. & Lopes, E.W.B. 2004. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis, FATMA/GTZ
- Lin, Y.F.; Jing, S.R.; Lee, D.Y.; Chang, Y.F.; Chen, Y.M. & Shih, K.C.. 2005. **Performance of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate.** *Environmental Pollution*, 134. p 37- 45.
- Lombardi, J.V., 2004, **Fundamentos de Toxicologia Aquática.** In: R. Paiva *et al.* (ed.), *Saúde de organismos aquáticos*, p.263-272.
- Mc Nulty, E.W., Dwyer, F.J., Ellersick, M.R., Greer, E.I., Ingersoll, C.G. & Rabeni, C.F., 1999. **Evaluation of ability of reference toxicity tests to identify stress in laboratory populations of the amphipod *Hyalella azteca*.** *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(3): 544-548.
- Páez- Osuna, F. 2001. **The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective.** *Environmental Pollution*, 112 : 229-231 p.
- Redding, T., Todd, S. & Midlen, A. 1997. **The treatment of aquaculture wastewaters- A botanical approach.** *Journal of Environmental Management*, 50: 283- 299 p.
- Sipaúba-Tavares, L.H.; Morais, J.C.L.; Stéfani, M.V.; 2008. **Comportamento alimentar e qualidade da água em tanques de criação de girinos de rã- touro *Lithobates catesbeianus*.** *Acta Scientiarum. Animal Sciences. Maringá*, v.30, n.1, p. 95-101.
- Schulz, C., Gelbrecht, J. & Rennert B. 2003. **Treatment of rainbow trout farm effluents in constructed wetland with emergent plants and subsurface horizontal water flow.** *Aquaculture*, 217: 207- 221 p.
- Schwartz, M.F. & Boyd, C.E. 1995. **Constructed wetlands for treatment of channel catfish pond effluents.** *Progressive Fish Culturist*, 57: 255-267 p.
- USEPA, 2002 **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms.** EPA-821-R-02-013, U.S. Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC., 4th Ed.

CONSIDERAÇÕES

FINAIS

- As ferramentas de análises ecotoxicológicas, especialmente os ensaios com o organismo-teste *P.subcapitata*, aliadas às análises químicas da água, demonstraram que o sistema de ranicultura estudado possui alta capacidade de gerar impacto ao ecossistema aquático, principalmente no tocante ao risco de causar eutrofização do corpo hídrico receptor, devido às características de altas cargas de nutrientes em seu efluente.
- O sistema de fitodepuração analisado no presente estudo não foi eficiente para amenizar o efeito tóxico do efluente sobre o organismo-teste *C. dubia*, nem mesmo para a contenção de nutrientes que estimularam o crescimento algáceo no teste com *P. subcapitata*. Isto denota que o sistema, da forma como foi projetado, não pode ser recomendado para minimizar os impactos ecotoxicológicos da atividade de ranicultura

APÊNDICE

Caracterização da área de amostragem.

A toxicidade constatada na estação 1 (abastecimento do empreendimento) levantou algumas suspeitas de alteração na qualidade da água devido a atividades no entorno na propriedade analisada, antes mesmo da sua chegada na ranicultura. Portanto, esse processo investigatório das atividades desenvolvidas no entorno da atividade de ranicultura será apresentado neste capítulo, a fim de complementar o estudo proposto.

Localização

As amostragens foram realizadas num empreendimento comercial de ranicultura, localizado no município de Tremembé, em São Paulo, SP. Esta cidade faz parte da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, que possui uma extensão de, aproximadamente, 1.180 km e passa pelos seguintes estados da região sudeste do Brasil: Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (Marengo & Alves, 2005).

Atividades do entorno e seus efeitos

A microbacia em que se insere o empreendimento aquícola estudado, recebe cargas difusas de origem urbana e rural, destacando-se as seguintes atividades: pecuária de leite; áreas de reflorestamento; estruticultura (granja de avestruz) e a disposição final de resíduos sólidos (industrial e doméstico, aterros classes 1,2 e 3).

Áreas de reflorestamento com as espécies do gênero *Eucalyptus spp* são encontradas em abundância na região da bacia fluvial (Mendes & Lima, 2007). Do ponto de vista ambiental, o reflorestamento com eucalipto é , em geral, uma

atividade polêmica porque gera efeitos ecológicos adversos, relacionados com o consumo de água, perdas de solos e nutrientes, originando os chamados “desertos verdes”. Além dos impactos causados pelo uso de pesticidas no controle de pragas, aplicados com frequência e há muitas décadas, conforme descrito por Mendes-Filho & Suiter-Filho, 1979, Mendes *et al* 2007 e Amato *et al* 2002.

O uso de pesticidas na região não se restringe somente ao combate a pragas que causam danos ao reflorestamento, mas também na ação antiparasitária em bovinos (Mendes, 2007). Estes pesticidas pulverizados causam grandes impactos ambientais, tais como a contaminação de solos e as águas de uma grande área ao redor de sua aplicação, através do deflúvio superficial, que pode afetar diretamente a sobrevivência dos organismos aquáticos, ou agir de forma bioacumulativa nos tecidos de organismos com importância comercial (Lombardi, 2001).

A disposição final de resíduos sólidos é um dos grandes problemas enfrentados pelos órgãos governamentais. Em áreas de descarte é muito comum constatar desequilíbrios entre substâncias nocivas percoladas no solo/aquífero e a capacidade de autopurificação dos sistemas ambientais (Schiantez, 1999). Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR 10004, 2004), os resíduos sólidos podem ser classificados como: classe 1 (perigosos), classe 2 (não perigosos), classe 3 (não inertes) e classe 4 (inertes). A imprensa de Tremembé frequentemente relata casos sérios de irregularidades de seus quatro aterros sanitários, que comprometem também o desenvolvimento econômico da cidade.

Estudos realizados na região mostram que a qualidade de água em pontos próximos aos aterros apresentaram significativos comprometimentos em função de suas atividades (Cetesb, 2003). É preciso também mencionar que o problema da disposição do chorume e do controle ambiental da região são de extrema urgência, uma vez que a área ocupada pelos aterros é também explorada por uma associação rural (Moura, 2008) .

A fonte de água escolhida pelo produtor, para servir de abastecimento do ranário, encontra-se em região à jusante de um dos aterros sanitários de Tremembé- SP. Esta situação deve ter exercido uma forte influência para a obtenção dos resultados ecotoxicológicos negativos, especialmente agudos constatados na estação 1 do presente estudo. Isto reforça a necessidade de aplicação de técnicas de tratamento para melhorar a qualidade da água, antes de sua captação ou mesmo de recomendar a aplicação de políticas públicas que garantam a preservação da qualidade do recurso hídrico na região, permitindo a realização de atividades ambientalmente sustentáveis

Referências Bibliográficas

- ABNT, 2004. Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2004. NBR 10 004. **Resíduos sólidos: Classificação.** Rio de Janeiro.
- Amato, C., Torres J. P. M, Malm. 2002. **O DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental, uma revisão.** Revista Química Nova, vol.25 n.6
- Lombardi, J.V.; Machado-Neto, J.G.; Brossi-Garcia, A.L.; Marques, H.L.A.; Kubo, E. 2001. **Acute Toxicity of the Pesticides Endosulfan and Ametryne to the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* De Man.** *Environmental Contamination and Toxicology.* v. 67, p. 665-671.
- Marengo, J.A & Alves, L.M. 2005. **Tendências hidrológicas da bacia do rio Paraíba do Sul.** Revista Brasileira de Meteorologia, v.20, n.2, 215-226.
- Mendes, M.C.; Prado, A.P., Lima, C.K.P. 2007. **Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate in farms in the Vale do Paraíba Region.** São Paulo, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 74, p. 81-85.
- Mendes, C. A. B., Lima, W.P.L. 2007. **Análise de impactos ambientais de florestas plantadas, no contexto de bacias hidrográficas: princípios norteadores.** Anais I Seminário de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Paraíba do Sul: o Eucalipto e o Ciclo Hidrológico, Taubaté, Brasil, 07-09 novembro 2007, IPABHi, p. 263-270.
- Moura, C.L. **Íons metálicos (Al, Fe, Mn e Pb) associados a aterros (sanitário e industrial) no município de Tremembé/SP.** 2008. Dissertação de doutorado- Instituto de Geociências-USP. 135p.
- Schiantez, B. **Passivos ambientais: Levantamento Histórico, Avaliação da periculosidade e ações de recuperação.** 1999. Curitiba Senai, 200p