

## II-328 - ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS COM CHORUME UTILIZANDO COMO ORGANISMOS-TESTES O MICROCRUSTÁCEO *DAPHNIA SIMILIS* E O PEIXE *DANIO RERIO*

**Sarah Dario Alves**<sup>(1)</sup>

Bióloga pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Professora de Química Ambiental e Gestão de Recursos Hídricos da Faculdade Anhanguera. Consultora em Ensaios Ecotoxicológicos com *Daphnia similis*.

**Gandhi Giordano**<sup>(2)</sup>

Engenheiro Químico pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Especialista em Engenharia Sanitária e Ambiental pela UERJ, Mestre em Ciência Ambiental – PGCA/UFRJ, Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Materiais – PUC – Rio. Prof. Adjunto no Depto. de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente e da FEN/UERJ e Diretor Técnico da TECMA- Tecnologia em Meio Ambiente Ltda.

**Olavo Barbosa Filho**<sup>(3)</sup>

Engenheiro Químico (FAAP), PhD, Imperial College, University of London. Prof. Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da FEN/UERJ.

**Endereço**<sup>(1)</sup>: Rua Dr. Arthur Tibau, nº 05. Apt. 303. Ingá. Niterói. RJ - CEP: 24210-160 - Brasil - Tel: (21) 2734-0134 - e-mail: [sarahdario@gmail.com](mailto:sarahdario@gmail.com)

### RESUMO

O chorume é um dos importantes efluentes que vem ganhando ampla discussão devido à sua alta toxicidade e salinidade, sendo o mesmo composto por matéria orgânica (0,5%) de várias funções, compostos inorgânicos (1,5%) e água (98%). Essa composição é devida à solubilização e à lixiviação dos resíduos nas suas condições de disposição (GIORDANO, 2003). Esse tipo de efluente costuma ter alta concentração de nitrogênio amoniacal, salinidade, DQO, além de vários metais, conferindo grande ecotoxicidade aos organismos aquáticos. Os impactos provocados por este tipo de matriz são geralmente ocorrências de uma interação sinérgica entre os vários poluentes presentes (CARNIATO *et al.*, 2007). Tendo em vista essa complexidade causada pela interação dos agentes químicos, a estratégia mais eficiente para avaliação dos efeitos biológicos e previsão do risco ambiental, é o uso integrado de análises físicas, químicas e ecotoxicológicas (COSTAN *et al.*, 1993). Visto isso, o objetivo principal do trabalho é realizar ensaios ecotoxicológicos com as várias etapas de tratamento do chorume oriundo da Região Sul do Brasil utilizando como organismos-teste o microcrustáceo *Daphnia similis* e o peixe *Danio rerio*, avaliando também a sensibilidade relativa desses organismos ao chorume em estudo. Os ensaios agudos com *Daphnia similis* e *Danio rerio* foram realizados de acordo com a NBR 12713 (2009) e NBR 15088 (2004) respectivamente. O chorume bruto se apresentou extremamente tóxico aos dois organismos apresentando valor de CE(I)50;48h e CL(I)50;48h igual a 1,88%. Porém, o ensaio com o chorume tratado (após a etapa biológica) apresentou uma boa redução de ecotoxicidade, principalmente a *Daphnia similis*, à qual apresentou CE(I)50;48h igual a 72,37%. Essa grande redução de ecotoxicidade pode ser atribuída a baixa quantidade de nitrogênio amoniacal no tratado em relação ao bruto, que era 1234 mg/L de N e passou para 10 mg/L de N no tratado. A redução de ecotoxicidade do chorume bruto para o tratado para os dois organismos em estudo foi de 98%. O presente trabalho torna-se ainda mais oportuno diante da aprovação recente da resolução CONAMA 430 de 2011, que estabelece a exigência de tratamento dos chorumes em termos equivalentes aos dos efluentes industriais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Chorume, ensaios ecotoxicológicos, *Daphnia similis*, *Danio rerio*.

### INTRODUÇÃO

O chorume costuma ter alta concentração de nitrogênio amoniacal, salinidade, e matéria orgânica (DQO), além de vários metais, conferindo grande ecotoxicidade aos organismos aquáticos. Os impactos provocados por este tipo de matriz são geralmente ocorrências de uma interação sinérgica entre os seus vários poluentes.

Tendo em vista essa complexidade causada pela interação dos agentes químicos, a estratégia mais eficiente para avaliação dos efeitos biológicos e previsão do risco ambiental, é o uso integrado de análises físicas, químicas e ecotoxicológicas (COSTAN *et al.*, 1993).

No Rio de Janeiro, o organismo utilizado em ensaios ecotoxicológicos com efluentes líquidos é o peixe *Danio rerio*, mais conhecido como “Paulistinha”. Entretanto, em muitos lugares no Brasil, tem sido exigido também a utilização de *Daphnia similis* (pulga d’água) que constitui fonte de alimento de peixes e componente importante da cadeia trófica. Além disso, os daphnídeos são animais ideais para cultivo e subsequente uso em testes de laboratório, devido à sua alta capacidade reprodutiva, tamanho pequeno (0,5 a 5,0 mm) e reprodução partenogenética. (BURATINI *et al.*, 2004).

### **DAPHNIA SIMILIS**

O gênero *Daphnia* inclui mais de 100 espécies conhecidas de organismos planctônicos encontradas no mundo todo (The Ebert Group, 2009).

As espécies de *Daphnia similis* (**Figura 1**) têm de 0,5 a 5,0 mm de comprimento e uma carapaça bivalve transparente que encerra todo o corpo, com exceção da cabeça e antenas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os cladóceros são organismos filtradores. Suas pernas torácicas, compostas por cerdas, agem como peneiras, que retém algas e as transferem para a boca, onde são moídas pelas mandíbulas e direcionadas para o trato digestivo (BUIKEMA; SHERBERGER, 1977).



**Figura 1 - *Daphnia similis* adulta**

A **Figura 2** mostra um filhote de *Daphnia similis*, com 12h de vida. O desenvolvimento é direto. Os ovos situam-se em uma câmara incubadora na região dorsal, como mostra a **Figura 3**.



**Figura 2 - Neonato de *Daphnia similis***



**Figura 1 - Câmara incubadora de ovos de *Daphnia similis***

Fonte: <http://enciclopediaanimal.wordpress.com/las-dafnias-o-daphnias/>

A reprodução é partenogenética, dando origem a populações constituídas inteiramente por fêmeas, até que ocorra um estresse ambiental, como superpopulação, falta de alimento ou mudanças de temperatura. Então, surgem na cultura machos e fêmeas com dois ovos haplóides, os quais são fecundados pelos machos. Esses ovos, envoltos em uma casca única, são denominados de efípio (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Quando as condições ambientais se tornam novamente favoráveis, os ovos do efípio eclodem, liberando fêmeas que irão se reproduzir partenogeneticamente (BARNES, 1984).

Carniato *et al.* (2007) realizaram ensaios utilizando o organismo *Daphnia similis* no chorume de aterros de resíduos sólidos *in natura*, pós-tratamento biológico por sistema de filtração lenta e pós-tratamento fotocatalítico heterogêneo utilizando  $\text{TiO}_2$  /UV. As médias encontradas foram de CE(I)50; 48h igual a 6%, 7% e 6% respectivamente.

Silva (2002), também realizou ensaios com chorume do aterro sanitário do Rio de Janeiro, analisando a ecotoxicidade do efluente bruto e após diversos tipos de tratamento que foram: efluente pré-tratado, efluente ozonizado, efluente fracionado, permeados submetidos ao arraste com ar para remoção de amônia e efluente pré-tratado submetido ao arraste para remoção de amônia. Os resultados para os ensaios agudos com o efluente bruto com *Daphnia similis* foram: CE(I)50;48h de 2,04% e 2,26%. Para confirmar se o efeito tóxico causado com o organismo *Daphnia similis* foi provocado pela salinidade, foram realizados novos testes com correção da salinidade e os resultados foram idênticos aos obtidos sem a correção. Portanto, Silva (2002) comprovou que a ecotoxicidade do chorume bruto para *Daphnia similis* não foi causada somente pela salinidade. Para os chorumes pré-tratados com coagulação/floculação, os resultados para as duas coletas foram 6,42% e 2,78%, demonstrando certa diminuição da ecotoxicidade em relação ao efluente bruto. O tratamento com ozônio também apresentou uma redução de ecotoxicidade à medida que foi aumentada a sua concentração (0,1, 0,5, 1,5 e 3,0 g/L de  $\text{O}_3$ ), sendo as CE(I)50; 48h encontradas respectivamente: 2,45%, 2,58%, 3,60%, 4,46%.

A autora Silva (2002) ainda ressalta que, de todos os ensaios, evidencia-se que não se pode atribuir à amônia, isoladamente, a causa da ecotoxicidade do efluente. A ecotoxicidade do chorume tem sido pouco correlacionada com a concentração de amônia e a DQO. No entanto, a remoção conjunta destes dois parâmetros parece reduzir a ecotoxicidade do chorume.

Esta hipótese orientou o trabalho desenvolvido por Martinem *et al.* (2002) que, em seu experimento para remoção da amônia por arraste com ar, verificou que o chorume apresentou uma ecotoxicidade mais elevada para *Daphnia*, mesmo quando cerca de 89% de amônia havia sido removida. A justificativa para o efeito tóxico observado nesse experimento foi o ajuste de pH, que foi aumentado para 11. No pH 11 toda a amônia encontra-se na forma não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), que é mais tóxica a organismos aquáticos que a forma ionizada (íon amônio,  $\text{NH}_4^+$ ); isto explica por que, mesmo com uma concentração menor de amônia, a toxicidade desse chorume foi maior que a da amostra original, normalmente com pH inferior a 8,3 (amônia ionizada).

## DANIO RERIO

Adultos de *Danio rerio* (Figura 4) atingem comprimento médio de 4,5 cm, Laale, (1977). Os sexos podem ser reconhecidos facilmente: os machos são alongados, delgados e levemente dourados, especialmente no abdome e nas nadadeiras peitoral e caudal, e apresentam a lista abdominal completa. As fêmeas são robustas, ligeiramente maiores que os machos e prateadas, normalmente apresentam o abdome muito inchado devido ao desenvolvimento de ovos e a lista abdominal é incompleta, sendo apenas evidente nos terços anterior e posterior do peixe (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

*Danio rerio* é uma espécie ovípara. A primeira desova pode ocorrer quando as fêmeas atingem comprimento-padrão de 25 mm e os machos, 23 mm, comprimento atingido por volta dos 75 dias de idade, quando mantidos a 25-26°C (LAALE, 1977).



**Figura 4 - *Danio rerio***

Silva (2002) analisou duas amostras do chorume bruto do aterro de Gramacho no Rio de Janeiro utilizando o organismo *Danio rerio* e encontrou valores de CL(I)50;48h igual a 2,24%, para ambas as amostras. Já o ensaio realizado com chorume pré-tratado (coagulação/floculação) com o arraste de ar para remoção de amônia apresentou-se menos tóxico com CL(I)50 igual a 7,07% sendo que a amostra do chorume ozonizado com 3,0 g/L de O<sub>3</sub> apresentou ecotoxicidade igual a 15,87%. Segundo esta autora, embora seja um organismo dulcícola, este peixe pode ser considerado também como um organismo estuarino. Além disso, Silva (2002) também ressalta que dentre os inúmeros compostos presentes no chorume que podem causar ecotoxicidade, a amônia merece destaque porque se apresenta em altas concentrações.

Ensaio de ecotoxicidade como os apresentados no presente trabalho ganham relevância em relação ao chorume de aterro sanitário, em decorrência do disposto na Resolução CONAMA 430 de 2011 que estabelece para o chorume exigência equivalente aos dos efluentes industriais.

## OBJETIVO

No presente estudo foram realizados ensaios ecotoxicológicos com o chorume proveniente de um aterro sanitário localizado na Região Sul do Brasil, o qual se encontra encerrado, com produção do chorume de aproximadamente 80 m<sup>3</sup> por dia.

O objetivo principal do trabalho é efetuar ensaios ecotoxicológicos com cada etapa de tratamento, realizado em escala de laboratório, usando amostras do chorume mencionado acima. Nos ensaios foram usados como organismos-testes o microcrustáceo *Daphnia similis* e o peixe *Danio rerio*, avaliando também a sensibilidade relativa desses organismos ao chorume em estudo. Além disso, pretende-se avaliar a eficácia da redução de ecotoxicidade decorrente de cada etapa do tratamento do chorume.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados ensaios com amostras do chorume bruto e de suas etapas de tratamento, como segue descrito:

Ensaio 1: Amostra do chorume bruto;

Ensaio 2: Amostra após a etapa de clarificação físico-química;

Ensaio 3: Amostra com o chorume após ser tratado com reator biológico aeróbio.

O tratamento físico-químico consistiu em clarificação físico-química com 16g de cal, seguido de 4 (quatro) horas de *stripping* (arraste com ar) para remoção de amônia e correção de pH com CO<sub>2</sub>. Já o processo biológico foi o de lodos ativados, na variante aeração prolongada.

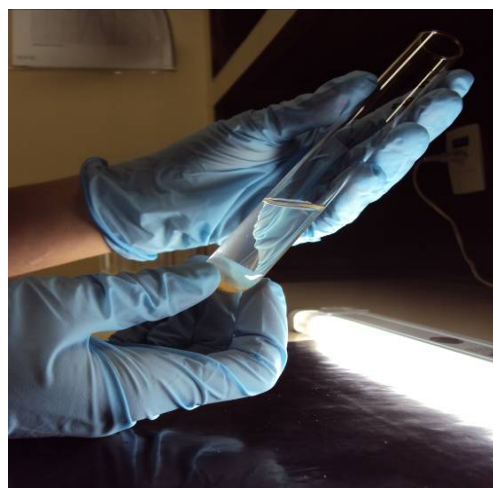
Parâmetros físico-químicos como DQO, condutividade e nitrogênio amoniacal foram registrados em cada uma das etapas de tratamento. Além disso, os parâmetros de oxigênio dissolvido (OD), pH e porcentagem de letalidade/mobilidade no controle foram monitorados no final de cada ensaio. Os ensaios foram considerados válidos se, ao final do mesmo, não houvesse valores de OD abaixo de 2 mg/L de O<sub>2</sub> e se não houvesse imobilidade (no caso da *Daphnia similis*) e letalidade (no caso de *Danio rerio*) acima de 10% no grupo controle.

### ENSAIO COM *DAPHNIA SIMILIS*

Os ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia similis* foram realizados de acordo com a norma ABNT-NBR 12713 (2009) sendo os mesmos realizados em tubos de ensaios aferidos para 10 mL, com cinco diluições (mais o controle) e quatro replicatas (**Figura 5**). A água utilizada para a diluição foi a água mineral. Foram colocados 5 (cinco) filhotes em cada tubo, sendo que a idade dos mesmos era de 6-24h. Os neonatos foram alimentados sempre 2h antes dos ensaios. O fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro foi utilizado na incubadora de ensaio que foi mantida sob temperatura de 20 °C ±2. Após 48h, fazia-se a leitura da mobilidade (**Figura 6**). Os resultados foram expressos em CE (I)50; 48h que significa concentração inicial que causa efeito (imobilidade) a 50% dos organismos em 48h. Para o cálculo estatístico foi utilizado o método Trimmed Spearman-Kärber (TSK).



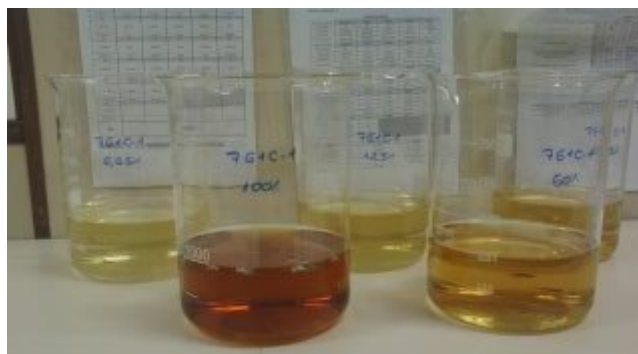
**Figura 5 - Série de cinco diluições (mais o controle) de um ensaio com *Daphnia similis***



**Figura 6 - Leitura de mobilidade dos organismos a após 48h**

### ENSAIO COM *DANIO RERIO*

Com relação ao ensaio com o peixe *Danio rerio*, os mesmos foram realizados de acordo com a ABNT NBR 15088 (2004). O ensaio consiste na exposição de 10 (dez) organismos em 5 (cinco) concentrações numa razão crescente e um volume total de 2 litros. A água de diluição utilizada foi água mineral. No final de cada ensaio, foram registrados os valores de pH, oxigênio dissolvido e a letalidade dos organismos. Os resultados foram expressos em CL(I)50; 48h que significa concentração inicial que causa letalidade a 50% dos organismos. O método estatístico utilizado para o cálculo também foi o Trimmed Spearman-Kärber (TSK). A **Figura 7** apresenta uma das etapas do ensaio realizado.



**Figura 7 - Ensaio de ecotoxicidade aguda com o chorume bruto utilizando o peixe *Danio rerio***



Após a estimativa dos valores de CL (I) 50; 48h e CE (I) 50; 48h, foi calculada a porcentagem de redução de ecotoxicidade através da equação 1.

#### Cálculo para redução de ecotoxicidade (ISIDORI *et al.*, 2003)

Porcentagem de redução de ecotoxicidade =  $1 - (\text{CL (I) 50 Bruto} / \text{CL (I) 50 Tratado}) \times 100$  equação (1)

## RESULTADOS

Os resultados dos ensaios estão apresentados na **Tabela 1**. O ensaio 1 foi realizado com o chorume bruto, o ensaio 2 foi realizado com o chorume clarificado e o ensaio 3 foi realizado com o chorume após o tratamento biológico. A **Figura 8** mostra a coloração do chorume nas três etapas de tratamento.



**Figura 8. Chorume de Rio Grande do Sul.  
(Bruto-Clarificado-Após Tratamento Biológico)**

**Tabela 1. Resultados de ecotoxicidade com o chorume da Região Sul do Brasil.**

Chorume da região Sul do Brasil	CE (I) 50;48h ( <i>Daphnia similis</i> )	CL(I)50;48h ( <i>Danio rerio</i> )
<b>Ensaio 1</b> (Amostra bruta)	1,88	1,18
<b>Ensaio 2</b> (Após clarificação)	5,94	3,93
<b>Ensaio 3</b> (Após tratamento biológico)	72,37	39,91

**Obs.** Resultados expressos em porcentagem

A **Tabela 2** apresenta os resultados das análises físico-químicas das três amostras de chorume estudadas.

**Tabela 2. Resultados físico-químicos do chorume da Região Sul do Brasil ao longo do tratamento.**

Dados físico-químicos do chorume da Região Sul do Brasil			
	DQO (mg de O <sub>2</sub> /L)	Condutividade (μS/cm)	Nitrogênio Amoniacal (mg de N/L)
<b>Amostra Bruta</b>	14569	16650	1234
<b>Após Clarificação</b>	671	11790	422
<b>Após reator biológico</b>	661	10250	10

Como pode ser observado, o chorume também se apresentou extremamente tóxico aos dois organismos principalmente na amostra bruta e após clarificação físico-química. Porém, o ensaio com o chorume tratado (após a etapa biológica) apresentou uma drástica redução de ecotoxicidade, principalmente a *Daphnia similis*. Essa grande redução de ecotoxicidade pode ser atribuída à baixa quantidade de nitrogênio amoniacal no chorume tratado em relação ao bruto, que era 1234 mg/L de N e passou para 10 mg/L de N no tratado. Com relação à condutividade, essa não foi reduzida significativamente, passando de 16550  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para 10550  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Também houve uma grande redução da DQO passando de 14569 mg/L em  $\text{O}_2$  na amostra do bruto para 661 mg/L em  $\text{O}_2$  na amostra do tratado.

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam as variações de pH, OD (oxigênio dissolvido) e letalidade/mobilidade do grupo controle de cada ensaio.

**Tabela 3. Resultados dos parâmetros monitorados nos ensaios do chorume bruto do Rio Grande do Sul.**

	<i>Daphnia similis</i>			<i>Danio rerio</i>		
	Variação de pH nos tubos	Variação de OD nos tubos	Porcentagem de imobilidade no controle	Variação de pH nos béqueres	Variação de OD nos béqueres	Porcentagem de letalidade no controle
<b>Ensaio 1</b>	5,98-6,37	7,04-8,65	0%	4,01-5,82	7,14-8,03	0%

OD – Oxigênio dissolvido

**Tabela 4. Resultados dos parâmetros monitorados no ensaio do chorume do Rio Grande do Sul após clarificação físico-química**

	<i>Daphnia similis</i>			<i>Danio rerio</i>		
	Variação de pH nos tubos	Variação de OD nos tubos	Porcentagem de imobilidade no controle	Variação de pH nos béqueres	Variação de OD nos béqueres	Porcentagem de letalidade no controle
<b>Ensaio 2</b>	7,41-8,81	6,02-7,58	0%	7,40-7,76	5,44-6,02	0%

OD – Oxigênio dissolvido

**Tabela 5. Resultados dos parâmetros monitorados no ensaio do chorume do Rio Grande do Sul após tratamento biológico.**

	<i>Daphnia similis</i>			<i>Danio rerio</i>		
	Variação de pH nos tubos	Variação de OD nos tubos	Porcentagem de imobilidade no controle	Variação de pH nos béqueres	Variação de OD nos béqueres	Porcentagem de letalidade no controle
<b>Ensaio 3</b>	7,36-8,48	5,8-6,84	0%	7,28-7,32	5,0-6,33	0%

OD- Oxigênio dissolvido

Segundo as Tabelas 3, 4 e 5, os ensaios realizados foram considerados válidos, pois os parâmetros de OD não se encontraram abaixo de 2 mg/L de  $\text{O}_2$ , não houve muita variação de pH e a sobrevivência dos controles se encontrou satisfatória, ou não seja, não houve letalidade/mobilidade acima de 10% dos organismos.

A Tabela 6 apresenta os resultados de redução de ecotoxicidade das três etapas de tratamento do chorume do aterro sanitário do Rio Grande do Sul para o organismo *Daphnia similis*.

**Tabela 6. Redução de ecotoxicidade do chorume oriundo de um aterro localizado na Região Sul do Brasil para *Daphnia similis*.**

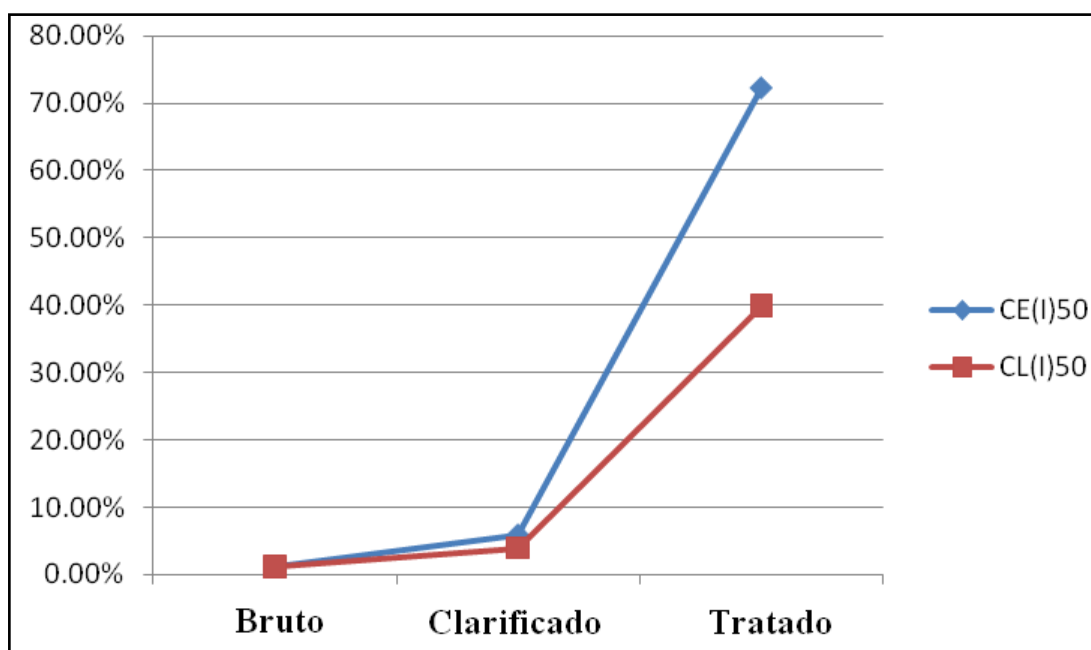
Redução de Ecotoxicidade	CL(I)50;48h
Bruto-Clarificado	70%
Clarificado-Tratado	90%
Bruto-Tratado	98%

A **Tabela 7** apresenta os resultados de redução de ecotoxicidade das três etapas de tratamento do chorume do aterro sanitário do Rio Grande do Sul para o organismo *Danio rerio*

**Tabela 7. Redução de ecotoxicidade do chorume oriundo de um aterro localizado na Região Sul do Brasil para *Danio rerio***

Redução de Ecotoxicidade	CE(I)50; 48h
Bruto-Clarificado	68%
Clarificado-Tratado	92%
Bruto-Tratado	98%

Pelos dados das **Tabelas 6, 7 e da Figura 10**, pode-se observar que a sensibilidade dos dois organismos encontrou-se parecida até o chorume clarificado, porém, o chorume tratado desse aterro apresentou uma grande redução de ecotoxicidade principalmente ao organismo *Daphnia similis* com CE(I)50;48h igual a 72,37%, em contraste com a resposta do peixe *Danio rerio* com CL(I)50;48h igual a 39,91%, que também apresentou grande redução de ecotoxicidade, porém menos que a *Daphnia similis*.



**Figura 10 - Sensibilidade de *Daphnia similis* e *Danio rerio* com o chorume de Rio Grande do Sul**

## CONCLUSÕES

Apesar desse chorume bruto oriundo do aterro sanitário localizado na Região Sul do Brasil ter se mostrado muito tóxico aos dois organismos, o tratamento apresentado no presente estudo apresentou resultados bastante significativos com relação à redução de ecotoxicidade, principalmente a *Daphnia similis*.

A redução de nitrogênio amoniacal parece ter contribuído de maneira significativa para a redução de ecotoxicidade aos organismos em estudo, demonstrando ser um parâmetro importante no monitoramento do tratamento no chorume. Foi possível verificar redução da concentração de amônia superior a 99% e pH final compatível com o da amônia na forma ionizada. A redução da concentração da amônia associada à redução da concentração de matéria orgânica (DQO) da ordem de 95% resultou em diminuição da ecotoxicidade. De fato, como resultado do processo global do tratamento considerado, foi obtida redução de toxicidade da ordem de 98% para a *Daphnia similis* e para o *Danio rerio*.

A redução significativa de toxicidade comprovada pelos ensaios apresentados vem corroborar as determinações contidas na Resolução CONAMA 430 de 2011, a qual estabelece a classificação do chorume como a de um efluente industrial distinto dos esgotos sanitários comuns.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT) NBR 12713 Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda: Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea). Rio de Janeiro. 2009. 23p
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT) NBR 15088 Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda : Método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro. 2006. 19p
3. BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados*. 4º Ed. São Paulo: Livraria Roca Ltda. 1984. 1179 p.
4. BUIKEMA, A. L, Jr.; SHERBERGER, S. R. *Daphnia. Carolina Tips*. Vol. XL nº 10 – Carolina Biological Supply Company, ISSN 0045-5865. 1977
5. BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGGATO, P.A.. Evaluation of *Daphnia similis* as tests species in ecotoxicological assays. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 73: 878 -882. 2004
6. CARNIATO, J, G; GERALDO, S, M; PELEGRINI, N, N, B; PATERNIANI, J, E, S; PELEGRINI, R, T. Revista Engenharia Ambiental – Espírito Santo do Pinhal, v. 4, n.2, p. 092-101. Jul/Dez 2007.
7. COSTAN, G.; BERMINGHAM, N.; BLAISE, G.; FERARD, J. F. Potencial Exotoxic Effects Prob (PEEP): a novel index to assess and compare the toxic potencial of industrial effluents. *Environmental Toxicology and Water Quality: an International Journal*, vol. 8. 1993.
8. ISIDORI, M., LAVORGNA, M. NARDELLI, & PARRELLA, A. Toxicity identification evaluation of leaches from municipal solid waste landfills: a multispecies approach. *Chemosphere*. 2003. Vol.52: 85-94,
9. GIORDANO, G. Análise e formulação de processos para tratamento dos chorumes gerados em aterros de resíduos sólidos urbanos. 257 pg. Tese de Doutorado – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC). Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia. Rio de Janeiro, 2003
10. LAALE, H. W. The biology and us of zebrafish, *Danio rerio* in fisheries research. A literature review. *J. Fish Biol.* Vol. 10, 121-173. 1977
11. MARTTINEN, R, S; KETTUNEN, K. SORMUNEN, R. SOIMASUO e J. RINTALA, “Screening of physical-chemical methods for removal of organic material, nitrogen and toxicity from low strength landfill leachates”, *Bioresource Technology*, vol. 54, pp. 17–20, 2002.
12. SILVA, A. C. Tratamento do Chorume de Aterro Sanitário e Avaliação da Toxicidade Rio de Janeiro. 2002 79 p., 29,7 cm, Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE.
13. ZAGGATO, P. A., BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. Rima, São Carlos, SP. 2006. 464 p.

**SITES CONSULTADOS**

1. BRESSAN, L. Enciclopédia Animal. <http://enciclopediaanimal.wordpress.com/las-dafnias-o-daphnias/> (acessado em: 23/05/2010)
2. <http://aquamundi.com.br/blog/guia-de-peixes-danio-rerio-brachydanio-rerio-zebrafish-ou-paulistinha.html> (acessado em 11/05/2011)
3. TheEbertGroup  
<http://www.evolution.unibas.ch/ebert/publications/parasitismdaphnia/ch2.htm> (acessado em 11/05/2011).