

ARTIGO

**USO DA ARTEMIA (*ARTEMIA SP.*) COMO BIOINDICADOR DE
POLUENTES MARINHOS**

Rodolpho Henrique Waichert*

Josinei Rodrigues Filho**

Camila Reis***

1. INTRODUÇÃO

Os acidentes que envolvem o derramamento de derivados do petróleo no meio ambiente são muito impactantes, causando prejuízos são ainda maiores do que os visíveis. Todos os seres vivos presente naquele ecossistema afetado serão prejudicados de forma geral. A poluição das águas provoca a diminuição da biodiversidade nativa e possivelmente a extinção de determinados ecossistemas.

Especificamente a espécie bioindicadora *Artemia*. Tal espécie é dependente da filtração para sua alimentação e respiração, processo (filtração) que necessita de um ambiente equilibrado para que possa ser realizado com sucesso, seu mau rendimento logo indicar que o ambiente onde a espécie (*Artemia*) encontra-se estará alterado e/ou poluído, ou seja, possivelmente impactado.

Segundo Dornfeld (2002), os testes de toxicidade são estudos laboratoriais, executado sob circunstâncias experimentais, adotado para avaliar a toxicidade de substâncias, (águas ou sedimentos). Neste estudo, organismos-testes são submetidos a diversas concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados. Entretanto, com os testes não podem se obter uma resposta exata dos riscos que uma substância apresenta para os seres vivos, pois é difícil determinar os resultados de toxicidade obtidos para os organismos em laboratório, principalmente os de diferentes espécies (Ribo, 1997).

Esses testes têm como finalidade identificar os riscos agregados a substâncias e definir quais as condições de exposição á esses riscos são induzidos (James, 2000). De acordo com Hodgson, a toxicologia é dividida nos seguintes ramos: toxicologia clínica, onde analisa os efeitos de drogas em seres humanos; toxicologia forense, cujo objetivo é detectar o uso ilegal de agentes tóxicos para fins judiciais e toxicologia ambiental, a qual se preocupa com o destino dos agentes tóxicos, seus metabólitos e produtos de degradação no ambiente e

* Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Professor da Faculdade Brasileira Cristã (FBC)

** Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Professor do Centro Universitário Venda Nova do Imigrante (UNIFAVENI).

*** Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Centro Universitário Católico (UNISALES)

nas cadeias alimentares e com o efeito desses contaminantes sobre os organismos e as populações.

A toxicologia ambiental são estudos diversificados que interagem diversas áreas de estudo como a biologia, química, anatomia, genética, fisiologia, microbiologia, ecologia, ciências do solo, água e atmosfera, epidemiologia, estatística e legislação (Zakrzewski, 2001). A ecotoxicologia é uma continuidade dos estudos tóxicos na área ambiental, onde analisa os impactos ocasionados por fatores químicos e físicos sobre os ecossistemas (Ronco, 2004).

A ecotoxicologia aquática tem por finalidade estudar os impactos químicos sobre organismos de seu ecossistema. Os efeitos do poluente podem ocasionar alterações em sua composição, desde estruturas celulares até em comunidades. Os estudos envolvem desde o transporte até o destino dos impactantes no ambiente marinho. As avaliações tóxicas são utilizadas pois, os ecossistemas aquáticos constituem os principais reservatórios de afetados diretamente por corpos d'água no descarte inadequado de efluentes.

As substâncias avaliadas têm como objetivo a obtenção de dados para estudos químicos, porém os testes com águas contaminadas são aplicados para comprovar o enquadramento nos padrões permitidos. Uma de suas metas é o desenvolvimento de testes tóxicos, que limitam certos níveis de não conformidade e que sirvam de modelo para as empresas reguladoras para a tomada de decisões.

Os testes de toxicidade são qualificados em agudos e crônicos. Os agudos são aplicados para verificar os resultados tóxicos sobre espécies marinhas no curto espaço do tempo de vida do bioindicador. Já a avaliação crônica é realizada para calcular os efeitos de substâncias químicas sobre espécies marinhas por um determinado tempo ou todo o ciclo de vida do bioindicador.

142

Os testes de toxicidade aguda permitem que valores de CE50 e CL50 , os valores de concentrações efetivas e letais são expressos em relação a 50% dos organismos porque estas respostas são mais reprodutíveis, podem ser estimadas com maior grau de confiabilidade e são mais significativas para serem extrapoladas para uma população. A única limitação desses métodos em relação aos métodos paramétricos é que devem cobrir o intervalo de zero a 100% de mortalidade ou de efeito agudo. (CETESB, 1990).

O crustáceo de água salgada *Artemia salina* também conhecida com camarão de salmoura é uma espécie muito utilizada em testes de toxicidade. A escolha do bioindicador foi devido seu baixo custo, fácil cultivo e permanência em laboratório. O uso de *Artemia salina* é útil quando se pretende testar a toxicidade de efluentes, e apresentam alta salinidade, visto que o parâmetro é um fator importante para espécies de água doce (Beatice, 2001).

Os resíduos sólidos e efluentes que são lançados no ambiente aquático causam impactos, principalmente os efluentes e resíduos derivados de atividades de desenvolvimento e produção de petróleo e gás natural

decorrentes do aumento, da exploração e do consumo desses recursos não renováveis. (Priscila, 2004)

O poluente utilizado no estudo é a gasolina, que é composta por hidrocarbonetos e aditivos, usados para melhorar o desempenho do combustível e do motor. Quando a gasolina é derramada em ambiente aquático, não ocorre a mistura completa das substâncias, pois a gasolina é classificada como um solvente apolar e a água como polar, criando outra fase acima do nível aquático (segunda camada).

Um acidente decorrente do derramamento pode ocasionar uma série de impactos, dentre eles alterações físicas e químicas dos ecossistemas naturais, por exemplo, da incorporação do óleo ao sedimento, recobrimento físico da fauna e flora, efeitos letais ou subletais nos organismos, e mudanças nas comunidades biológicas resultantes dos efeitos do óleo sobre organismos-chave.

2. JUSTIFICATIVA

Artemia salina é um microcrustáceo da ordem Anostraca, usado neste trabalho como bioindicador de toxicidade. O bioindicador Artemia é um crustáceo filtrador que se alimenta de bactérias, algas unicelulares, pequenos protozoários e detritos dissolvidos no meio. A filtração acontece nos toracópodos, onde sua função é conduzir as partículas alimentícias para o sistema digestivo.

Buscando analisar a toxidade em ambientes marinhos após acidentes envolvendo derivados de petróleo, utilizamos como bioindicador de toxicidade a Artemias salinas, tendo com meio seu baixo custo econômico, e por ser uma espécie de fácil manipulação em laboratório.

A fonte hidrocarbônica e as características do ambiente marinho são responsáveis pela extensão da contaminação, pela dispersão do poluente, e consequentemente, pelos impactos aos ecossistemas. Sendo assim, ambientes diferentes, respondem de forma diferente a um mesmo contaminante.

A gasolina tem com composição básica o hidrocarboneto, compostos de enxofre e metálicos, nitrogênicos e oxigenados. Seu aspecto físico isento de matérias em suspensão, líquido, límpido e amarelado possuindo um odor forte e característico (FISPQ - Petrobras).

O conjunto de fatores (físico, químico e biológico) e condições (corrente marinha e a composição do poluente) determinará o percurso do petróleo e seus derivados no mar, bem como seu grau de ecotoxicidade e seu tempo de persistência no ambiente marinho.

Os testes de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos. Onde a toxicidade aguda foi utilizada para medir os efeitos do agente tóxico (gasolina) sobre a espécie Artemia durante um curto período de tempo. No processo de estudo da toxicidade teve como objetivo, analisar a necessidade de realização de uma bateria de testes com o organismos e os efeitos negativos causados no bioindicador em vários níveis de toxicidade.

2.1. BIOINCADORES MARINHOS

O Impacto ambiental pode ser definido como qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente resultante de atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a biota; as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais (Resolução do CONAMA n.º 01 de 23/01/86).

Certas atividades antrópicas, podem ocasionar algumas alterações nos recursos naturais, sendo no rio, solo ou mar. E esses efeitos das alterações podem ser observados de diferentes formas na biota, como por exemplos na disponibilidade de nutrientes, na qualidade da água, interferindo nos elementos que compõem o ecossistema. Sendo assim espécies de bioindicadores podem auxiliar indicando quaisquer alterações nos recursos naturais (JORGE-2003)

Segundo Cunha (2001) organismos indicadores são definidos como identificadores biológicos que podem fornecer informações sobre as condições de um ecossistema, como por exemplo, o valor de pH ou a concentração de metais pesados no solo.

De acordo com a UFMG Bioindicadores são responsáveis por indicar biologicamente a condição ambiental de um determinado local. Os bioindicadores estão relacionados às condições de saúde de uma área, definida pela comparação da estrutura e função de uma comunidade biológica entre uma área impactada e áreas de referência.

144

Os bioindicadores mais utilizados são os que diferenciam as oscilações naturais e o estresse antrópico.

2.2. CLASSIFICAÇÃO DAS ARTEMIAS

Artemia conhecida em outras regiões como camarão de salmoura segundo Leach (1819) citado por Pimentel (2011, p.16) O microcrustáceo Artemia sp. São classificados como pertencentes ao filo Arthropoda, classe Crustacea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca (sem carapaça) vivem em lagos de água salinas, família Artemidae e gênero Artemia. Esses organismos de acordo (Veiga & Vital) possuem distribuição cosmopolita, ou seja, espécies que estão presentes em pelo menos 2/3 da biosfera, distribuindo-se por todos os continentes, com exceção da Antártida. Esses microcrustáceos segundo Pereira (2001) apresentam rusticidade operacional, pois possuem grande adaptabilidade a diversas condições físico-químicas. Os fatores ambientais que as artemias se adequam são salinidade entre 3 e 300 mil‰ (ou seja uma espécie eurialina, Oxigênio: o mínimo de 1 a 2 mg/l. Ótimo, entorno de 4mg/l. Pode sobreviver a baixos teores de oxigênio (1 mg/litro) aonde apresenta uma cor avermelhada, Temperatura: suporta de 5°C a 40°C (ótimo de 25°C a 28°C). Luz: sensíveis a luz devido aos seus olhos compostos. pH: aproximadamente 8,0.

Van Stappen (1996) afirma que as Artemias possuem um eficiente sistema de osmorregulação conhecido no reino animal, capacidade de sintetizar pigmentos

respiratórios de maneira eficiente, com baixos níveis de oxigênio dissolvido em altas salinidades, além de produzirem cistos em dia pausa quando as condições ambientais comprometem a sobrevivência da espécie. Neste tipo de ambiente, as artêmias crescem e se reproduzem com um número reduzido. Tratando-se da reprodução a artemia classifica-se em reprodução partenogenética com produção de cistos, que ocorre na ausência do macho ou sexualmente (Veiga & Vital, 2002).

Segundo câmara (1996) O anostráceo *Artemia* sp. é caracterizado como um organismo muito utilizado como material experimental em várias pesquisas em biologia molecular, ecologia, toxicologia, fisiologia e genética. Já foi até mencionado como a “*Drosophila* aquática”, pois é o crustáceo mais conhecido do ponto de vista molecular e, portanto, um dos organismos aquáticos mais estudados até hoje.

A resolução nº 430 da CONAMA, de 13 de maio de 2011, descreve que o efluente antes de ser lançado no recurso hídrico deve ser submetido á tratamento do mesmo, e posteriormente á testes ecotoxicológicos, a fim de verificar o nível de toxidade no recurso hídrico e em seus organismos aquáticos no pós-lançamento do efluente.

Devido seu baixo custo, fácil cultivo e permanência em laboratório, a *Artemia* vem sendo utilizada como bioindicador para testes ecotoxicológicos, por ser um organismo sensível quando submetido em agentes químicos poluidores (CONAMA 357).

O uso da *Artemia* com bioindicador, tem como legitimar o fato de que múltiplos compostos perniciosos tem como seu destino os ambientes salinos, mesmo quando não são emitidos diretamente no recurso hídrico (Pimentel ET AL., 2010).

2.3. PETROLEO E SEU DERIVADO – GASOLINA

O petróleo é encontrado em quatro estados no ambiente marinho: filme, solução, emulsão e em grumos. A densidade desse estado depende da área onde se localiza, da taxa de evaporação, da tensão superficial do óleo. Devido sua composição química, quando submetida em altas temperaturas ocorre a divisão das frações de grupos de hidrocarbonetos. Dessa forma, os grupos de hidrocarbonetos (derivados) do petróleo (óleos crus, resíduos oleosos, condensados e produtos refinados) quando submetidos em ambiente aquáticos reagem de maneiras distintas. O aglomerado de hidrocarbonetos em áreas marinhas interfere diretamente no ecossistema local.

Os estudos de toxicidade exercem uma parcela importante na identificação de contaminantes potencialmente poluidores ao meio ambiente. Os hidrocarbonetos resultantes do petróleo, em sua maioria possui pouca solubilidade em água. Os resultantes de menor massa molecular possuem maior solubilidade e maior grau de toxicidade.

A dissolução de uma mistura hidrocarbônica como a gasolina caracterizada como uma mistura complexa de centenas de hidrocarbonetos, variando por classe (parafinas, olefinas, compostos cíclicos e aromáticos) e, em cada classe

por tamanho, ocorre quando compostos mono e dicíclicos aromáticos bem como compostos polares são incorporados à fração solúvel em água.

A absorção da fração solúvel em água, acompanhada da incorporação de quantidades subletais de hidrocarbonetos, representa a rota de exposição geradora dos efeitos tóxicos primários no fitoplâncton e na maioria dos embriões de invertebrados.

Tabela 1. Faixas de temperaturas de ebulição e átomos de carbono de acordo com a fração destilada (Fonte: API, 2001).

FRAÇÃO (PRODUTO DESTILADO)	FAIXA DE BULIÇÃO (°C)	ÁTOMOS DE CARBONO
Gasolina	30-200	5 -10
Nafta	100-200	8-12
Querosene	150-250	11-13
Óleo diesel	160-400	13-17
Óleos pesados	315-540	19-25
Lubrificantes	425-540	20-45

2.4 ECOTOXICOLOGIA

A ecotoxicologia é a centralização dos estudos da toxicologia ambiental, nas reações e nos efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos sobre a estrutura das comunidades biológicas

146

Os estudos de toxicidade é uma propriedade que demonstra o potencial de uma substância em ocasionar um efeito negativo ao organismo vivo, no caso da ecotoxicologia aquática esta demonstração ocorre sobre organismos representantes do ecossistema aquático. Ela depende da concentração e das propriedades da substância química à qual o organismo é exposto e do tempo de exposição. Originalmente, os testes de toxicidade em águas salinas são empregados visando medir os efeitos tóxicos de substâncias particulares e de águas contaminadas.

Testes toxicológicos podem se classificar em agudos e crônicos, que se diferenciam na duração e nos resultados. Os testes de toxicidade aguda são utilizados para medir os efeitos de agentes tóxicos sobre espécies aquáticas durante um curto período em relação ao período de vida do organismo-teste. OS efeitos tóxicos obtidos em testes de toxicidade aguda abordam qualquer resultado demonstrado por um organismo que foi testado ou população que resulte de um estímulo químico. Portanto, o efeito obtido em estudos de toxicidade aguda com organismos aquáticos é a mortalidade ou alguma outra forma de atuação do organismo que a precede, por exemplo, o estado de imobilidade.

Tabela 2. - Vantagem e desvantagem

Vantagens dos testes de toxicidade	Limitações dos ensaios de toxicidade
Fornecem uma estimativa dos efeitos letais e subletais	A substância tóxica não é identificada
Medem a toxicidade quando o agente tóxico não é identificado quimicamente	Nos ensaios são apenas utilizadas algumas espécies dos muitos presentes nos ecossistemas
Podem fornecer um sinal de alarme ou prever os potenciais danos ambientais	Os organismos-testes não são expostos a situações de stress durante a realização do ensaio uma vez que não ocorre variabilidade natural dos fatores ambientais.
Contabilizam os efeitos das misturas tóxicas podendo um efluente quimicamente complexo ser avaliado genericamente como um único poluente	
Os resultados destes testes são mais facilmente compreendidos e aceites pelas industriais e o público, em geral.	

2.5. LEGISLAÇÃO – CONAMA 357/05

A água existente no planeta, se considerada em conjunto, é imutável, enquanto a população humana cresce aceleradamente, porém o desequilíbrio entre a população mundial e as reservas de água avulta com o passar dos anos tornando-se motivo de preocupação.

147

Tal preocupação deu origem a necessidade da implantação de um sistema de proteção das águas contra o uso inadequado e as diversas formas de poluição que se estruturam em normas legais que pretendem planejar, regular e controlar a sua utilização e que entram em acordo com padrões e critérios definidos através de uma Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH). Nessa situação enquadram-se as águas salinas. (CETESB, 2003).

Água salina é a denominação dada a qualquer água que contenha uma concentração significativa de sais dissolvidos (oceanos) que são classificadas da maneira abaixo.

Classe especial, águas destinadas a preservação dos ambientes aquáticos e a preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; Segunda classe, águas destinadas a pesca amadora, à navegação, à harmonia paisagística. (Conama 357/05).

A respeito da qualidade da água presente no oceano a Conama 357/05 trás como condição de definição de qualidade da água salina a ausência de efeitos tóxicos crônicos a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental responsável, tais como carbono orgânico até 3mg/L; Materiais flutuantes, inclusive espumas provenientes de fontes não naturais; óleos e graxas; corantes provenientes de fontes antrópicas; Resíduos sólidos objetáveis. (Conama 357/05).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ensaio Ecotoxicológicos

Os ensaios de toxicidade da gasolina sobre a espécie *Artemia salina* foram adaptados de Meyer *et al.*, 1982, e Pompilho *et al.*, 2014.

Ovos de *A. salina*, adquiridos comercialmente, foram colocados em um aquário contendo água marinha filtrada em carvão ativado e membrana de poro de 1µm. Foi utilizado um pequeno compressor para manter a solução em agitação constante. A temperatura foi mantida constante entre 20°C a 23°C. Os indivíduos foram utilizados nos testes após atingirem o estágio de adultos, cerca de 20 dias pós eclosão.

Para os testes foi utilizada a gasolina comercial, comprada em postos de abastecimento, essa foi disposta em bekers de 500ml, nos quais um volume de 100 ml de água foi adicionado, sendo o poluente dosando segundo as seguintes proporções: 1:5, 1:10, 1:100, 1:200, 1:300, 1:400, 1:500, 1:600, 1:700, 1:800, 1:900 e 1:1000. Após o período de exposição de 24 horas foram quantificados os indivíduos vivos e mortos, segundo o método Probitos de análise para obtenção das DL50 e respectivos intervalos de confiança (MEYER *et al.*, 1982). Os valores de DL50 (concentrações letais de 50%) foram calculados pela análise de regressão linear através do gráfico da concentração do poluente versus a percentagem de vivos usando ajuste da escala Probit. A análise estatística foi feita pelo programa Statistica for Windows 6.0.

148

4. RESULTADOS

A avaliação da taxa de mortalidade de *A. salina* para os testes de toxicidade aguda com gasolina comercial foi levantada para as diferentes concentrações de poluentes, sendo que as concentrações de 1:800, 0,18ml do poluente, apresentou taxa próxima a 50% de mortalidade para a espécie (tabela 3).

Tabela 3 – Taxa de Mortalidade de *Artemia salina* expostas a diferentes concentrações de gasolina comercial em teste de toxicidade aguda de 24h.

Béquer	Óleo (ml)	Concentração	Mortalidade (%)
1	30,00	1:5	100,00
2	15,00	1:10	100,00
3	1,50	1:100	100,00
4	0,75	1:200	97,30
5	0,50	1:300	88,60
6	0,37	1:400	83,00
7	0,30	1:500	77,33
8	0,25	1:600	76,33
9	0,21	1:700	72,00
10	0,18	1:800	51,00
11	0,16	1:900	22,60
12	0,15	1:1000	20,50

A taxa de mortalidade nas diferentes concentrações de gasolina apresenta uma tendência de redução quando das observações das concentrações mais baixas e menos agressivas (Figura 1).

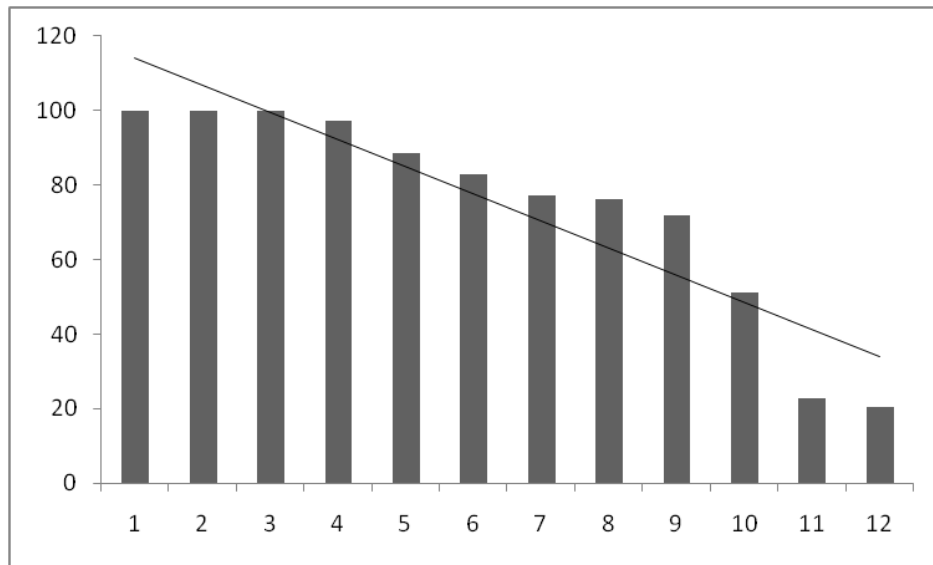


Figura 1 – Tendências da taxa de mortalidade dentro do gradiente de concentração da gasolina em teste de toxicidade aguda com *Artemia*.

As taxas de mortalidade observadas entre as diferentes concentrações de gasolina nos testes toxicológicos ficaram, em mais de 50% dos casos, acima de 80% de letalidade (Figura 2).

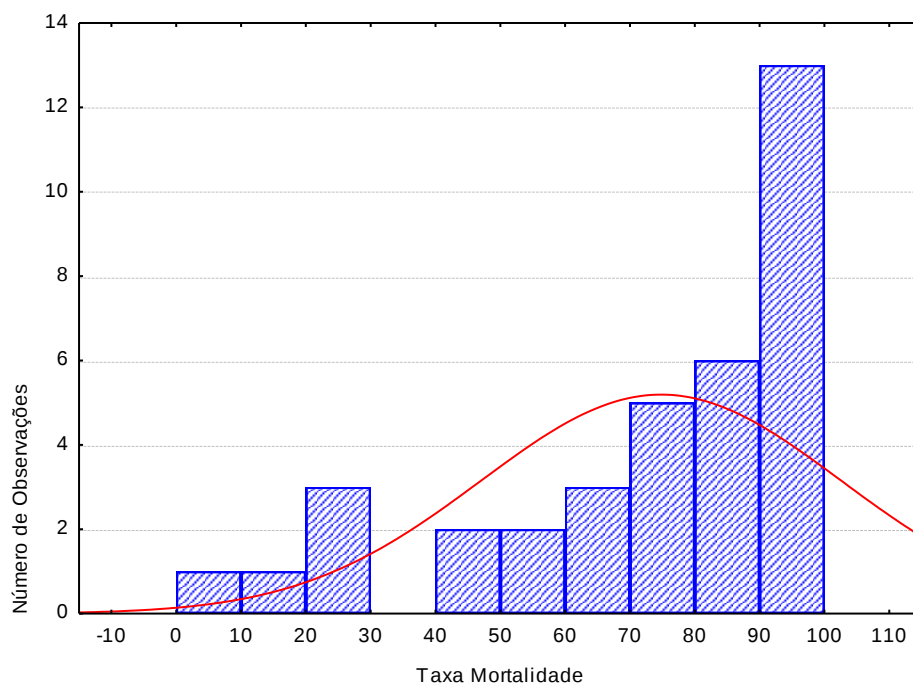


Figura 2 – Observações do numero de observações da taxa de mortalidade *Artemia* em teste toxicológico.

A análise de regressão linear não apresentou valores de correlação significativos para as variáveis taxa de mortalidade e concentração de poluente ($R^2 = 0,15$; $F = 7,18$; $p = 0,11$), por esse motivo a determinação da DL 50 pelo método estatístico proposto não pode ser efetuada com precisão aceitável (Figura 3).

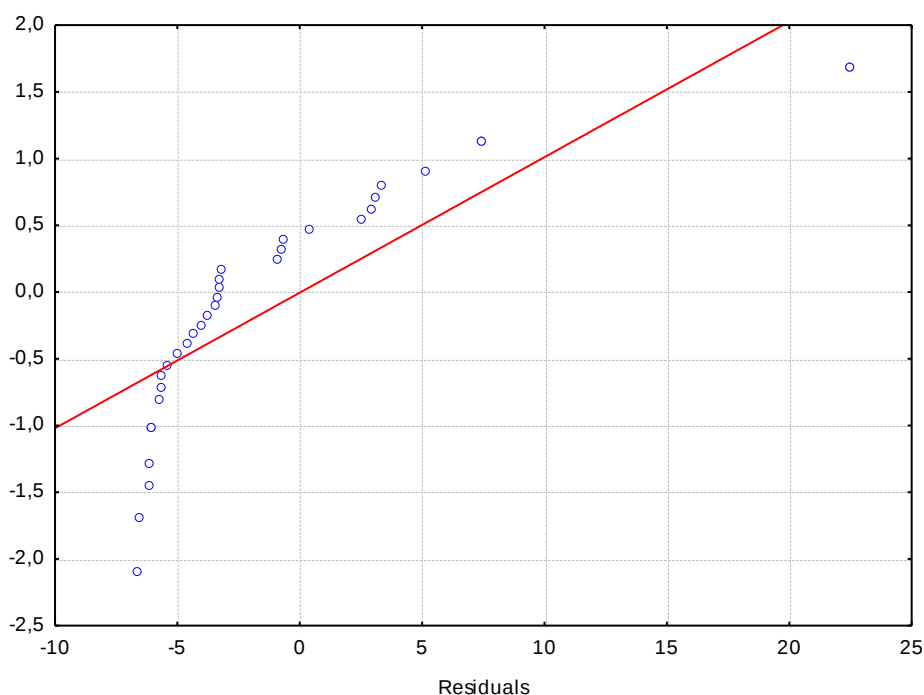


Figura 3 – Regressão Linear entre os parâmetros mortalidade e concentração de gasolina em teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*.

5. DISCUSSÕES

Os estudos de toxicidade foram importantes para analisar o potencial de risco ambiental do contaminante. De acordo com a resolução nº 357 da CONAMA, no artigo 34 nos § 1 e 2, fica estabelecido os padrões de lançamento de efluente, onde o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados utilizando organismos aquáticos.

Procurando avaliar o a toxicidade do petróleo no ambiente marinho, escolheu-se a gasolina como o contaminante mais acessível. Os Testes apresentaram resultado inconclusivo, de acordo com o gráfico de dispersão, devido ao curto período de tempo para o experimento e a falta de treinamento e precisão, já que foram realizados por pessoas iniciantes em relação ao experimento, porém obtivemos resultados significativos para com a bateria de 1:800 com 0,18 ml do

poluente, onde observamos taxa de mortalidade de 51%, valor próximo à determinação pelo módulo estatístico da DI50. Portanto pode-se observar a dispersão desigual dos resultados. Para um resultado mais específico é necessário um maior período de tempo para o desenvolvimento de mais testes físicos, químicos e biológicos com outras concentrações do poluente.

Por meio dos parâmetros de biodegradação, pode-se concluir que em termos de poluição marinha por petróleo são necessários vários estudos de parâmetros físicos, químicos e biológicos, ou seja, estudos mais complexos. Entretanto, o conhecimento da capacidade de degradação por meio da gasolina é um módulo para a elaboração de processos biológicos na recuperação de áreas contaminadas por derivados do petróleo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATLAS, R. M. **Handbook of Media for Environmental Microbiology**. London. CRC Press. 1995. Disponível em.<> Acesso em: 28 de nov. de 2014

MAKKAR, R.S. & CAMEOTRA, S.S. Utilização de melaço para produção de biossurfactante por duas estirpes de *Bacillus* em condições termofílicas. *Journal American Oil Chem. Society* 74: Disponível em.<>. Acesso em: 21 de nov. 2014

MAIER, R. **Microbiologia Ambiental**. Academic Press, New York. Disponível em.<> Acesso em: 02 de dez de 2014

ATLAS, R. M. & BARTHA, R.: *Ecologia Microbiana: Fundamentos e Aplicações*. Menlo Park, Califórnia. Benjamin / Cumins Publishing Company. Disponível em.<> Acesso em: 02 de dez de 2014

MARTY, J. C., SALIOT, A.: Hidrocarbonetos (n-alcanos) na microcamada da superfície de água do mar. *Recursos do mar profundo*. *Disponível em.<>* Acesso em: 02 de dez. 2014

CONAMA 357. **Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelecer as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução Nº 357, 17/03/2005.

CONAMA 430. **Condições e padrões de lançamento de efluentes**. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução Nº 430, 13/05/2011.

Zakrzewski, S. F.; *Princípios de Toxicologia Ambiental*, American Chemical Society: Washington, 1994

Ronco, A.; Báez, M. C. D.; Granados, Y. P. O Em toxicológicos Métodos de Teste de Avaliação da Qualidade da Água - Padronização, In-tercalibración, Resultados e Aplicações; Morales, G. C., ed.; Centro Internacional de Pesquisas para o Desenvolvimento: Ottawa, 2004, cap. 1.

M. F. PIMENTEL; F.C.G. SILVA JUNIOR; S.T. SANTAELLA; L.V.C LOTUFOL; O Uso de *Artemia* SP. **Como Organismo-teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias Do Beneficiamento da Castanha de**

Caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. J. Braz. Soc. Ecotoxicol. v. 6, p. 15 - 22, 2011.

NIETO, RÊGIS; CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. **LEGISLAÇÃO AMBIENTAL CONTROLE DE POLUIÇÃO DAS ÁGUAS.** Secretaria de Meio Ambiente. Disponível em: <www.sinditextilsp.org.br/palestra_sindi_09.03.ppt>. Acesso em: 30 de set. de 2014

C. V. L. A. ROBERTA; JORGE. **Avaliação de impacto ambiental sobre o ecossistema marinho utilizando larvas de mexilhões (Perna perna) (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia) como bioindicadores, através de técnicas ecotoxicológicas.** Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/publicacao/6206/avaliacao-de-impacto-ambiental-sobre-o-ecossistema-marinho-u/>>. Acesso em: 30 de set. de 2014.

Rand, G. M.; Wells, P. G.; McCarty, L. S. **O Em Fundamentos da toxicologia aquática: efeitos, Impacto Ambiental e Avaliação de Riscos;** Rand, G. M., ed.; 2nd ed., Taylor & Francis: Washington. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n7/v31n7a38.pdf>>. Acesso em: 27 de out. de 2014.

Yu, M.-H.; **Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants**, 2nd ed., CRC Press: Boca Raton. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n7/v31n7a38.pdf>>. Acesso em: 27 de out. de 2014.

Kendall, R. J.; Anderson, T. A.; Baker, R. J.; Bens, C. M.; Carr, J. A.; Chiodo, L. A.; Cob III, G. P.; Dickerson, R. L.; Dixon, K. R.; Frame, L. T.; Hooper, M. J.; Martin, C. F.; McMurry, S. T.; Patino, R.; Smith, E. E.; Theodorakis, W. **Em Casarett and Doull's Toxicology – The Basic Science of Poisons;** Klaassen, C. D., ed.; 6th ed., MacGraw-Hill: New York. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n7/v31n7a38.pdf>>. Acesso em: 27 de out. de 2014.

Zakrzewski, S. F.; **Principles of Environmental Toxicology, American Chemical Society;** Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n7/v31n7a38.pdf>>. Acesso em: 27 de out. de 2014.

James, R. C.; Roberts, S. M.; Williams, P. L. **Em Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications;** Williams, P. L.; James, R. C.; Roberts, S. M., eds.; 2nd ed., John Wiley & Sons: Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n7/v31n7a38.pdf>>. Acesso em: 27 de out. de 2014.

Nei Pereira Jr.; Edelvio de B. G.; Adriana U. S. **BIODEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS.** SÉRIES EM BIOTECNOLOGIA. Disponível em: <http://www.ladebio.org.br/download/series-em-biotecnologia-vol-iii->

biodegradacao-de-hidrocarbonetos.pdf>. Acesso em: 15 de Nov de 2014

A.P. HELIO. **ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA GLOBAL EM BIOINDICADORES: UM PANORAMA DAS TENDÊNCIAS ENTRE OS ANOS 1998 A 2007.**

Disponível

em:<<http://www.cpgss.ucg.br/ArquivosUpload/2/file/MCAS/H%C3%A9lio%20Pinheiro%20de%20Andrade.pdf>>. acesso em: 30 de set. de 2014.

S. F. ERIKA. **ENSAIO DE TOXICIDADE COM Artemia salina DO HIDROLATO DE LARANJA.** Disponível

em:<<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/arquivos/jovem/42ensaiotox.pdf>>.

Acesso em: 01 de dez. de 2014

UFMG. Instituto de ciências biológicas, Depto. Biologia geral. **Bioindicadores de Qualidade De Água.** Disponível

em:<http://www.icb.ufmg.br/labs/benthos/index_arquivos/Page1631.htm>.

acesso em: 30 de set. de 2014.

PETROBRAS. Produtos automotivos. **COMPOSIÇÃO DA GASOLINA BASICO.** Disponível

em:<http://www.br.com.br/wps/portal/portalconteudo/produtos/automotivos/gasolina!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hLf0N_P293QwP3YE9nAyNTD5egIEcnQ4MgQ_2CbEdFAGTlInk!/?PC_7_9O1ONKG10GSIC025HDRRA B10F4000000_WCM_CONTEXT=/wps/wcm/connect/portal+de+conteudo/produtos/automotivos/gasolina/composicao+da+gasolina>. Acesso em: 12 de Nov de 2014