

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DE VELOCIDADE E
PRESSÃO SOBRE *Limnoperna fortunei* DUNKER,
1857 (BIVALVIA, MYTILIDAE) E VERIFICAÇÃO DOS
EFEITOS DA TOXICIDADE DO LÁTEX DE
Euphorbia splendens VAR. *hislopii* N. E. B.
(EUPHORBIACEAE) PARA ESTA ESPÉCIE**

Cláudia Marques Gonçalves Simeão

Belo Horizonte

2011

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DE VELOCIDADE E
PRESSÃO SOBRE *Limnoperna fortunei* DUNKER,
1857 (BIVALVIA, MYTILIDAE) E VERIFICAÇÃO DOS
EFEITOS DA TOXICIDADE DO LÁTEX DE
Euphorbia splendens VAR. *hislopii* N. E. B.
(EUPHORBIACEAE) PARA ESTA ESPÉCIE**

Cláudia Marques Gonçalves Simeão

Cláudia Marques Gonçalves Simeão

INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DE VELOCIDADE E PRESSÃO SOBRE *Limnoperna fortunei* DUNKER, 1857 (BIVALVIA, MYTILIDAE) E VERIFICAÇÃO DOS EFEITOS DA TOXICIDADE DO LÁTEX DE *Euphorbia splendens* VAR. *hislopii* N. E. B. (EUPHORBIACEAE) PARA ESTA ESPÉCIE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de doutor.

Área de concentração: Meio Ambiente

Linha de pesquisa: Avaliação e gerenciamento de impactos e riscos ambientais

Orientador: Carlos Barreira Martinez

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2011

Agradecimentos

À Deus, por tudo.

Ao Professor Carlos Barreira Martinez. Muito obrigada por sua orientação, compreensão e pelas discussões (que não foram poucas) tão valiosas que contribuíram (e contribuem) para a minha formação. Obrigada por sua amizade, incentivo, apoio e confiança.

Ao meu amigo, Luiz Gustavo Martins da Silva, quem me incentivou para fazer o doutorado.

Ao engenheiro Márcio Figueiredo de Resende, que apesar de termos pouco convívio, me ajudou muito e mostrou ser uma pessoa ímpar.

Ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, pela oportunidade.

À Edna Maria de Faria de Viana, pelos ensinamentos e amizade.

À Denise, que esteve ao meu lado durante todo o tempo dando seu apoio, conselhos e ouvindo minhas lamentações. Uma pessoa que teve paciência para ajudar uma bióloga a começar a entender um pouco de engenharia, com muitas e muitas horas de aulas particulares. Obrigada por tudo.

Aos engenheiros Flávio Nakamura Alves Silva, Clodualdo Venício de Sousa e Danilo Derick Silva Alves. Muito obrigada pela dedicação, paciência e boa vontade.

À Professora Teofânia H. D. A Vidigal, profissional super dedicada e apaixonada, que tornou-se uma grande amiga. Meu muito obrigada por todo seu empenho em me ajudar.

Ao Daniel Coscarelli, amigo para todas as horas. Uma das pessoas mais dedicadas e prestativas que eu já conheci. Por amor à profissão, me acompanhou em todos os trabalhos de campo e dividiu comigo toda a rotina dos testes laboratoriais. Sem a sua ajuda, talvez não fosse possível a realização desta etapa.

À Dalva Maria Rocha da Luz, amante da biologia e técnica do LELf. Obrigada por sua alegria, seu profissionalismo, carinho e dedicação.

À Luciana (estagiária do LELf) e Lângia Colli Montresor, pelos “socorros” nos experimentos.

À Sílvia M. Gandolfi, pelas preciosas contribuições durante a construção do LELf.

À CAPES, pela concessão da bolsa no primeiro semestre e ao CNPq, pela concessão da bolsa durante o restante do curso.

À Eletrobrás Furnas Centrais Elétricas S. A., pelo financiamento do projeto.

À Itaipu Binacional, pelo apoio logístico e liberação das coletas e pesquisas, sem os quais seria impossível a execução deste projeto. Em especial, quero agradecer aos funcionários da Divisão de Meio Ambiente e Reservatório (MARR.CD), Dr. Domingo Rodriguez Fernandez e Sandro Alves Heil, pelo apoio logístico e participação durante toda as etapas de campo. Meu muito obrigada aos estagiários Eduardo Gomes Nunes e Fábio Floss, que submergiam as placas, mensalmente, para a posterior coleta de dados. Aos funcionários da Divisão de Serviços da Diretoria de Coordenação (ADMS.CD), Paulo Sérgio Mello de Faria e Silva e Manoel Ronaldo Fonseca. Quero agradecer também ao apoio de coleta e embarcação que recebi durante todo o tempo, com muita dedicação, pelos funcionários terceirizados José Pedro Lazarin, Jair Ribeiro, Adinaldo Vieira da Silva e Juarez Augusto do Amaral. Ainda, quero agradecer ao apoio recebido pelo funcionário terceirizado Nevaldo Fernando Kunz, durante a montagem do aparato de pesquisa.

À Companhia Energética de Minas Gerais – CEMIG, especialmente às biólogas Maria Edith Rolla e Hélen Regina Mota, pelo fornecimento de muitas informações importantes sobre *Limnoperna fortunei*.

Aos funcionários do Centro de Pesquisas Hidráulicas e Recursos Hídricos (CPH), Paulinho, Vicente, Geraldo, Márcio Lourenço, Luiz, João, Sr. Nelson, Sr. Hirton, Marcos, Humberto e Edmilson, pelas ajudas indispensáveis.

Aos estagiários, hoje engenheiros, que passaram pelo CPH e fizeram parte deste projeto: Vítor Lages, Bruno Daniel Castro Teixeira, Camila Moreira Queiroz, César Augusto Muniz Toledo, Fernando Luis Fonseca de Oliveira Tomé, Leandro Gontijo Soares e Renato Moreira de Araújo.

Aos colegas: Vivi, Paulo, Hersília, Paulo Pompeu, Mara e Júlio, que me receberam no CPH com muito carinho.

Aos estagiários de engenharia mecânica Samuel Marinho de Oliveira Gonçalves, Thiago Borges Oliveira Silva e Caio Cramer Almeida Marques pelas tentativas de utilização do Autocad e SolidWorks nos cálculos de volume de mexilhões e pelos desenhos das bancadas experimentais.

À Iara, secretária do DESA, por sua prestatividade.

À Dra. Clélia Christina Mello-Silva, do Instituto Oswaldo Cruz-RJ, por sua disponibilidade em me ensinar a metodologia para o trabalho experimental com o látex de *Euphorbia splendens* e pelo fornecimento das amostras.

À Professora Arnola Cecília Rietzler (Laboratório de Ecotoxicologia – ICB/UFMG), por ceder o laboratório para os testes ecotoxicológicos e fornecimento das espécies de *Daphnia* sp. e *Ceriodaphnia* sp.

À Professora Alessandra Giani Pinto-Coelho (Laboratório de Ficologia – ICB/UFMG), pelo fornecimento das matrizes de algas.

À Débora Chaves Moraes, pelos ensinamentos quanto à criação/manutenção de algas.

À Professora Paulina Maria Maia Barbosa, pelos esclarecimentos e artigos fornecidos.

Ao Heron Domingues, funcionário da empresa Belgo Bekaert Arames S. A, pelas análises do aço utilizado como corpos de prova.

Ao Professor Marco Túlio Corrêa de Faria, pelo *abstract* e preciosas sugestões.

Ao meu primo e estatístico, Luiz Otávio, por ter paciência em responder a tantas perguntas e questionamentos.

A ABG Consultoria Estatística, pela consultoria em relação às melhores formas para analisar os dados obtidos.

À Ana Paula Martins Oliveira, do setor COMUT da Biblioteca do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, por atender às minhas listas intermináveis de artigos.

Ao Mateus, meu filho, por sua paciência, por seu amor, sua alegria e força para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada e desculpas por eu ter dividido o seu tempo com tantas outras coisas... Você é a maior razão de toda a minha luta e perseverança. Muito obrigada por você existir!

Ao meu marido, pelo apoio, compreensão, paciência e carinho imprescindíveis.

Aos meus pais, por tudo que são.

À minha avó Elfa, que, com certeza, está feliz por me ver carregar este título. Todas as suas bênçãos foram muito importantes...

À minha família, especialmente aos meus primos Fernanda, Jussara, Guilherme (primo torto, aliás, bem direito), Letícia e Patrícia, e a minha tia e madrinha Geninha, pela paciência para escutar casos e mais casos de biologia e por me darem tanto apoio e incentivo.

Ao meu sogro, José Simeão, uma pessoa que está sempre vibrando com as etapas vencidas.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a finalização desta etapa, ou o início de muitas outras...

Para Mateus e José Ronaldo.

“A cada dia que vivo,
mais me convenço de que
o desperdício da vida
está no amor que não damos,
nas forças que não usamos,
na prudência egoísta que nada arrisca,
e que, esquivando-se do sofrimento,
perdemos também a felicidade.”

Carlos Drumond de Andrade

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos levantar a perda de carga provocada pela infestação de *Limnoperna fortunei* em condutos forçados, avaliar a eficiência moluscicida do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, avaliar o efeito de altas pressões e descompressões e verificar a velocidade mínima de água necessária para a soltura de *L. fortunei* após a incrustação em aço carbono. Os testes de escoamento em condutos forçados com diâmetros de 2in, 2 ½in, 3in e 4in foram realizados com conchas de animais mortos fixadas nestas tubulações com Araldite®. Foi mostrado que a infestação promove acréscimos significativos nas perdas de carga distribuídas, para diversos níveis de vazão. Para avaliar a toxicidade do látex, indivíduos foram expostos, em laboratório, a concentrações de 0,1 a 1000 ppm em 3 temperaturas (18°C, 20°C e 22°C) por 24 a 240 horas. O tamanho dos mexilhões e a temperatura influenciam na resposta. Entretanto, nenhuma das concentrações causou a mortalidade de 50% dos indivíduos expostos em 24 horas. Os testes de pressão foram realizados em campo através da submissão de indivíduos, por 5 minutos, a pressões que variaram de 10 a 130 mca e despressurizações instantâneas. Os resultados mostraram que essas variações não foram prejudiciais ao mexilhão. Os ensaios de velocidade também foram realizados em campo, com placas submersas por 5 a 13 meses contendo mexilhões incrustados. No interior do aparato, as vazões foram aumentadas sequencialmente até que todos os mexilhões fossem soltos. A velocidade máxima de fluxo de água necessária para a soltura do mexilhão foi 2,87 m/s. Ao final, é apresentado um conjunto de recomendações para a continuidade dos trabalhos.

ABSTRACT

This work describes a study developed to evaluate the impact of *Limnoperna fortunei* in water closed conduits and test some mechanisms for reduction of its incrustation in industrial pipelines. The main goals of this study are to estimate the hydraulic head loss in closed conduits caused by the *L. fortunei* incrustation, to evaluate the efficiency of the molluscicides based on the latex extracted from the *Euphorbia splendens* var. *hislopii* to control *L. fortunei* infestation, to assess the effects of high pressure gradients on *L. fortunei* incrustation, and to determine the minimum flow speed capable of pulling away the individuals of *L. fortunei* incrustated in steel pipelines. Several experimental tests are performed on closed conduits with diameters of 2in, 2 ½ in, 3in, and 4in, in which shells of death individuals have been fixed with Araldite®. The experimental results show that the infestation of *L. fortunei* provokes significant increases in the hydraulic loss for several levels of flow rate. In the evaluation of the latex toxicity, individuals are exposed in laboratory to concentration of 0.1 to 1000 ppm, at three temperatures (18C, 20C, and 22C), during 24 and 240 hours. The results show that the individual size and the temperature affect the response of the *L. fortunei* to the latex toxicity. However, no latex concentration is able to kill 50% of the exposed individuals in 24 hours. The evaluation of the pressure gradient effects is carried out in field, by exposing individuals to pressure variations of 10 and 130 mca and instantaneous depressurizations. The results show that the pressure gradients are not harmful to the *L. fortunei*. The flow speed tests are also performed in field, using grid plates with incrustated individuals submersed during 5 and 13 months. In the experimental apparatus the flow rates are increased until all individuals are pulled away from the grids. The maximum flow speed for the *L. fortunei* release is about 2.87 m/s. At the end of this work, several recommendations and suggestions are presented aiming at the research continuity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. ESPÉCIES DE MOLUSCOS AQUÁTICOS INVASORES: UM PROBLEMA AMBIENTAL	1
1.2. O MOLUSCO INVASOR <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i> DUNKER, 1857 (BIVALVIA, MYTILIDAE): IMPACTO AMBIENTAL E ECONÔMICO	3
1.3. LABORATÓRIO DE CRIAÇÃO/MANUTENÇÃO DE MOLUSCOS INVASORES.....	5
1.4. MEDIDAS FÍSICAS E QUÍMICAS PARA O CONTROLE DE MEXILHÃO DOURADO	7
2. OBJETIVOS	10
2.1. OBJETIVO GERAL.....	10
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
2.2.1. <i>Levantamento da perda de carga provocada pela infestação do mexilhão dourado em sistemas hidráulicos.....</i>	<i>10</i>
2.2.2. <i>Avaliação de látex de Euphorbia splendens var. hislopii como moluscicida para mexilhão dourado</i>	<i>10</i>
2.2.3. <i>Avaliação do efeito de pressão sobre o mexilhão.....</i>	<i>10</i>
2.2.4. <i>Avaliação da velocidade da água para soltura do mexilhão após fixação em aço ASTM A-36.....</i>	<i>11</i>
3. REVISÃO DA LITERATURA	12
3.1. A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA DE LASTRO NA DISPERSÃO DE ESPÉCIES AQUÁTICAS INVASORAS	12
3.2. <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	13
3.2.1. <i>Características</i>	<i>13</i>
3.2.2. <i>Áreas de ocorrência</i>	<i>18</i>
3.2.3. <i>Impactos ambientais</i>	<i>20</i>
3.2.4. <i>Impactos econômicos</i>	<i>22</i>
3.2.5. <i>Medidas de controle</i>	<i>25</i>
3.3. USO DE MOLUSCICIDAS NATURAIS NO CONTROLE DE MOLUSCOS DULCÍCOLAS	27
3.4. TOXICIDADE PARA ORGANISMOS AQUÁTICOS: AVALIAÇÃO DE IMPACTO AMBIENTAL NO USO DE MOLUSCICIDAS	30
4. METODOLOGIA.....	36
4.1. REPRODUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE RUGOSIDADE PARA EXPERIMENTAÇÃO COM <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	36
4.2. BANCADAS DE TESTES EM CONDUTO FORÇADO PARA EXPERIMENTAÇÃO COM <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	38
4.2.1. <i>Aparato para teste de perda de carga com conchas de indivíduos mortos.....</i>	<i>38</i>
4.3. LABORATÓRIO DE CRIAÇÃO/MANUTENÇÃO DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	42
4.3.1. <i>Espaço físico.....</i>	<i>42</i>
4.3.2. <i>Equipamentos.....</i>	<i>45</i>
4.3.3. <i>Efluentes do LELf.....</i>	<i>46</i>

4.3.4.	<i>Criação/manutenção de L. fortunei em laboratório</i>	48
4.3.4.1.	Coleta de indivíduos.....	48
4.3.4.2.	Manutenção dos indivíduos em laboratório.....	50
4.3.4.3.	Alimentação dos indivíduos.....	51
4.3.4.4.	Criação/manutenção das culturas de algas.....	52
4.4.	EXTRATO AQUOSO DO LÁTEX DE <i>EUPHORBIA SPLENDENS</i> VAR. <i>HISLOPII</i> COMO CONTROLE QUÍMICO DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	53
4.4.1.	<i>Obtenção do látex de Euphorbia splendens var. hislopii</i>	53
4.4.2.	<i>Preparo das soluções concentradas para determinação das doses letais</i>	54
4.4.2.1.	Preparo da solução mãe e das demais concentrações.....	54
4.4.2.2.	Análise físico-química da solução aquosa do látex.....	55
4.4.3.	<i>Exposição ao látex</i>	55
4.4.3.1.	Seleção de indivíduos para os bioensaios.....	55
4.4.3.2.	Bioensaios de 24 horas.....	55
4.4.3.3.	Bioensaios de 240 horas (10 dias).....	57
4.4.4.	<i>Análises estatísticas</i>	57
4.4.4.1.	Exposição ao látex por 24 horas.....	57
4.4.4.2.	Exposição ao látex por 240 horas (10 dias).....	58
4.4.5.	<i>Experimento de toxicidade do látex de Euphorbia splendens var. hislopii para Daphnia sp. e Ceriodaphnia sp.</i>	59
4.5.	AVALIAÇÃO DA PRESSÃO SUPOSTADA POR <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	60
4.5.1.	<i>Aparato de pressão</i>	60
4.5.2.	<i>Separação dos indivíduos para teste</i>	62
4.5.3.	<i>Teste de pressão</i>	63
4.5.4.	<i>Avaliação dos indivíduos após o teste</i>	65
4.5.5.	<i>Análise estatística</i>	66
4.6.	AVALIAÇÃO DA VELOCIDADE DA ÁGUA PARA SOLTURA DO MEXILHÃO EM RELAÇÃO À FIXAÇÃO EM CHAPAS DE AÇO ASTM A-36.....	67
4.6.1.	<i>Corpos de prova</i>	67
4.6.2.	<i>Bancada de testes</i>	67
4.6.3.	<i>Testes</i>	67
4.6.4.	<i>Coleta dos mexilhões soltos durante os testes</i>	69
4.6.5.	<i>Cálculo da velocidade mínima para remoção de L. fortunei aderido às placas de ensaio</i>	71
4.6.5.1.	Cálculo do volume dos mexilhões.....	71
4.6.6.	<i>Análises estatísticas</i>	74
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
5.1.	CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS EM CONDUTOS FORÇADOS SOB INFESTAÇÃO DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	75
5.2.	AÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DO LÁTEX DE <i>EUPHORBIA SPLENDENS</i> VAR. <i>HISLOPII</i> EM <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	78

5.2.1.	<i>Características físico-químicas da solução aquosa do látex de Euphorbia splendens var. hislopilii</i>	78
5.2.2.	<i>Exposição ao látex de Euphorbia splendens var. hislopilii por 24 horas</i>	79
5.2.3.	<i>Exposição ao látex de Euphorbia splendens var. hislopilii por 10 dias (240 horas)</i>	93
5.2.4.	<i>Toxicidade do látex de Euphorbia splendens var. hislopilii para Daphnia sp. e Ceriodaphnia sp.</i>	117
5.3.	PRESSÃO SUPOSTADA POR <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	120
5.4.	VELOCIDADE MÍNIMA DE REMOÇÃO DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i> APÓS ADERÊNCIA EM AÇO CARBONO	128
5.4.1.	<i>Volume de L. fortunei</i>	128
5.4.2.	<i>Velocidade de remoção</i>	133
6.	CONCLUSÕES	150
6.1.	LEVANTAMENTO DA PERDA DE CARGA PROVOCADA PELA INFESTAÇÃO DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>	150
6.2.	AVALIAÇÃO DO LÁTEX DE <i>E. SPLENDENS VAR. HISLOPII</i> COMO MOLUSCICIDA PARA O MEXILHÃO DOURADO	150
6.3.	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PRESSÃO SOBRE O MEXILHÃO DOURADO	151
6.4.	AVALIAÇÃO DA VELOCIDADE DA ÁGUA PARA SOLTURA DO MEXILHÃO DOURADO APÓS FIXAÇÃO	151
7.	RECOMENDAÇÕES	153
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	155
	APÊNDICES	166
	ANEXOS	199

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Águas deslastradas em portos comerciais: uma das maiores causas de introduções de espécies aquáticas.	13
Figura 3.2: A - detalhe da concha de <i>Limnoperna fortunei</i> ; B - população de <i>L. fortunei</i> com indivíduos adultos e jovens.	14
Figura 3.3: A – detalhe da glândula bissogênica; B – agregação de <i>Limnoperna fortunei</i>	16
Figura 3.4: <i>Limnoperna fortunei</i> . Esquema da anatomia com detalhe das correntes ciliares.	17
Figura 3.5: Mapas indicativos das áreas de ocorrência de <i>Limnoperna fortunei</i> na América do Sul (à esquerda) e no Brasil (à direita).	19
Figura 3.6: <i>Limnoperna fortunei</i> incrustado na concha de <i>Corbicula fluminea</i>	21
Figura 3.7: À esquerda: “pacu” encontrado no Pantanal Matogrossense com o intestino obstruído pela grande quantidade de conchas inteiras de <i>L. fortunei</i> . À direita: “armado” encontrado morto no reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu/PR com muitas conchas inteiras de <i>L. fortunei</i> no intestino.	22
Figura 3.8: À esquerda: <i>Limnoperna fortunei</i> incrustado no interior de tubulações. À direita: acúmulo de <i>L. fortunei</i> no sistema de refrigeração do gerador de uma usina hidrelétrica.	24
Figura 3.9: Grade de tomada d’água de uma Usina Hidrelétrica incrustada com <i>L. fortunei</i>	24
Figura 3.10: A: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . B: <i>Daphnia similis</i>	34
Figura 3.11: A: <i>Daphnia laevis</i>	35
Figura 4.1: Colônia de <i>Limnoperna fortunei</i> em conduto forçado.	37
Figura 4.2: Aparato para teste de perda de carga em conduto forçado.	39
Figura 4.3: Equipamento inversor de frequência.	40
Figura 4.4: Diagrama esquemático do circuito hidráulico da bancada de testes.	40
Figura 4.5: Vista geral da bancada preparada para o início dos testes de perda de carga em condutos infestados por <i>Limnoperna fortunei</i>	41
Figura 4.6: Detalhe dos instrumentos de medição de pressão. À esquerda, circuito eletrônico – unidade de tensão e amperímetros. À direita, manômetro de tubo em “U”.	41
Figura 4.7: Detalhe da tomada de pressão. À esquerda, conexão dos piezômetros e transmissores no trecho de testes. À direita, detalhe do transmissor eletrônico de pressão.	41
Figura 4.8 : Planta do LELf - área indicada pelo contorno em negrito.	42
Figura 4.9: A: Sala 1; B e C: Sala 2; D: Sala3; E: Sala 4.	43

Figura 4.10: Pintura das paredes com material selante e tinta epóxi.....	44
Figura 4.11: Piso monolítico com rodapé arredondado.....	44
Figura 4.12: Bancada em material DuPont Corian®	45
Figura 4.13: Caixa de PVC onde ocorre o primeiro tratamento químico do efluente.	46
Figura 4.14: A: primeiro tratamento com cloro sólido. B: segundo tratamento com cloro sólido. C: Caixa de infiltração.	47
Figura 4.15: Disposição final do sistema de tratamento de efluentes do LELf.	48
Figura 4.16: A: tanque rede. B: trapiche. C e D: coleta manual de <i>Limnoperna fortunei</i>	49
Figura 4.17: A: secagem de mexilhões para acondicionamento e transporte. B: pesagem dos <i>clusters</i> após processo de secagem.	49
Figura 4.18: A e B: camada de estopa envolta em tecido de algodão. C: camada de mexilhões intercalada à estopa.....	50
Figura 4.19: Sistema de alimentação dos mexilhões em laboratório.....	52
Figura 4.20: Canteiro de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ-RJ, onde foi coletado látex.....	54
Figura 4.21: À esquerda: frascos com mexilhões e soluções de látex na incubadora sob aeração constante. À direita: detalhe dos frascos com o sistema de aeração.....	56
Figura 4.22: A: foto do aparato utilizado no teste de pressão. B: desenho esquemático do aparato de pressão...	61
Figura 4.23: À esquerda, plataforma flutuante onde estão localizadas as bombas submersas com mangueiras para condução de água. À direita, detalhe da mangueira de 2 in de abastecimento do aparato de testes.	62
Figura 4.24: Saquinho de nylon contendo 30 mexilhões (10 do grupo 1, 10 do grupo 2 e 10 do grupo 3).....	63
Figura 4.25: Saquinho de nylon com 30 mexilhões no interior do aparato de testes.	63
Figura 4.26: Mexilhões dourados em potes plásticos contendo água do rio após a realização dos testes de pressão.....	66
Figura 4.27: Coleta de mexilhões soltos em cada vazão e nos intervalos de troca de vazões. À esquerda: coleta no cilindro em inox. À direita: coleta em saco de nylon de malha 1 mm.....	70
Figura 4.28: Obtenção das medidas dos mexilhões soltos em cada vazão testada e nos intervalos de troca.	70
Figura 4.29: Conchas de mexilhões mortos preenchidas com pasta de dente para o cálculo de volume.	72
Figura 4.30: Nivelamento do menisco de mercúrio com a borda da placa.....	72
Figura 4.31: Procedimento para o cálculo de volume do mexilhão. A: mexilhão sobre o mercúrio. B: submersão do mexilhão. C: volume deslocado.....	73

Figura 5.1: Evolução da perda de carga em tubos sem infestação.	75
Figura 5.2: Evolução da perda de carga em tubos com infestação.	75
Figura 5.3: Relação entre perdas de carga com tubos infestados na densidade de infestação de 1,0 ind./cm ² e tubos sem infestação.	76
Figura 5.4: Relação entre a vazão (Q) escoada em tubos infestados e tubos sem infestação.	77
Figura 5.5: Gráfico mostrando a relação “quantidade de mortes dicotomizada” e “Grupos”. Grupo 1 (g1), 5 a 15.99 mm; Grupo 2 (g2), 16 a 25.99 mm; Grupo 3 (g3), 26 a 40.99 mm.	83
Figura 5.6: Relação entre “quantidade de mortes dicotomizada” e “temperatura”.	85
Figura 5.7: Boxplot mostrando a “quantidade de mortes dicotomizada” e “concentração de látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> ”.	87
Figura 5.8: Análise de resíduos. À esquerda: envelope de probabilidade. À direita: distância de Cook.	90
Figura 5.9: Gráfico de perfil alisado para a quantidade de sobreviventes ao longo dos 10 dias de exposição ao látex. Cada amostra foi composta de 10 indivíduos em duplicata.	107
Figura 5.10: Gráficos de perfil alisado para a quantidade de sobreviventes ao longo dos dias entre “Grupo”, “Temperatura”, “Substância” e “Concentração”. Cada amostra foi composta de 10 indivíduos em duplicata. ..	108
Figura 5.11: Curva de sobrevivência ($S_{(t)}$) estimada por Kaplan-Meier para o tempo até a morte de todos os indivíduos das amostras.	109
Figura 5.12: Curva de sobrevivência estimada por Kaplan-Meier para o tempo até a morte de toda a amostra, estratificada entre as variáveis “Temperatura”, “Grupo”, “Concentração” e “Substância”.	110
Figura 5.13: Curvas de sobrevivência estimadas pelos modelos Exponencial, Weibull e Log-Normal vs a curva de sobrevivência estimada por Kaplan-Meier.	111
Figura 5.14: Formação de pseudofezes (A) e “grumos” brancos (B) (ambos apontados pelas setas pretas). As setas brancas mostram abertura das valvas e exposição do manto.	115
Figura 5.15: Percentagem de indivíduos imóveis após 24 horas de exposição ao látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> . <i>Daphnia similis</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 e 20.0 mg/l. <i>Daphnia laevis</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg/l. <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 e 10.0 mg/l.	118
Figura 5.16: Percentagem de indivíduos imóveis após 48 horas de exposição ao látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> . <i>Daphnia similis</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 e 20.0 mg/l. <i>Daphnia laevis</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg/l. <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 e 10.0 mg/l.	118
Figura 5.17: Boxplot entre “pressão” e os “casos de morte ou não”.	123

Figura 5.18: Percentual de mortes em relação ao grupo e ao tempo de observação de mexilhões submetidos ao teste de pressão.	124
Figura 5.19: Análise de resíduos. À esquerda: envelope de probabilidade. À direita: distância de Cook.....	126
Figura 5.20: Gráfico mostrando o volume correspondente ao comprimento do mexilhão dourado.	131
Figura 5.21: Boxplot mostrando as medidas descritivas presentes na Tabela 5.44.	134
Figura 5.22: Boxplot para a quantidade de mexilhões incrustados nas placas em relação ao tempo de submersão. M = meses	135
Figura 5.23: Boxplot para as velocidades médias e máximas de soltura de <i>L. fortunei</i> em relação ao tempo de submersão.	137
Figura 5.24: Boxplot comparando as medidas descritivas entre as placas “Normais” (sem pintura) e “pintadas”.	138
Figura 5.25: Função de sobrevivência empírica até que todos os mexilhões se soltem das placas à medida em que se aumenta a velocidade.	139
Figura 5.26: Função de sobrevivência empírica até que todos os mexilhões se soltem das placas à medida em que se aumenta a velocidade, por tempo de submersão.	140
Figura 5.27: Função de sobrevivência empírica para a soltura de todos os mexilhões de acordo com o aumento da velocidade e o grupo de tamanho (G1 = até 15,99 mm; G2 = 16 a 25,99 mm).	141
Figura 5.28: Função de sobrevivência empírica para a soltura de todos os mexilhões de acordo com o aumento da velocidade e o tipo de placa.	141
Figura 5.29: Curvas de sobrevivência estimadas pelos modelos Exponencial, Weibull e Log-Normal vs curva de sobrevivência empírica.	143
Figura 5.30: Temperaturas médias da água obtidas no local onde as placas foram submersas durante os meses de setembro de 2009 a outubro de 2010.	146
Figura 5.31: Processo de oxidação em placa de aço carbono com 13 meses de submersão.	148
Figura 5.32: Velocidade (m/s) de fluxo de água necessária para a soltura de <i>Limnoperna fortunei</i> em relação ao comprimento da concha (mm) e quantidade de filamentos secretados.	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Concentrações utilizadas, por espécie, para obtenção da CE50.	59
Tabela 4.2: Pressões testadas, quantidade de mexilhões utilizada e forma de obtenção da pressão.....	64
Tabela 4.3: Vazões pré-estabelecidas para a realização dos testes de velocidade considerando o aparato vazio. 68	
Tabela 5.1: Parâmetros físico-químicos da solução aquosa de látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> utilizada no experimento.	78
Tabela 5.2: Taxa de mortalidade de <i>L. fortunei</i> após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 18°C.....	80
Tabela 5.3: Taxa de mortalidade de <i>L. fortunei</i> após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 20°C.....	81
Tabela 5.4: Taxa de mortalidade de <i>L. fortunei</i> após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 22°C.....	82
Tabela 5.5: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” e “Grupo”.	84
Tabela 5.6: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para as variáveis “quantidade de mortes” e “Grupo”.84	
Tabela 5.7: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” e “temperatura”.	84
Tabela 5.8: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para as variáveis “quantidade de mortes” e “temperatura”	85
Tabela 5.9: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre a quantidade de mortes dicotomizada e “substância”.....	86
Tabela 5.10: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para quantidade de mortes entre as “substâncias”..	86
Tabela 5.11: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney para as variáveis “concentração de látex” e “quantidade de mortes dicotomizada”.....	87
Tabela 5.12: Regressão de Poisson com todas as covariáveis para a variável “quantidade de mortes”	88
Tabela 5.13: Regressão de Poisson apenas com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes”..	89
Tabela 5.14: Regressão de Poisson com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes” variando o “grupo” do intercepto..	89
Tabela 5.15: Regressão de Poisson com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes” variando a “temperatura” do intercepto.....	90

Tabela 5.16: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 18°C.....	94
Tabela 5.17: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 18°C.....	95
Tabela 5.18: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 18°C.....	96
Tabela 5.19: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 20°C.....	97
Tabela 5.20: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 20°C.....	98
Tabela 5.21: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 20°C.....	99
Tabela 5.22: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 22°C.....	100
Tabela 5.23: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 22°C.....	101
Tabela 5.24: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopii</i> , a 22°C.....	102
Tabela 5.25: Frequência e medidas descritivas sobre os dados relativos ao experimento de exposição ao látex por 10 dias.	103
Tabela 5.26: Medidas descritivas para a quantidade de sobreviventes ao longo dos 10 dias de exposição ao látex após recuperação.	103
Tabela 5.27: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para a quantidade de mortos entre as diferentes temperaturas por dia de exposição.....	104
Tabela 5.28: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis entre a quantidade de mortos e grupo em cada dia de exposição.....	105
Tabela 5.29: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney entre a “quantidade de mortes dicotomizada” e “concentração de látex” para cada dia.....	106
Tabela 5.30: Teste de Logrank para a comparação das funções de sobrevivência.	110
Tabela 5.31: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral.	112
Tabela 5.32: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral, variando o grupo do intercepto.	112

Tabela 5.33: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral, variando a temperatura do intercepto.	113
Tabela 5.34: CE50 para as espécies <i>D. similis</i> , <i>D. laevis</i> e <i>C. silvestrii</i> , quando submetidas ao látex de <i>E. splendens</i> var. <i>hislopilii</i>	119
Tabela 5.35: Indivíduos mortos com 24 e 48 horas de observação após submissão ao teste de pressão.....	121
Tabela 5.36: Frequência das medidas descritivas para os dados relativos ao experimento de pressão.	122
Tabela 5.37: Tabela de contigência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “Morte” e “Grupo”.	122
Tabela 5.38: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney para os casos em que ocorreram mortes ou não...	123
Tabela 5.39: Tabela de contigência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “morte” e “tempo”.....	124
Tabela 5.40: Regressão logística com as covariáveis “Tempo”, “Grupo” e “Pressão” para a variável “Morte”.	125
Tabela 5.41: Regressão logística para “Grupo” e “Morte”.....	125
Tabela 5.42: Regressão logística para “Grupo” e “Morte”, com o Grupo 3 no intercepto.	126
Tabela 5.43: Medidas de comprimento, altura, espessura e volume dos 60 indivíduos.	129
Tabela 5.44: Medidas descritivas para as pseudos-réplicas, quantidade de mexilhões, mexilhões por pseudo-réplica, velocidade média (m/s) e velocidade máxima de soltura (m/s).	134
Tabela 5.45: Quantidade de mexilhões incrustados nas placas de acordo com o tempo de submersão.	135
Tabela 5.46: Velocidades médias e máximas de soltura dos mexilhões por tempo de incrustação.....	136
Tabela 5.47: Medidas descritivas comparando as placas não pintadas e pintadas..	138
Tabela 5.48: Teste de Logrank comparando as curvas de sobrevivência entre os meses.	142
Tabela 5.49: Teste de Logrank comparando as curvas de sobrevivência entre os tipos de placas (Sem pintura e Pintada) e grupos (G1 e G2).	142
Tabela 5.50: Modelo de Weibull para a velocidade de soltura de todos os mexilhões das placas considerando todas covariáveis envolvidas (tempo, tipo de placa e grupo).	144
Tabela 5.51: Modelo de Weibull para a velocidade de soltura de todos os mexilhões das placas considerando apenas as covariáveis significativas.	144

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Percentual
'	Minuto
”	Polegada ou segundos
°	Grau
°C	Grau Celsius
µm	Micrômetro
µS/cm	Microsiemens por cm
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Ca	Cálcio
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CE50	Concentração mediana efetiva que imobiliza 50% dos organismos-teste
CE90	Concentração mediana efetiva que imobiliza 90% dos organismos-teste
CEMIG	Companhia Energética de Minas Gerais
CENO	Maior concentração que não causa efeito aos organismos-teste
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
Cl	Cloro
CL50	Concentração mediana letal a 50% dos organismos testados
cm	Centímetro
cm ³	Centímetro cúbico
COPASA	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
CTNBio	Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
DMAE	Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre
DOPA	3,4-dihidroxifenilalanina
DPC	Diretoria de Portos e Costas
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIOCRUZ	Fundação do Instituto Oswaldo Cruz
FTN	Força Tarefa Nacional
g	Gramma (unidade de medida)
g/cm ³	Gramma por centímetro cúbico (densidade)
GT02	Grupo Toxicidade
Hz	Hertz
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICB/UFMG	Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais
ICSU	Comitê Científico do <i>Committee of the International Council of Scientific Unions</i> sobre Problemas Ambientais
in	Polegada
ISSO	<i>International Organization for Standardization</i>
km	Quilômetro
l	Litro

LELf	Laboratório de Estudos em <i>Limnoperna fortunei</i>
m	Metro
m/s	Metro por segundo
m ²	Metro quadrado
m ³	Metro cúbico
m ³ /h	Metro cúbico por hora
mA	Miliampére
mca	Metro de coluna d'água
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
mg/l	Miligrama por litro
ml	mililitro
ml/h	mililitro por hora
mm	Milímetro
MMA	Ministério do Meio Ambiente
mOsm	Miliosmol
mW	Megawatt
NBR	Norma Brasileira
NSF	National Sanitation Foundation
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
ppt	Partes por trilhão
PR	Paraná
PVC	Policloreto de vinila
R\$	Real (moeda brasileira)
R\$/mWh	Real por megawatt hora
rpm	Rotações por minuto
RS	Rio Grande do Sul
S	Sul
SCOPE	Comitê Científico do <i>Committee of the International Council of Scientific Unions</i>
Sisbio	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
TC	Comitê Técnico
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
US\$	Dólar (moeda norte-americana)
V	Volt
W	Oeste ou Watt
XVIII	Dezoito (algarismo romano)

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Espécies de moluscos aquáticos invasores: um problema ambiental*

Ainda que a distribuição das espécies mude naturalmente ao longo do tempo, a atividade humana tem contribuído para o aumento da taxa e da escala espacial destas alterações, de forma acidental ou não (DARRIGRAN, 2002; DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006). Este aumento ocorre de forma direta, através dos corredores de invasão (rotas aquáticas, terrestres ou aéreas; comerciais e/ou turísticas), ou de forma indireta, através das alterações ambientais conseqüentes da globalização. Esta última gera um meio potencialmente favorável para o estabelecimento das espécies introduzidas (DUKES & MOONEY, 1999). Entretanto, uma espécie exótica deve vencer várias transições seqüenciais (transporte, soltura e estabelecimento) para continuar o processo de invasão (KOLAR & LODGE, 2001). O primeiro obstáculo para estas espécies consiste na forma de transporte (por exemplo, água de lastro de navios). Durante esta etapa, os espécimes podem sobreviver ou não. Na fase de liberação destas espécies no meio, estas interagem com o novo ambiente, sendo que, estas interações, juntamente com vários fatores, determinarão os locais onde estas espécies se estabelecerão (DARRIGRAN, 2002). Após superadas estas 3 etapas, se as novas espécies forem capazes de ultrapassar as barreiras naturais que limitam sua distribuição, sendo capazes de se dispersarem, elas se transformam em espécies exóticas. Uma vez que conseguem vencer todas estas etapas e se estabelecerem, passam a ser consideradas como espécies invasoras (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006).

O impacto causado pelas espécies introduzidas é quase sempre maior em ambientes alterados que em ambientes prístinos. Já na década de 1950, Charles Elton criou o conceito de “resistência biótica” que diz que, em áreas intactas, o conjunto de competidores, predadores, parasitas e doenças frustram o estabelecimento da maioria dos invasores, enquanto que em um ambiente alterado, essa resistência é menor devido ao baixo número de espécies “defensoras” (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006). Entretanto, Chapin III *et al.* (2000) referem-se a estudos que mostraram, em ambientes intactos, a existência de correlações tanto positivas quanto negativas entre riqueza de espécies (incluindo estas espécies “defensoras”) e invasões. Isto ocorre, em parte, porque os fatores básicos que geram diferenças na biodiversidade (por

exemplo, regime de distúrbios e fertilidade do solo) não podem ser controlados e podem, eles próprios, serem responsáveis pelas diferenças nas invasões.

Como resultado das ações humanas e do crescimento comercial no mundo, o número absoluto de espécies introduzidas é praticamente impossível de se determinar. Atualmente, pode-se dizer que a descarga de água de lastro é potencialmente a mais importante via de introdução de espécies indesejáveis nos portos de todo o mundo e uma das grandes ameaças ao equilíbrio ecológico do ambiente aquático. A água de lastro é utilizada para dar equilíbrio e ajudar nas manobras aos navios quando estes se encontram vazios e para compensar a perda de peso por consumo de combustível e água. Esta água é deslastrada, ou seja, lançada no ambiente, geralmente nos portos, onde estes navios serão carregados. Estima-se, hoje, que, anualmente, milhares de espécies sejam transportadas (e introduzidas) dessa forma (SILVA *et al.*, 2004).

As transferências de organismos nocivos através do lastro de navios têm sido desastrosas e crescido alarmantemente, causando danos aos ecossistemas aquáticos, prejuízos à saúde humana, à biodiversidade, às atividades pesqueiras e de aquicultura, à agricultura irrigada e aos setores elétricos e de abastecimento de água, resultando em um problema global, em virtude do aumento do impacto ecológico e econômico em vários ecossistemas (SILVA *et al.*, 2004).

Como exemplo de espécies aquáticas introduzidas por água de lastro de navios, e causadoras de grandes prejuízos ambientais e econômicos nos locais onde foram introduzidas, podemos citar os moluscos bivalves *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771 (Bivalvia, Dreissenidae) e *Limnoperna fortunei* Dunker, 1857 (Bivalvia, Mytilidae) (MACKIE & CLAUDI, 2010).

Originária das bacias dos Mares Negros e Cáspio, *D. polymorpha*, conhecida como mexilhão zebra, começou a ser introduzida na Europa no final do século XVIII e chegou na Região dos Grandes Lagos na América do Norte em meados da década de 1980 (ELLIOTT *et al.*, 2005). Nos últimos 20 anos, esta espécie se tornou o caso mais sério de *biofouling* da história da América do Norte e alterou completamente a ecologia dos Grandes Lagos. Por mais de 100 anos, europeus testemunham sua habilidade em obstruir tubulações, contaminar estações de abastecimento de água potável e incrustar em paredes de embarcações. Em apenas 3 anos, empresas, indústrias, estações de tratamento de água e embarcações na região dos Lagos Erie e St. Clair documentaram estes efeitos incluindo obstrução de tanques-redes, redução de áreas

recreativas por causa do *biofouling*, deslocamento de espécies nativas de bivalves, alteração ou destruição de habitats de peixes e alteração de parâmetros físico-químicos dos lagos infestados (MACKIE & CLAUDI, 2010).

1.2. O molusco invasor *Limnoperna fortunei* Dunker, 1857 (*Bivalvia*, *Mytilidae*): impacto ambiental e econômico

Semelhante a *D. polymorpha*, no final da década de 1980, outra espécie originária do sudeste asiático, *L. fortunei*, conhecida popularmente como mexilhão dourado, foi introduzida na América do Sul através de água de lastro de navios cargueiros, sendo seu primeiro registro ocorrido na bacia do Rio La Plata, na Argentina (DARRIGRAN & PASTORINO, 1995). Dispersando a uma velocidade de 240 km/ano (DARRIGRAN, 2002), em menos de 10 anos, *L. fortunei* chegou ao Brasil sendo sua presença registrada em 1998, pela primeira vez, no delta do rio Jacuí, próximo a Porto Alegre. Em 2001, esta espécie já se encontrava no Uruguai, Paraguai e no Brasil (PASTORINO *et al.*, 1993; RICCIARDI, 1998; DARRIGRAN, 2002; PATELLA *et al.*, 2004). Hoje, no Brasil, esta espécie já se encontra nas regiões sul, sudeste e centro-oeste (OLIVEIRA, 2003; AVELAR *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2004; von RÜKERT *et al.*, 2004; TAKEDA *et al.*, 2005). Acredita-se que o mexilhão dourado também já se encontre na Bolívia, uma vez que este foi detectado no Pantanal, na divisa com esse país (DARRIGRAN, 2010).

Molusco bivalve de água doce, filtrador, o mexilhão dourado possui adultos dióicos (podendo medir até 6 cm), grande capacidade reprodutiva, grande plasticidade fenotípica, comportamento gregário e ampla tolerância ambiental, podendo sobreviver em ambientes naturais, artificiais, dulceaquícolas ou salobros. Possuindo uma fase larval natante medindo poucos micrômetros é capaz de colonizar rapidamente novos ambientes aquáticos. Ainda no estágio larval, essa espécie produz uma estrutura protéica chamada bisso que o permite fixar-se em praticamente todo tipo de substrato (metal, plástico, cimento, madeira e até mesmo em espécies animais e vegetais aquáticas) formando os denominados *macrofouling* (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006; MACKIE & CLAUDI, 2010).

Assim como ocorre com espécies introduzidas em ambientes que apresentam condições favoráveis ao seu desenvolvimento, como ausência de predadores, parasitas e/ou competidores, *L. fortunei*, devido a sua alta densidade populacional, vem causando graves

prejuízos ambientais e econômicos nas áreas onde tem sido introduzido (DARRIGRAN *et al.*, 1998; DARRIGRAN & de DRAGO, 2000; MACKIE & CLAUDI, 2010).

Ambientalmente, esta espécie tem alterado a dieta alimentar de peixes, modificando a dinâmica populacional de espécies nativas da malacofauna e interferindo nos parâmetros físico-químicos dos ambientes aquáticos onde ocorre (PENCHASZADEH *et al.*, 2000; DARRIGRAN, 2002; GARCIA & PROTOGINO, 2005; SYLVESTER *et al.*, 2007).

Em relação à economia, o mexilhão dourado tornou-se rapidamente um sério problema para as estações de abastecimento de água, usinas hidrelétricas e demais indústrias que utilizam água de rios para seus processos. Crescendo descontroladamente em tubulações e demais instalações, obstrui canalizações, filtros, bombas, condensadores sistemas de arrefecimento e turbinas, interferindo no fluxo e eficiência dos sistemas (MACKIE & CLAUDI, 2010), além da capacidade de contaminar a água devido a sua mortandade e deterioração que conferem odor e sabor desagradáveis em reservatórios de abastecimento, como já vem ocorrendo na cidade de Porto Alegre (COLARES *et al.*, 2002).

Sabendo-se dos enormes prejuízos causados por esta espécie, tanto ambiental quanto econômicos, e da carência em conhecimentos ecofisiológicos e comportamentais, bem como medidas de controle e erradicação para este molusco, estudos para elucidar essas questões tornam-se extremamente necessários.

O potencial hidráulico de um aproveitamento é obtido pelo produto do volume descarregado por unidade de tempo pela altura vencida por essa massa. Dessa forma, tem-se dois fatores determinantes da potência disponível quais sejam: a vazão em metros cúbicos por segundo e a altura ou diferença de nível entre cotas de montante e jusante. Assim, esses dois fatores determinam a potência de uma instalação. A vazão é uma característica do local e depende de um conjunto de fatores que vão desde a disponibilidade e distribuição das chuvas até a configuração da bacia. A altura depende do desnível e de uma característica do sistema de condução de água que é conhecida como perda de carga. Essa perda de carga, ou perda hidrodinâmica, depende de um conjunto de outros fatores, tais como dimensões do circuito de adução, rugosidade das paredes e comprimento do sistema de adução. As perdas de carga são, simplificada, distribuídas em perdas na entrada da adução, perdas na tubulação forçada e perdas no canal de descarga.

As dimensões do sistema de adução e o comprimento do mesmo são fatores fixos que não podem ser modificados após a instalação da usina. Entretanto, a rugosidade do conduto forçado pode, e é alterada, em função de vários fatores como o desgaste natural sofrido com a passagem da água e com a deposição de partículas e materiais durante a operação da instalação. *L. fortunei* é uma espécie que pode contribuir como um dos fatores que interfere na rugosidade do sistema de adução, pois ele se deposita nas paredes formando tapetes rugosos que recobrem parte do sistema, aumentando a perda de carga e promovendo uma diminuição da altura de queda líquida disponível. Além disso, esse molusco infesta grades e componentes das usinas, obrigando as concessionárias a promoverem uma constante operação de limpeza que interfere na geração de energia.

Em usinas hidrelétricas, o crescimento de mexilhões nas grades de tomada d'água resulta no aumento da força de empuxo sobre as mesmas, causando um aumento da perda de carga no sistema e a possibilidade de rompimento destas (SIMEÃO *et al.*, 2006; DINIZ, 2010). No caso da Usina Hidrelétrica de Furnas, por exemplo, que possui uma capacidade instalada de 6.578 mW, pode-se estimar que, para uma tarifa de suprimento de aproximadamente 42 R\$/mWh, cada 1% de acréscimo de perda de carga corresponda a aproximadamente R\$13.000.000,00 (DINIZ *et al.*, 2009b). Segundo Diniz *et al.* (2009a), a geração de energia em pequenas centrais hidrelétricas de alta queda e com tubulações de pequenos diâmetros pode até mesmo ser inviabilizada devido à infestação de mexilhões.

Assim, conhecer a influência das colônias de *L. fortunei* sobre o aumento da perda de carga é muito importante pois, dependendo da instalação, ela pode alcançar valores significativos e de grande impacto para a concessionária operadora da usina.

1.3. Laboratório de criação/manutenção de moluscos invasores

Apesar do impacto causado no mundo pelas espécies invasoras de mexilhões responsáveis por *macrofouling*, pouco sucesso tem sido obtido no desenvolvimento de estratégias efetivas de controle (QUAGLIA *et al.*, 2008; MACKIE & CLAUDI, 2010). A elaboração destas estratégias é dificultada pela falta de conhecimento sobre características biológicas básicas das espécies, como informações detalhadas sobre o ciclo reprodutivo, fatores que determinam tolerância ambiental e o comportamento diante a exposição a substâncias e técnicas de possível controle e erradicação. Além disso, as dificuldades técnicas e de estrutura para a

viabilização de um espaço de criação de um molusco invasor, onde seja mantido com sucesso o ciclo reprodutivo do mesmo e que seja de alta segurança para evitar introduções acidentais no ambiente, tem desafiado os pesquisadores interessados no assunto (DINIZ *et al.*, 2009b).

O aumento da ocorrência de espécies aquáticas invasoras criou uma demanda para a construção de espaços adequados para a realização de estudos com estes organismos. O desenvolvimento de sistemas e metodologias para criação e estudo de bivalves de água doce em laboratório vem recebendo especial atenção, principalmente nos países em que espécies invasoras têm causado prejuízos. Estudos detalhados sobre características biológicas, tais como a tolerância a parâmetros ambientais ou potencial reprodutivo, requerem observações sistematizadas e tomadas de parâmetros em condições controladas, possíveis apenas em situações de laboratório. Estas informações são importantes para que se compreendam os processos de invasão e dispersão dos indivíduos permitindo, assim, a elaboração de planos de manejo e controle (DINIZ *et al.*, 2009b).

Diferentes sistemas e metodologias de cultivo já foram testados para a manutenção de mexilhões de água doce em laboratório, com diferentes resultados. Esta variação pode estar relacionada ao tipo de sistema de cultivo, ao controle das condições ambientais, tais como qualidade da água e disponibilidade de alimento (HENLEY *et al.*, 2001), e às características biológicas da espécie a ser cultivada, como as taxas intrínsecas de mortalidade de jovens e larvas. No caso de espécies invasoras, a construção do laboratório deve levar em conta não apenas os requerimentos necessários à correta manutenção dos indivíduos, mas também cuidados de biossegurança, visando evitar qualquer risco devido à disseminação da espécie invasora (DINIZ *et al.*, 2009b).

Os procedimentos de biossegurança no Brasil são regulamentados pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) através da Lei de Biossegurança - N.11.105 de 24 de Março de 2005 (<<http://www.biosseguranca.com/home.htm>> acesso em novembro de 2008). O foco de atenção dessa Lei, no entanto, são os riscos relativos às técnicas de manipulação de organismos geneticamente modificados e questões relativas a pesquisas científicas com células-tronco embrionárias, não havendo ainda qualquer procedimento ou norma estabelecidos para a manipulação de espécies invasoras. Da mesma forma, os manuais de técnicas laboratoriais de biossegurança levam em conta apenas os riscos inerentes à

contaminação e disseminação de vetores de doenças, sem menção aos procedimentos básicos de segurança para a manutenção de espécies invasoras.

Em relação a *L. fortunei*, especialmente, anteriormente à realização deste trabalho, não existia um laboratório de estudos específico para este fim, onde as condições de criação fossem controladas e não houvesse riscos de disseminação de larvas e adultos desta espécie em locais onde ainda não ocorresse.

Portanto, para o desenvolvimento do presente trabalho, sob condições controladas de criação e manutenção do mexilhão dourado em laboratório, foi necessária a construção de um laboratório que atendesse tanto às necessidades de criação quanto a necessidade de não disseminar esta espécie na cidade de Belo Horizonte/MG, local onde ela ainda não ocorre. Sendo o primeiro laboratório criado para este fim, para a sua construção foram utilizadas referências sobre biossegurança em outras áreas, principalmente normas utilizadas em laboratórios de controle biológico (e. g. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE, 2003; OPPERMANN & PIRES, 2003; PESSOA & LAPA, 2003).

Com a construção do Laboratório de Estudos em *Limnoperna fortunei* (LELf), poderão ser padronizadas técnicas de criação e manutenção do mexilhão dourado em laboratório, dando suporte para a realização de estudos mais detalhados, utilizando variáveis controladas como, por exemplo, temperatura, fotoperíodo e alimentação. Ainda, uma futura padronização civil de construção permitirá a realização de pesquisas em outros locais onde esta espécie não ocorra sem o risco de dispersão desta para o ambiente.

1.4. Medidas físicas e químicas para o controle de mexilhão dourado

Várias alternativas não-químicas vêm sendo testadas para o mexilhão dourado baseando-se nas técnicas empregadas para *D. polymorpha* na América do Norte. Entre elas pode-se citar: exposição ao ar como forma de desidratação, elevação da temperatura da água, diminuição da quantidade de oxigênio dissolvido na água, utilização de luz ultravioleta, filtros de areia, emprego de corrente elétrica e utilização de tintas anti-incrustantes (DARRIGRAN *et al.*, 2001; MACKIE & CLAUDI, 2010). Apesar da pintura com esse tipo de tinta ser considerada uma técnica não-química, elas são confeccionadas a base de cobre e liberam grande quantidade de íons cobre para o meio ambiente, sendo seu uso proibido no Canadá e em boa parte dos EUA (MACKIE & CLAUDI, 2010).

Dessa forma, a busca de soluções mais eficientes e baratas para o combate/controlado do mexilhão dourado em que não sejam empregadas substâncias químicas deve ser constante, uma vez que estas podem ser menos impactantes para o meio ambiente. Com o objetivo de buscar estas alternativas, pesquisas envolvendo velocidade da água e pressão como técnicas de remoção são imprescindíveis podendo gerar soluções mitigadoras para empresas e indústrias já implantadas e infestadas. Os resultados obtidos com esta pesquisa podem também auxiliar os construtores através da criação de sistemas que inviabilizem a adesão deste mexilhão em locais mais críticos.

Utilização de produtos químicos em locais já infestados por *L. fortunei* tem sido a medida de controle mais empregada. Entre as várias substâncias testadas, se destacam Bayluscide WP70, Bulab 6002[®], Clam Trol CT2, H130M, MXD100, ozônio e cloro, sendo esta última, o produto principal empregado também para o mexilhão zebra (DARRIGRAN *et al.*, 2001; CATALDO *et al.*, 2003; RAJAGOPAL *et al.*, 2002, 2003a e b; DARRIGRAN *et al.*, 2007; MACKIE & CLAUDI, 2010).

O emprego de substâncias e técnicas como medidas de controle para *L. fortunei*, conforme citado acima, tem se mostrado ainda mais ineficiente se comparado ao mexilhão zebra. Isso porque, cada vez mais, estudos têm mostrado ser o mexilhão dourado muito mais resistente e agressivo que *D. polymorpha* (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006; KARATAYEV *et al.*, 2007; MACKIE & CLAUDI, 2010; ROLLA & MOTTA, 2010).

Entretanto, todos estes métodos apresentam alguma desvantagem para seu emprego como: dificuldades de operação, elevados custos e/ou possível toxicidade residual no meio. No ambiente natural há muitos fatores que não podem ser controlados e que atuam na sobrevivência dos organismos. Portanto, ainda não se conhece uma condição favorável de se eliminar o mexilhão dourado sem comprometer outras espécies que compartilham o mesmo ecossistema (DARRIGRAN, 1995).

Apesar de ainda não ter sido relatado o emprego de substâncias moluscidas naturais para *L. fortunei*, estas podem ser uma alternativa interessante de pesquisa. Isso porque os custos financeiros e ambientais com um moluscida sintético são bastante altos. Jurberg *et al.* (1989) citam um custo estimado em torno de 10 milhões de dólares para tornar um moluscida sintético utilizável como controle para esquistossomose. Por isso, o emprego de

plantas moluscidas pode se tornar uma maneira menos poluente e mais barata para se reduzir a população de um determinado molusco.

Várias substâncias naturais, principalmente extratos vegetais, já foram testadas quanto às suas propriedades moluscidas em caramujos hospedeiros intermediários de doenças humanas (e.g. MOTT, 1987; MENDES *et al.*, 1992; SCHALL *et al.*, 1992; PINHEIRO *et al.*, 2003; VASCONCELLOS & AMORIM, 2003a e b; MELLO-SILVA *et al.*, 2006). Entretanto, em relação ao emprego em bivalves, pouco ainda se sabe. Nenhuma bibliografia foi encontrada sobre o assunto para *L. fortunei* e apenas dois trabalhos relatam a utilização de *Phytolacca dodecandra* L'Hér, 1785 (Phytolaccaceae) como controle para *D. polymorpha* (LEMMA *et al.*, 1991; LEE *et al.*, 1993).

Embora o Brasil possua uma das maiores diversidades genéticas de espécies vegetais do mundo, o conhecimento sobre sua flora ainda é considerado insuficiente. Acredita-se que menos de 10% dos vegetais tenham sido avaliados quanto às suas características biológicas, e menos de 5% com relação a estudos fitoquímicos detalhados (LUNA *et al.*, 2005) o que torna a busca de novos moluscidas vegetais muito atrativa (CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Portanto, experimentos que testem a ação moluscida de extratos vegetais sobre *L. fortunei* são de extrema importância e podem ser bastante promissores como forma de combate e controle para esta espécie. Isso porque são de baixo custo e, geralmente, menos impactantes ambientalmente. Entretanto, estudos de toxicidade ambiental com os produtos testados devem estar sempre ocorrendo paralelamente à busca de novas soluções de erradicação e controle.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Quantificar os efeitos da influência da infestação de *L. fortunei* em condutos forçados e testar métodos físicos e químicos para combate e controle do mexilhão dourado.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Levantamento da perda de carga provocada pela infestação do mexilhão dourado em sistemas hidráulicos

- Verificar a interferência no escoamento promovida pela incrustação de mexilhões em condutos forçados;
- Levantar os dados de perda de carga em condutos forçados para diferentes intensidades de incrustação de *L. fortunei*.

2.2.2. Avaliação de látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* como moluscicida para mexilhão dourado

- Verificar a ação moluscicida do látex sobre *L. fortunei*;
- Analisar a taxa de mortalidade de mexilhões expostos ao látex por 24 e 240 horas em relação ao tamanho do indivíduo, temperatura e concentração;
- Verificar se há diferença entre água destilada e água desclorada quando usadas como controles em experimentos com mexilhão dourado;
- Avaliar a toxicidade do látex em *Daphnia laevis*, *D. similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*.

2.2.3. Avaliação do efeito de pressão sobre o mexilhão

- Verificar a resistência e o comportamento do mexilhão dourado quando submetido a alta pressão e despressurização.

2.2.4. Avaliação da velocidade da água para soltura do mexilhão após fixação em aço ASTM A-36.

- Verificar a velocidade mínima de fluxo de água suficiente para a soltura do mexilhão dourado após incrustação em placas de aço carbono ASTM A-36;
- Verificar se há relação entre a velocidade de água de soltura e tamanho dos mexilhões, bem como o tempo de incrustação.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. *A importância da água de lastro na dispersão de espécies aquáticas invasoras*

Respondendo hoje por cerca de 80% do comércio mundial, o transporte marítimo internacional vem contribuindo para a eliminação ou redução das barreiras naturais que sempre separaram e mantiveram a integridade dos ecossistemas, aumentando a homogeneização da flora e fauna em todo o mundo. No Brasil, são transportados por via marítima aproximadamente 95% de todo o comércio exterior (SILVA & SOUZA, 2004).

Com os objetivos de manter a segurança, aumentar seu calado, ajudar na propulsão de manobras, compensar perdas de peso por consumo de combustível e de água, regular a estabilidade e manter os níveis de estresse na estrutura em patamares aceitáveis, os navios utilizam água nos tanques de lastro. Provavelmente, a partir da 2ª Guerra Mundial, com a utilização da água de lastro circulando em grandes volumes, iniciou-se o processo de introdução de espécies exóticas por essa via. A primeira menção à introdução de organismos exóticos, via água de lastro, foi feita por Ostensfeld, em 1908, depois da ocorrência de uma floração da alga diatomácea *Odontella sinensis* (Greville) Grunow, 1884 (Chromista, Mediophyceae) no Mar do Norte, endêmica da costa tropical e subtropical do Indo-Pacífico. Somente 70 anos mais tarde um navio foi estudado com amostragem de água de lastro. Hoje, estima-se que 10 bilhões de toneladas de água de lastro sejam transferidas anualmente e cerca de 3.000 espécies de plantas e animais sejam transportadas por dia em todo o mundo (CARLTON & GELLER, 1993).

No Brasil, ainda não há dados nem controle sobre o volume de água de lastro que é lançado em seus portos mas, segundo dados da Diretoria de Portos e Costas (DPC), a média anual de visitas aos portos brasileiros é de 40.000 navios, estimando-se 40 milhões de toneladas de águas deslastradas por ano (SILVA & SOUZA, 2004) (Figura 3.1).



Figura 3.1: Águas deslastradas em portos comerciais: uma das maiores causas de introduções de espécies aquáticas.

Fonte: <<http://www.ieapm.mar.mil.br>> acesso em fevereiro de 2009.

Dentre as principais espécies de invertebrados aquáticos introduzidas, provavelmente via transportes aquáticos, tanto marinho quanto de água doce, e consideradas espécies invasoras, além das já referenciadas *D. polymorpha* e *L. fortunei*, pode-se destacar (SILVA & SOUZA, 2004):

- o ctenóforo, *Mnemiopsis leidy* A. Agassiz, 1865 (Ctenophora, Bolinopsidae): endêmico do Atlântico Norte Americano, foi registrado pela primeira vez em 1982 nos mares Negros e de Azov. Em 1992, a presença desta espécie foi constatada no mar Mediterrâneo. A população de ctenóforos nativa foi extinta do local e a pescaria de enchovas e espadas na região decresceu vertiginosamente;
- a estrela-do-mar *Asterias amurensis* Lutken, 1871 (Asteroidea, Asteriidae) e os dinoflagelados tóxicos do gênero *Gymnodinium* Stein, 1878 (Protozoa, Dinoflagellata) e *Alexandrium* Halim, 1960 (Protozoa, Dinoflagellata): oriundos do Japão, foram introduzidos na Austrália, com implicações na pescaria e aquicultura industriais.

3.2. *Limnoperna fortunei*

3.2.1. Características

L. fortunei possui duas conchas simétricas articuladas (Figura 3.2 A) (RICCIARDI, 1996, 1998), sendo o perióstraco da concha amarelado e brilhante nos espécimes novos e saudáveis (MACKIE & CLAUDI, 2010). Os adultos são dióicos, havendo indivíduos machos e fêmeas separadamente, sendo dois terços da população constituídos por fêmeas que se reproduzem pelo menos uma a duas vezes por ano (MORTON, 1991; RICCIARDI, 1998; MAGARA *et*

al., 2001). Casos de hermafroditismo são raros, mas Darrigran *et al.* (2003) encontraram 0,25% destes na população analisada. O comprimento máximo da concha dos indivíduos adultos em uma determinada população pode variar de 2,0 a 4,0 cm podendo chegar a 6 cm quando em condições ideais (MACKIE & CLAUDI, 2010). Vivem cerca de dois a três anos, sendo a maturação sexual alcançada ainda no primeiro ano de vida, quando o comprimento da concha atinge um pouco mais de 5 mm (RICCIARDI, 1996; OLIVEIRA, 2003). Segundo Cataldo & Boltovskoy (2000), na região próxima à foz do rio Paraná, esta espécie produz larvas durante nove meses do ano, chegando a apresentar densidades larvais acima de 20.000 indivíduos/m³. As densidades populacionais de indivíduos adultos no rio La Plata variaram de 4-5 indivíduos/m² nos primeiros registros de ocorrência (DARRIGRAN & PASTORINO, 1995), apresentando picos de 150.000 indivíduos/m² em 1995, se estabilizando em torno de 40.000 indivíduos/m² (DARRIGRAN, 2005). Na Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, o pico chegou a 188.000 indivíduos/m², encontrando-se, em 2009, em uma densidade de 17.000 indivíduos/m² (Dados fornecidos por Itaipu Binacional em 2009). No Brasil, Mansur *et al.* (2003) registraram comportamento similar na variação temporal da densidade populacional no Lago Guaíba. Boltovskoy & Cataldo (1999) verificaram que, em determinadas épocas do ano, mais de 70% de indivíduos que formam a colônia podem ser menores que 2 mm (Figura 3.2).



Figura 3.2: A - detalhe da concha de *Limnoperna fortunei*; B - população de *L. fortunei* com indivíduos adultos e jovens.

Fonte: <<http://www.mma.gov.br>> acesso em fevereiro de 2009.

A fecundação desta espécie ocorre externamente dando origem a uma larva natante (véliger) capaz de colonizar rapidamente novos ambientes aquáticos (RICCIARDI, 1996). A fase larval é o período de maior dispersão, sendo as larvas planctônicas e medindo até 300 µm (ACKERMAN *et al.*, 1994).

L. fortunei possui grande plasticidade fenotípica, comportamento gregário, alta capacidade reprodutiva e ampla tolerância ambiental (RICCIARDI, 1998; DARRIGRAN & DARRIGRAN, 2001), colonizando ambientes lóticos, lênticos e semi-lóticos entre 50 cm a 10 m de profundidade (OLIVEIRA, 2003). Entretanto, filmagens realizadas por um submersível na Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu-PR, registraram a ocorrência de populações de mexilhão dourado a 50 m de profundidade no reservatório da usina (Dr. Domingo Rodriguez Fernandez – comunicação pessoal, 2009).

Em relação à temperatura, trabalhos existentes sobre *L. fortunei* mostram ser esta espécie capaz de sobreviver a temperaturas muito variadas, sendo esta amplitude de 7 °C (IWASAKI & URYU, 1998) a 31,5 °C (DAMBORENEA & PENCHASZADECH, 2006).

Segundo Greenberg & Subhedar (1982), o mexilhão dourado é capaz de tolerar concentrações desde água destilada até soluções contendo 20% de água do mar. Ainda justificando sua ampla tolerância ambiental, *L. fortunei* é capaz de colonizar ambientes com água limpa e fresca, águas quentes e águas com grandes concentrações de matéria orgânica sujeitas a períodos de hipóxia (DEATON *et al.*, 1989; DARRIGRAN & PASTORINO, 1995), como as colônias com alta densidade populacional registradas em águas altamente poluídas próximas a pontos de lançamentos de esgotos no rio La Plata (RICCIARDI, 1998). Silva (2006) verificou em experimentos laboratoriais que esta espécie é bastante tolerante à ausência de alimentos, uma vez que os grupos mantidos nessa condição sobreviveram por até 63 dias, tendo sacrificado os animais após este período, indicando que, provavelmente, sejam capazes de sobreviverem por um período ainda maior.

L. fortunei possui uma estrutura protéica, chamada bisso, que o torna capaz de se fixar em vários tipos de substratos duros (RICCIARDI, 1998) (Figura 3.3). A composição química básica é a 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA). Esse componente é o mesmo encontrado no mexilhão marinho *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 (Bivalvia, Mytilidae) (mexilhão azul), porém, a DOPA presente no mexilhão azul é mais estável e em maior quantidade (MACKIE & CLAUDI, 2010). Comparando, os filamentos de bisso são 5 vezes mais resistentes e 16 vezes mais flexíveis que o tendão humano (COYNE *et al.*, 1997). Uryu *et al.* (1996) verificaram que a produção do bisso se intensifica em agrupamentos maiores se comparada à produção de indivíduos desagregados ou em grupos pequenos. Estes autores verificaram ainda que, indivíduos menores, quando em contato com indivíduos maiores, intensificam essa

produção. A média de secreção de bisso varia de 1 a 9 por dia dependendo de fatores como idade, temperatura e qualidade da água. A 30°C, após o mexilhão se soltar de um determinado substrato, a produção subsequente de bisso consiste em duas fases: uma inicial rápida (1-7 dias) seguida por uma produção mais lenta (8-21 dias). Em baixa temperatura, parece não haver essa diferenciação de produção nos primeiros 21 dias, sendo esta produção constante durante todo o tempo (CLARKE & McMAHON, 1996).

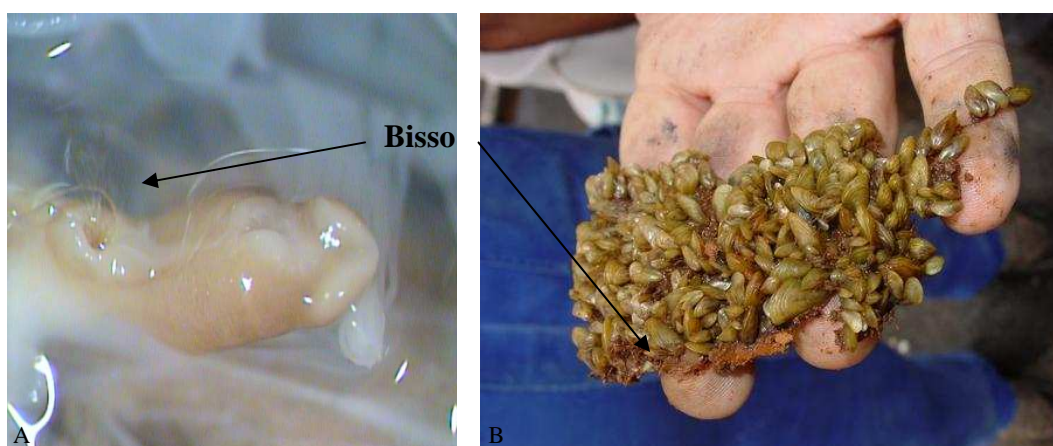


Figura 3.3: A – detalhe da glândula bissogênica; B – agregação de *Limnoperna fortunei*.
Fotos: à esquerda, Cláudia M. G. Simeão. À direita, Rodrigo De Filippo.

Apesar de pouco se saber sobre a ecofisiologia do mexilhão-dourado, assim como as medidas de prevenção ou controle que minimizem os prejuízos econômicos e ambientais causados por ele (DARRIGRAN *et al.*, 2001), sabe-se que apresenta um comportamento semelhante ao de *D. polymorpha* (DARRIGRAN *et al.*, 1998; RICCIARDI, 2003). Entretanto, uma das diferenças entre essas duas espécies é a forma de dispersão: *L. fortunei* está invadindo as bacias sul americanas em sentido contrário à corrente dos rios, a uma velocidade estimada em 240 km/ano, enquanto *D. polymorpha* coloniza seguindo a corrente (DARRIGRAN, 2005). Outras diferenças já verificadas entre essas duas espécies é a maior resistência de *L. fortunei* a produtos químicos como, por exemplo, o cloro (CATALDO *et al.*, 2003; MONTALTO & de DRAGO, 2003) e taxa de filtração muito superior (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006; MACKIE & CLAUDI, 2010).

Assim como em todos os bivalves, *L. fortunei* é capaz de selecionar substâncias durante o processo de filtragem, eliminando o que não foi utilizado na alimentação nas pseudofezes. O processo de formação de pseudofezes pode ser visualizado acompanhando na Figura 3.4. O corpo do mexilhão dourado é rodeado pelo manto, camada fina de tecido, que secreta a

concha e se adere a esta. O espaço interno contornado pelo manto é denominado cavidade do manto. Em cada lado do corpo, entre o manto e o pé, se localizam as brânquias. Os cílios das brânquias geram correntes que impulsionam a água pelo sifão inalante à cavidade do manto e brânquias. Então, as partículas sólidas são removidas através dos cílios branquiais. Conseqüentemente, as partículas alimentares são conduzidas até a boca para sua ingestão enquanto as partículas não alimentares são envoltas em muco secretado pelas células das brânquias e eliminadas como pseudofeces (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006) (Figura 3.4).

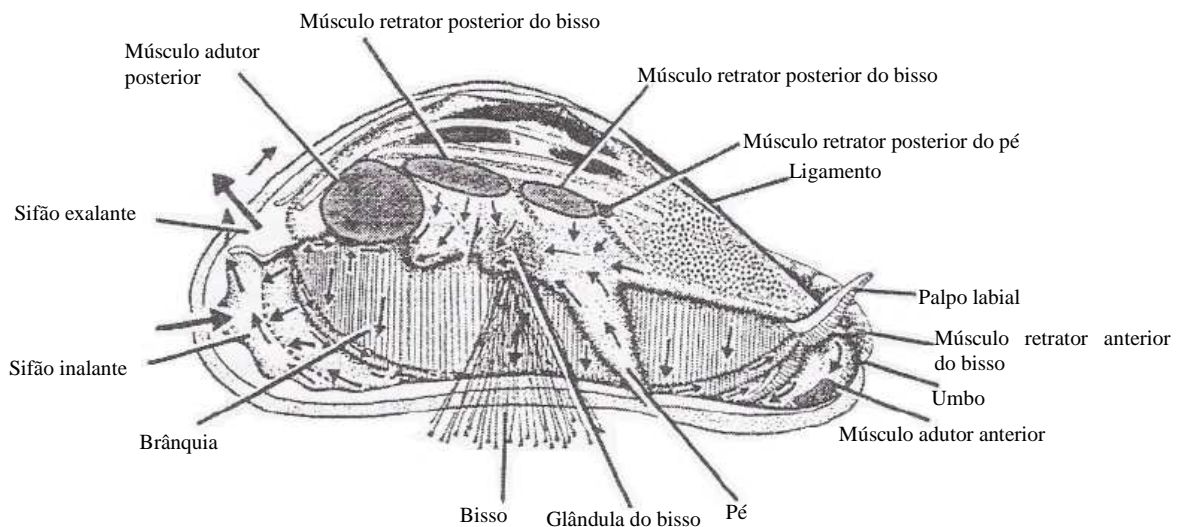


Figura 3.4: *Limnoperna fortunei*. Esquema da anatomia com detalhe das correntes ciliares. Fonte: Modificado de Morton (1973) e Darrigran & Damborenea (2006).

Quanto à predação, alguns estudos mostraram a existência de peixes predadores de *L. fortunei* no rio La Plata (PENCHASZADEH *et al.*, 2000; CATALDO *et al.*, 2002; GARCÍA & PROTOGINO, 2005), porém essa predação ainda não é suficiente para controlar o crescimento da população deste mexilhão. Esses autores verificaram a presença de mexilhões dourados no intestino e no conteúdo estomacal, como componente principal, nas espécies *Pterodoras granulosus* (Valenciennes 1821) (Doradidae), *Oxydoras kneri* Bleeker, 1862 (Doradidae), *Leporinus obtusidens* Valenciennes, 1846 (Anostomidae), *Ciprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Cyprinidae), *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803 (Pimelodidae), *Loricaria loricaria vetula* Valenciennes, 1835, (Loricariidae) e *Loricaria loricaria nudiventris* Valenciennes, 1840 (Loricariidae).

Todas essas características, comuns a espécies invasoras de moluscos que se tornam pragas (von RÜKERT *et al.*, 2004), fazem deste bivalve uma espécie causadora de grandes prejuízos econômicos e ambientais nas regiões onde foi introduzido.

3.2.2. Áreas de ocorrência

Uma espécie é considerada invasora quando não é nativa de um determinado ecossistema e cuja introdução neste ecossistema causa, ou é passível de causar, danos ambientais, econômicos ou à saúde humana - *Executive Order 13112 - National Invasive Species Council* – EUA (SILVA, 2006).

L. fortunei é originário do sudeste asiático, ocorrendo naturalmente na China, Tailândia, Coreia, Laos, Camboja, Vietnã e Indonésia. Nos últimos 30 anos essa espécie já foi registrada como espécie invasora em Hong Kong, Japão, Taiwan e América do Sul (RICCIARDI, 1998).

A chegada de *L. fortunei* na América do Sul foi registrada pela primeira vez em setembro de 1991, no Balneário Bagliardi, no estuário do rio La Plata, Argentina, provavelmente trazido na água de lastro de grandes embarcações (PASTORINO *et al.*, 1993; DARRIGRAN & PASTORINO, 1995).

No Brasil, a presença de *L. fortunei* foi registrada pela primeira vez em 1998, no Delta do rio Jacuí, próximo a Porto Alegre. Em 1999, foi detectada no rio Guaíba, no qual o rio Jacuí deságua, e na usina hidrelétrica Binacional Paraguaia-Argentina de Yacyretá, no rio Paraná (DARRIGRAN, 2002). Em abril de 2001, foi encontrado em uma das tomadas de água da barragem da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu/PR, 400 km acima de Yacyretá (PATELLA *et al.*, 2004). Em novembro do mesmo ano, a presença deste mexilhão foi registrada em reservatórios distantes dos locais anteriores como Piraquara e Guaricana, nas proximidades das nascentes do rio Iguaçu, no extremo leste do estado do Paraná, sem registros intermediários ao longo desse rio que percorre o Paraná de leste a oeste. Sugere-se que devem ter ocorrido introduções independentes, cujas causas, provavelmente antrópicas, são ainda desconhecidas (TAKEDA *et al.*, 2005). O sistema hidroviário formado pelos rios Paraguai e Paraná constitui o principal meio de dispersão de *L. fortunei* para o centro do Brasil, transportado junto às embarcações que navegam nessas bacias (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Em 2004, foram encontradas larvas em amostras de plâncton coletadas na confluência

do rio Paranaíba com os rios Aporé e Claro, entre os estados de Goiás e Minas Gerais (ROLLA & MOTA, 2010).

No estado do Mato Grosso, a sua ocorrência está registrada no rio Paraguai até a altura de Bela Vista do Norte (17°38'04" S e 57°41'45" W), acima da confluência com o rio Cuiabá. Também está registrada sua ocorrência para as baías Tuiuiu, próximo a Corumbá, Castelo, Mandioré, Zé Dias e Gaíva. Em 2003, o mexilhão dourado foi registrado no rio Miranda, um dos tributários do rio Paraguai na região conhecida como Passo do Lontra (19°34'39" S, 57°02'15" W) (OLIVEIRA, 2003).

Desde então, tem se reproduzido e se disseminado aceleradamente. Em 2006, esta espécie foi registrada pela primeira vez na bacia hidrográfica do rio dos Sinos (RS), ampliando em 36,06 km a nordeste a ocorrência geográfica até então descrita para esta espécie no estado do Rio Grande do Sul (HUBEL *et al.*, 2008).

Atualmente, esta espécie já infestou rios, lagos e reservatórios da Região Sul, Pantanal Matogrossense e Sudeste, encontrando-se presente nas usinas hidrelétricas, entre outras, de Sérgio Mota (Porto Primavera), Jupia e Ilha Solteira, e no reservatório de Barra Bonita (rio Tietê), em São Paulo (OLIVEIRA, 2003; AVELAR *et al.*, 2004; von RÜKERT *et al.*, 2004), como apresentado na Figura 3.5.

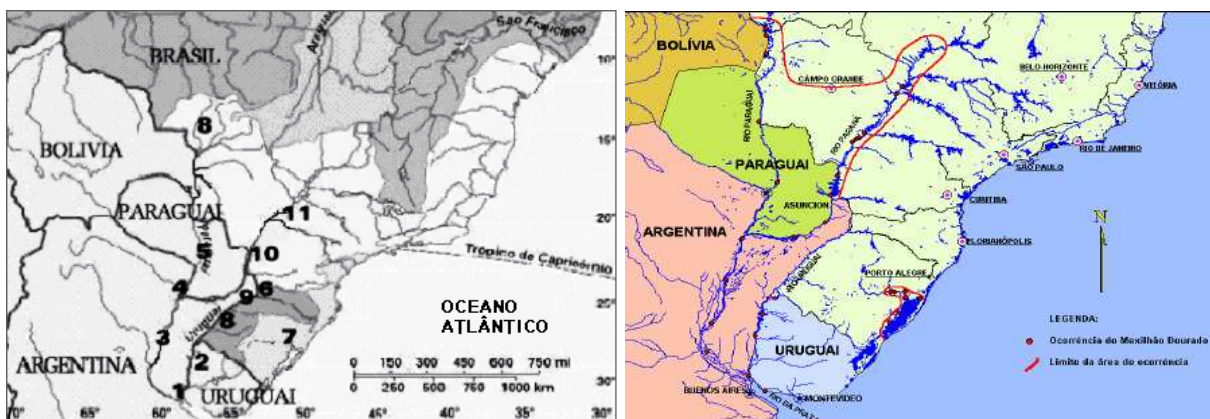


Figura 3.5: Mapas indicativos das áreas de ocorrência de *Limnoperna fortunei* na América do Sul (à esquerda) e no Brasil (à direita).

Fonte: modificado de AVELAR *et al.*, 2004 e <<http://www.mma.gov.br/aguadelaastro>> acesso em abril de 2007.

3.2.3. Impactos ambientais

A introdução de espécies em um novo ecossistema pode ser ambiental e economicamente preocupante (McNEELY, 2001). Isso porque em habitats que apresentam condições favoráveis para o desenvolvimento desta espécie, como ausência de predadores, parasitas e/ou competidores, podem ocorrer altas densidades populacionais desta (CARLTON, 1989; BOLTOVSKOY & CATALDO, 1999) afetando comunidades biológicas de espécies nativas, assim como as características químicas e/ou físicas do ecossistema (DARRIGRAN *et al.*, 1998; DARRIGRAN *et al.*, 2001; BRUGNOLI *et al.*, 2005).

O rápido incremento da densidade populacional de *L. fortunei* provocou um impacto ambiental direto em todas as regiões invadidas por esta espécie. Sabe-se que na bacia do rio La Plata o estabelecimento desta afetou a comunidade bentônica, criando novos habitats, os quais foram colonizados por outros taxa (oligoquetas, hirudíneas, larvas de insetos, entre outros), modificando a composição e a riqueza da comunidade natural (DARRIGRAN *et al.*, 1998).

No Balneário Bagliardi (Argentina) foi detectado um deslocamento de pelo menos duas espécies de gastrópodes nativos: *Chilina fluminea* Maton, 1809 (Gastropoda, Chiliniidae) e *Gundlachia concentrica* d'Orbigny, 1835 (Gastropoda, Ancyliidae), enquanto a espécie *Heleobia piscium* d'Orbigny, 1835 (Gastropoda, Cochliopidae) demonstrou boa adaptação neste microambiente alterado pela presença do mexilhão (DARRIGRAN, 2005).

Talvez um dos piores impactos diretos sobre populações nativas causado pelo mexilhão dourado seja sua incrustação nas valvas de espécies da malacofauna, dificultando a movimentação das valvas e impedindo a respiração e alimentação, levando os organismos parasitados à morte. Entretanto, dados quantitativos sobre o assunto ainda são desconhecidos (DARRIGRAN, 2005). A fixação do mexilhão dourado não é exclusiva em espécies nativas, sendo também afetadas espécies invasoras como, por exemplo, *Pomacea canaliculata* Lamarck, 1822 (Gastropoda, Ampullariidae), *Aegla platensis* Schmitt, 1942 (Anomura, Aegliidae) e *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia, Corbiculidae) (DARRIGRAN, 2002) (Figura 3.6). Mansur *et al.* (2003) registraram a presença de 172 indivíduos em um único espécime de *C. fluminea*. No rio Guaíba (RS), foi encontrado mexilhão dourado fixo sobre concha e partes moles de bivalves nativos como *Diplodon koseritzi* (Clessin, 1888)

(Bivalvia, Hyriidae) e *Leila blanivilliana* (Lea, 1834) (Bivalvia, Mycetopodidae) (OLIVEIRA, 2003).

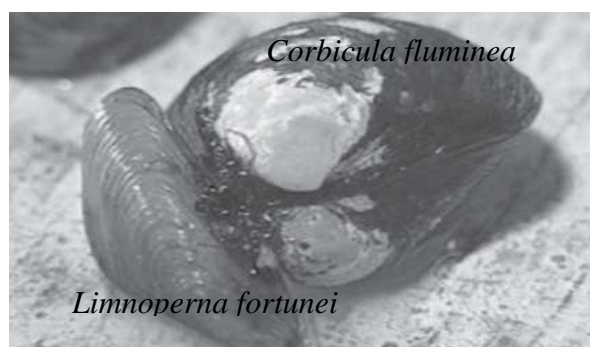


Figura 3.6: *Limnoperna fortunei* incrustado na concha de *Corbicula fluminea*.

Fonte: Adaptado de MAGARA *et al.*, 2001.

Além de se fixar em outras espécies de moluscos, sabe-se que o mexilhão fixa-se também em espécies vegetais aquáticas (por exemplo, o junco *Scirpus californicus* Steud, 1841 - Cyperaceae), causando o efeito de *macrofouling* sobre estas, podendo levar à morte dos espécimes incrustados por estrangulamento de raízes e troncos, como verificado por Mansur *et al.* (2003) no Lago Guaíba e na Lagoa dos Patos (RS).

Outro grande problema causado pelas altas densidades de *L. fortunei* é a alteração das cadeias alimentares (CATALDO *et al.*, 2002; DARRIGRAN, 2005) (Figura 3.7). Penchaszadech *et al.* (2000) verificaram que a espécie de peixe nativa da Bacia La Plata, *L. obtusidens*, alterou sua dieta original, sendo, atualmente, o mexilhão sua principal alimentação. García & Protogino (2005) também verificaram na mesma bacia hidrográfica que, além de *L. obtusidens*, outras duas espécies apresentaram alteração na dieta alimentar: *Rhinodoras dorbynyi* (Kner 1855) (Doradidae) e *Brochiloricaria chauliodon* Isbrücker, 1979 (Loricariidae). Apesar de, no Brasil, o impacto do mexilhão dourado sobre comunidades nativas ainda não ter sido bem estudado, Oliveira (2003) verificou, para o alto do rio Paraguai, que o mexilhão tem sido utilizado como alimento por peixes pertencentes às famílias Characidae (*Piaratus mesopotamicus* Holmberg, 1887), Anostomidae (*Leporinus friderici* Bloch, 1794), Pimelodidae (*P. maculatus*) e Doradidae (*O. kneri* e *P. granulosus*), sendo o uso variável de 12% para *P. maculatus* até 100% no *P. mesopotamicus* e *L. friderici*.



Figura 3.7: À esquerda: “pacu” encontrado no Pantanal Matogrossense com o intestino obstruído pela grande quantidade de conchas inteiras de *L. fortunei*. À direita: “armado” encontrado morto no reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu/PR com muitas conchas inteiras de *L. fortunei* no intestino.

Fotos: à esquerda, Renata Claudi. À direita, Daniel Coscarelli.

Devido à sua alta capacidade filtradora e resistência, metais pesados, organoclorados e toxinas (por exemplo, cianotoxinas), podem ser facilmente acumulados por *L. fortunei*, causando uma biomagnificação na cadeia alimentar como verificado por Darrigran & Coppola (1994), Villar *et al.* (1999), Oliveira (2003) e von Rükert *et al.* (2004).

Conforme revisão bibliográfica feita por Ricciardi (1998), impactos documentados para outros bivalves invasores sugerem que a filtração de uma densa população de *L. fortunei* reduz a biomassa fitoplanctônica e o índice de turbidez da água, aumentando a proliferação de macrófitas aquáticas, reduzindo a população zooplancônica (limitando a disponibilidade de alimentos para alevinos e peixes planctívoros), aumentando as taxas de sedimentação e alterando os ciclos bioquímicos aquáticos. Ainda, a respiração de uma grande população de mexilhões pode causar uma brusca redução na taxa de oxigênio aquático dissolvido. Silva (2006) encontrou, para o mexilhão dourado, a maior taxa de filtração já descrita para um bivalve invasor até o momento (724,9 ml/h).

3.2.4. Impactos econômicos

Com a capacidade de se incrustar em vários tipos de superfícies submersas, *L. fortunei* está causando graves problemas em sistemas de abastecimento de água, centrais hidrelétricas, térmicas e nucleares, frigoríficos, indústrias processadoras de óleo, fábricas de papel, petroquímicas e demais outras que utilizam água de rios para seus processos (DARRIGRAN, 2005). Alcançando os sistemas, as larvas se fixam a todo tipo de substrato, crescendo descontroladamente em tubulações e demais instalações, interferindo no fluxo de água,

provocando obstrução de canalizações, filtros, bombas, condensadores, sistemas de arrefecimento e turbinas. Outros transtornos referem-se à redução da velocidade da água causada por perdas devido a efeitos turbulentos, acúmulo de barreiras e poluição de canais devido à mortalidade maciça, redução na eficiência das bombas, aumento da corrosão de tubulações e estruturas devido ao crescimento de fungos e bactérias associados, gerando elevação de gastos financeiros e operacionais devido ao aumento da frequência de limpeza do sistema, além da redução da eficiência do mesmo (MACKIE & CLAUDI, 2010). Tudo isso fez com que em 22 de dezembro de 2003, o Ministério do Meio Ambiente (MMA) editasse a Portaria n.º 494, criando uma Força Tarefa Nacional (FTN), composta por representantes de 7 ministérios e 13 entidades ligadas aos setores de geração de energia, abastecimento e meio ambiente, para pesquisar e controlar a expansão do mexilhão dourado (<<http://www.mma.gov.br>> acesso em janeiro de 2009).

Atualmente, a estimativa das perdas de carga ao longo de condutos operando sob *macrofouling* é feita por meio de inferências e interpolações, assumindo-se similaridades e semelhanças que podem se revelar um tanto equivocadas na prática. A infestação de tubulações por *L. fortunei* aumenta sua rugosidade relativa e reduz o seu diâmetro interno (Figura 3.8). Como conseqüências, são gerados custos operacionais originalmente não previstos, decorrentes da parada de sistemas para a desobstrução e manutenção, e aumento do consumo de energia elétrica em sistemas de bombeamento, além da perda de eficiência hidráulica.

Segundo Resende (2007), a aglomeração de *L. fortunei* em camadas no interior de tubulações reduz sua área útil para o escoamento da água, aumentando também a rugosidade de sua parede interna. Para sustentar o mesmo nível de vazão em trânsito numa tubulação submetida a essa infestação, é necessário um aumento de pressão para compensar essa perda de carga hidráulica originalmente não presente no sistema. Esse efeito é agravado com a evolução da infestação, pois a quantidade de nutrientes e oxigênio diminui, causando a mortandade e deterioração de parte desses organismos, favorecendo o entupimento das tubulações e o comprometimento de peças hidráulicas, como válvulas, registros e filtros.

A dispersão de *L. fortunei* ocorre na fase larval fazendo com que, devido ao seu pequeno tamanho (menor que 1 mm), seja capaz de ultrapassar filtros e grades de sistemas de água, invadindo rapidamente novos ambientes com água que apresentam boa oxigenação

(DARRIGRAN & PASTORINO, 1995; MANSUR *et al.*, 2003). Em reservatórios de sistemas de abastecimento, a presença dos mexilhões provoca a contaminação da água devido à mortandade e deterioração em massa de indivíduos, conferindo-lhe odor e sabor desagradáveis, como já vem ocorrendo na cidade de Porto Alegre (COLARES *et al.*, 2002).

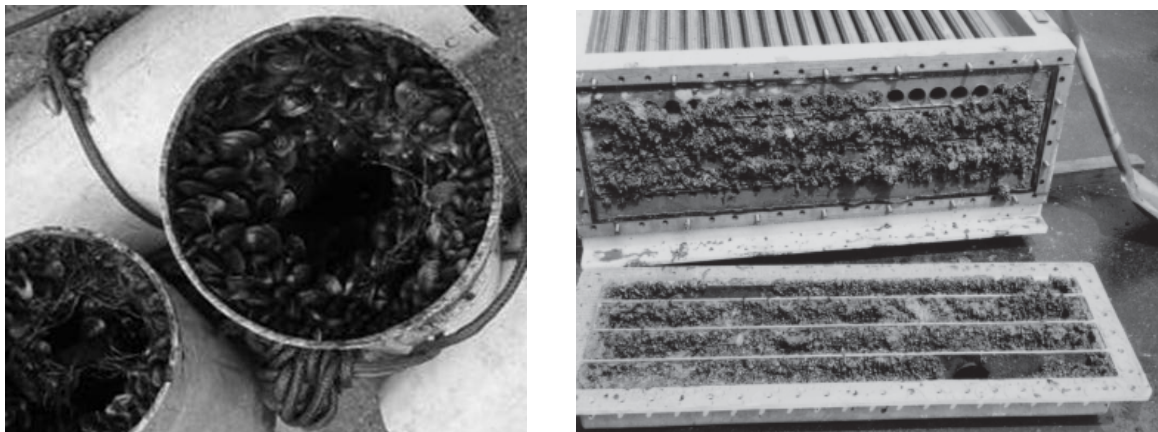


Figura 3.8: À esquerda: *Limnoperna fortunei* incrustado no interior de tubulações. À direita: acúmulo de *L. fortunei* no sistema de refrigeração do gerador de uma usina hidrelétrica.

Fontes: à esquerda, OLIVEIRA *et al.*, 2004. À direita, MAGARA *et al.*, 2001.

Em usinas hidrelétricas, a incrustação de mexilhões nas grades de tomadas d'água provoca uma perda de carga do sistema diminuindo o rendimento da usina. Além disso, a redução da área livre provoca um aumento do empuxo da água sobre a grade, podendo ocasionar um rompimento desta (Figura 3.9).



Figura 3.9: Grade de tomada d'água de uma Usina Hidrelétrica incrustada com *L. fortunei*.

Fotos: Rodrigo De Filippo.

Considerando que *L. fortunei* já foi detectado na Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira, localizada no rio Paraná, próxima à foz do rio Grande (von RÜKERT *et al.*, 2004), torna-se

ainda mais preocupante a proliferação deste molusco. Isto porque, em cursos de rios onde existem aproveitamentos hidroenergéticos em cascata, como é o caso do rio Grande (apresentando 12 represas) (COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS - CEMIG, 2000) e vários outros rios brasileiros, indivíduos adultos e larvas são facilmente transportados pela corrente de água, barcos ou outros organismos pelo curso do rio, invadindo rapidamente áreas onde não ocorriam anteriormente.

Apesar dos prejuízos financeiros e ambientais ainda não terem sido contabilizados, estima-se que a situação seja semelhante ao que ocorre na América do Norte, devido à infestação por *D. polymorpha*. Segundo dados da *United States Army Corps of Engineers* (<<http://www.usace.army.mil>> acesso em outubro de 2005), nos EUA gastaram-se, no período de 1993 a 1999, mais de US\$ 3,1 bilhões e, ao se somar impactos em indústrias, negócios e comunidades, esta soma foi superior a US\$ 5 bilhões. Dados mais recentes inferem que estes gastos financeiros com os prejuízos causados e controle do mexilhão zebra giram em torno de 1 bilhão de dólares por ano (PIMENTEL *et al.*, 2005). No Canadá, a Ontário Hydro calcula que a média do prejuízo dos impactos causados anualmente por máquina geradora é de US\$ 376.000,00 (<<http://www.usace.army.mil>> acesso em outubro de 2005).

No Pantanal, foi constatado que o mexilhão dourado entra no sistema de refrigeração dos motores das embarcações impedindo que a água circule, causando o superaquecimento do motor, podendo este vir a fundir. Também foi observado no sistema de captação de água (bombas e tubulações) e na estação de tratamento de água das cidades de Corumbá e Ladário. Observou-se ainda a colonização desse bivalve em tanques-rede submersos utilizados para piscicultura localizados em um canal lateral ao rio Paraguai, próximo a Corumbá. Os bivalves foram encontrados fixos em tela de aço, cordas de nylon e tambores plásticos (OLIVEIRA, 2003).

3.2.5. Medidas de controle

Uma das possibilidades para evitar a incrustação em locais já infestados é o emprego de tintas especiais que dificultam a adesão de *L. fortunei*, mas essa alternativa tem sua utilização ainda muito restrita e em caráter experimental, uma vez que pode causar danos ao ecossistema aquático. Caprari & Lecot (2001) concluíram em seus experimentos que tintas a base de óxido cuproso ou óxido de zinco são bastante eficientes, evitando a incrustação de *L. fortunei* a um

substrato. Entretanto, estudos para avaliar os impactos ambientais do uso destas tintas ainda não foram realizados.

Darrigran *et al.* (2001; 2007) verificaram que o biocida comercial Bulab 6002[®], polímero de amônio quaternário, mostrou-se eficiente quando em concentração de 1 mg/l, inativando 100% das larvas após exposição por 24 horas através da não secreção do bisco e, quando submetidas à concentração de 16 mg/l, 70-80% das larvas morreram em um tempo menor de exposição.

Cataldo *et al.* (2003) verificaram a eficiência do cloro e de três tipos de moluscidas comerciais (Clam Trol CT2, H130M e Bayluscide WP70), já empregados no combate a *D. polymorpha*, *C. fluminea* e outros moluscos aquáticos, sobre *L. fortunei*. Todos os produtos químicos utilizados nesse experimento mostraram ser tóxicos para o mexilhão, entretanto, com períodos longos de exposição e altas taxas de concentração, podendo influenciar drasticamente o ecossistema onde esses produtos sejam empregados.

O cloro vem sendo um dos principais produtos utilizados no combate a *L. fortunei* bem como para outros moluscos causadores de *macrofouling*s. Entretanto, já foi verificado que a eficiência desta medida está relacionada à temperatura em que o produto é empregado bem como ao tempo de contato do produto com o molusco (HARRINGTON *et al.*, 1997; CATALDO *et al.*, 2003; RAJAGOPAL *et al.*, 2002; 2003a, b; 2005). Aplicações de 1,0 mg/l de cloro por um período de 31 dias, a uma temperatura de 20°C, em intervalos de 2-3 meses são efetivas para manterem condutos forçados limpos. Entretanto, densas incrustações requerem doses iniciais de aplicações mais altas, por exemplo, 200 mg/l (MORTON *et al.*, 1976). Nos testes realizados por Cataldo *et al.* (2003), somente em temperaturas em torno de 25° C e concentrações superiores a 25 mg/l o cloro mostrou-se eficiente no combate a *L. fortunei*. Porém, esses autores sugerem que a essa temperatura, o cloro seja efetivo em concentrações mais baixas que as testadas.

Nas instalações das estações de tratamento de água do DMAE (Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre) não foi verificado o *biofouling* e/ou o desenvolvimento de *L. fortunei*, sugerindo que o processo de floculação através do sulfato de alumínio pode funcionar como uma barreira para o desenvolvimento deste molusco (COLARES *et al.*, 2002).

3.3. Uso de moluscidas naturais no controle de moluscos dulcícolas

As substâncias denominadas moluscidas são utilizadas para o extermínio de moluscos que vivem em jardins, lavouras, estufas e campos, sendo também utilizadas para controlar caramujos vetores de parasitos. Estes moluscidas podem ser classificados em sintéticos e naturais (CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Os moluscidas sintéticos são bastante utilizados em programas de controle da esquistossomose com o objetivo de combater os caramujos vetores. Estima-se que mais de 7.000 produtos químicos já foram testados com esta finalidade, mas poucos merecem destaque (CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Entretanto, o uso de moluscidas sintéticos tem gerado preocupação em relação a três fatores: o desenvolvimento de resistência dos caramujos a essas substâncias, a baixa seletividade que apresentam (atuando sobre outras espécies da fauna causando significativa alteração no ecossistema aquático) e o custo elevado desses produtos. Nesse contexto, a procura de substâncias facilmente biodegradáveis tem aumentado o interesse pelo uso de moluscidas de origem vegetal, havendo vários relatos na literatura sobre plantas e seus princípios ativos, que foram estudadas quanto ao seu potencial moluscicida (McCULLOUGH *et al.*, 1980).

Desde 1930 mais de 1.100 espécies de plantas têm sido estudadas quanto às suas ações moluscidas para o controle da esquistossomose, incluindo aproximadamente 600 espécies na China (MOTT, 1987).

Um dos primeiros relatos do uso de moluscidas naturais ocorreu no Sudão, referente à espécie *Balanites aegyptiaca* Linnaeus, 1758 (Balanitaceae), uma árvore típica do deserto. Os frutos, ao caírem das árvores, inibiam a densidade populacional de caramujos dos gêneros *Bulinus* Müller, 1781 (Gastropoda, Planorbidae) e *Planorbis* Müller, 1773 (Gastropoda, Planorbidae), mas eram tóxicos para os demais indivíduos não-alvos (MOTT, 1987).

No Brasil, as primeiras pesquisas com moluscidas naturais datam de 1944 e demonstraram atividade de extratos aquosos do caule de *Serjania* sp. Mill, 1754 (Sapindaceae) (cipó-timbó) e *Sapindus saponaria* L. 1753 (Sapindaceae) (saboneteira) em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda, Planorbidae) (CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Para a seleção de plantas moluscicidas foram propostos alguns quesitos como: toxicidade, disponibilidade, apresentar crescimento anual e adaptabilidade em diferentes condições locais, localização da atividade moluscicida em partes de fácil regeneração na planta, como, por exemplo, folhas e caules. Para a utilização do produto recomenda-se que deve ser estocável e manter a sua viabilidade por pelo menos um ano, estabilidade física e química, valor etnobotânico e extração e aplicação fáceis, utilizando preferencialmente extratos aquosos (MOTT, 1987).

Jurberg *et al.* (1989) fizeram o levantamento de 344 espécies vegetais brasileiras com ações moluscicidas. Dentre estas, 26 espécies em 19 famílias causaram mortalidade em concentrações inferiores a 100 ppm. As famílias Euphorbiaceae e Sapindaceae, com 2 espécies e 1 espécie, respectivamente, provocaram 100% de mortalidade em concentrações inferiores a 10 ppm. Dentre as famílias estudadas, destacam-se as espécies *Euphorbia cotinifolia* L., 1753 (Euphorbiaceae), *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook., 1829 (Euphorbiaceae), *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N. E. B.) Ursch & Leandri, 1946 (Euphorbiaceae) e *Euphorbia tirucalli* L., 1753 (Euphorbiaceae) que causaram mortalidade entre 20 e 100% em concentrações que variaram entre 0,5 a 20 ppm, dentro dos critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

A espécie *E. splendens*, em um trabalho desenvolvido por Vasconcellos & Schall (1986), apresentou excelente ação moluscicida para o gênero *Biomphalaria* spp. empregada em dose menor que 0.5 mg/l, sendo esta oito vezes menor que a dose letal para peixes (4 mg/l).

Levando em consideração todos os critérios citados anteriormente em relação à seleção de uma planta como moluscicida, em 1998, a Fundação do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ. IOC, RJ) patenteou, na área de biotecnologia, o método de coleta, forma de extração e aplicação do látex de *E. splendens* var. *hislopii* como moluscicida (VASCONCELLOS, 2000).

Apesar de serem muitas as referências de plantas com ações moluscicidas, estas foram estudadas quase que exclusivamente para os hospedeiros intermediários de doenças parasitárias humanas como, por exemplo, *B. glabrata*. Para *D. polymorpha*, Lee *et al.* (1993) relatam os efeitos moluscicidas da planta *P. dodecandra* a uma concentração de 5 ppm.

Entretanto, para *L. fortunei*, nenhum trabalho ainda está disponível sobre a aplicação de moluscidas vegetais como forma de controle e combate.

A espécie *E. splendens* var. *hislopii* foi escolhida para este trabalho por apresentar suas características físico-químicas bem determinadas, por ser uma planta bastante estudada em relação à sua ação moluscida sobre espécies de *Biomphalaria*, além de ser uma planta de fácil acesso, cultivo e regeneração.

Esta planta é originária de Madagascar e foi introduzida no Brasil com o objetivo de utilização em cercas vivas recebendo vários nomes populares de acordo com a região: “bem-casados” e “coroa de Nossa Senhora” (Minas Gerais), “duas amigas” (Bahia), “Coroa de Cristo” (Rio de Janeiro e Minas Gerais) e “martírios” (nos demais estados). Caracteriza-se por um arbusto pequeno com longos e contorcidos galhos cobertos com muitos espinhos, folhas agrupadas presas no ápice dos galhos e presença de brácteas pequenas e avermelhadas (SCHALL *et al.*, 1992).

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1965) preconiza normas para testes com moluscidas diversos e recomenda a procura de plantas e produtos vegetais dotados de propriedades que possam ser utilizados sem afetar o equilíbrio do meio ambiente. Essa metodologia considera que o extrato pode ser classificado como inativo, se causar de 0 a 30% de mortalidade, parcialmente ativo, se causar de 40 a 60% de mortalidade e ativo se causar de 70 a 100% de mortalidade aos caramujos. Porém, de acordo com a publicação lançada em 1983 (WHO, 1983), a planta só deve ser considerada ativa em relação às suas atividades moluscidas quando obtiver 90% de mortalidade nas concentrações de 20 ppm para extratos e 100 ppm para o vegetal bruto.

Um aspecto que deve ser levado em conta em relação às concentrações é a influência na biota aquática. Embora moluscidas naturais, em determinadas concentrações, sejam biodegradáveis, estes podem causar riscos ao ecossistema aquático. Sendo assim, a realização de testes de toxicidade ambiental paralelamente ao estudo da ação moluscida do vegetal é muito importante (LUNA *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007; SINGH & SINGH, 2005; CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Oliveira-Filho & Paumgarten (2000) compararam o efeito tóxico do látex de *Euphorbia milii* var. *hislopii* (sinônimo de *E. splendens*) (Euphorbiaceae) e da niclosamida (moluscida

bastante empregado no combate a *Biomphalaria*) sobre vários organismos aquáticos não alvos (oligoquetas, crustáceos planctônicos, peixes, *Pomacea* sp., rã, bactérias, algas e larvas de mosquito). Os resultados encontrados mostraram que o látex é menos tóxico que a niclosamida para a maioria das espécies estudadas.

3.4. Toxicidade para organismos aquáticos: avaliação de impacto ambiental no uso de moluscidas

Segundo publicação realizada pelo SCOPE (Comitê Científico do *Committee of the International Council of Scientific Unions – ICSU – sobre Problemas Ambientais*), em 1976 (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008), define-se como ecotoxicologia a

“ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado”.

Outro conceito de ecotoxicologia, definido por Ramade, em 1977, (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008) diz que esta é a “ciência que tem por objetivo estudar as modalidades de contaminação do ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos, produzidos por atividades humanas, seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que habitam a biosfera”.

No Brasil, a primeira iniciativa metodológica na área de ecotoxicologia se deu em 1975, em um programa internacional de padronização de testes de toxicidade aguda com peixes, desenvolvido pelo Comitê Técnico de Qualidade das Águas TC 147 da *International Organization for Standardization (ISO)*. A convite da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), esse programa contou com a participação da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

A partir desta data, vários métodos de ensaios de toxicidade aguda e crônica foram desenvolvidos e adaptados utilizando outros grupos de espécies e organismos, dentre os quais

algas, microcústáceos e peixes de águas continentais e marinhas e testes com sedimentos para avaliação hídrica (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

Apesar de entidades normativas de outros países terem estabelecidos suas normas em 1975, a ABNT, por meio de trabalhos desenvolvidos pelo GT02 (Grupo Toxicidade) da Comissão Técnica de Qualidade das Águas, começou a publicar suas primeiras normas relativas a testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos em 1987 (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

A toxicidade de agentes químicos no meio hídrico é avaliada por meio de ensaios ecotoxicológicos com organismos representativos da coluna d'água ou dos sedimentos de ambientes de água doce, estuarina ou marinha (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008).

O conhecimento desses agentes químicos a diferentes organismos aquáticos possibilita estabelecer limites permissíveis de várias substâncias químicas para a proteção da vida aquática e avaliar o impacto momentâneo que esses poluentes causam à biota dos corpos hídricos. Para esses estudos podem ser utilizados testes simples (por exemplo, testes de curto prazo para a avaliação dos efeitos agudos) ou complexos (por exemplo, testes de longo prazo para a avaliação dos efeitos crônicos) (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008).

Os ensaios de toxicidade podem ser utilizados para diversos fins como, por exemplo (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008):

- determinar a toxicidade de agentes químicos, efluentes líquidos e lixiviados de resíduos sólidos;
- estabelecer critérios e padrões de qualidade das águas;
- estabelecer limites máximos de lançamentos de efluentes líquidos nos corpos hídricos;
- avaliar a necessidade de tratamento de efluentes líquidos quanto às exigências de controle ambiental;
- avaliar a qualidade das águas;
- avaliar a toxicidade relativa de diferentes substâncias;
- avaliar a sensibilidade relativa de organismos aquáticos;
- subsidiar programas de monitoramento ambiental;

- estimar os impactos provocados em acidentes ambientais.

As espécies utilizadas nos testes de toxicidade devem ser sensíveis e ecologicamente representativas do ambiente. Quanto aos testes, estes devem ser o mais realístico possível, de fácil realização, de baixo custo, geradores de resultados facilmente quantificáveis através da interpolação gráfica e análise estatística e geradores de resultados úteis para avaliação de risco (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

Quanto à realização dos ensaios de toxicidade, estes podem ser realizados em condições controladas de laboratório ou em campo.

Os ensaios desenvolvidos, em condições laboratoriais para espécies representativas da coluna d'água, têm sido os mais utilizados em estudos para avaliação da toxicidade de substâncias químicas, efluentes e águas superficiais. O princípio básico para os ensaios de toxicidade requer condições ambientais específicas como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, dureza da água, fotoperíodo, duração do teste, entre outros. Nesses ensaios, os organismos-teste (por exemplo, peixes, microcústáceos e algas) são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada em soluções contidas nos frascos-teste por determinado período de tempo. Em todos os ensaios são utilizados frascos-controle (somente com água de diluição) nos quais se avalia a viabilidade do lote de organismos expostos. Após o período de exposição, verificam-se os efeitos da amostra sobre alguns parâmetros biológicos dos organismos como mortalidade, crescimento, reprodução e comportamento. Para ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia* spp. Müller, 1785 (Crustacea, Cladocera) avalia-se a imobilidade dos organismos, enquanto, com peixes, avalia-se a letalidade. Esses critérios são utilizados devido à facilidade de determinação e significado biológico e ecológico para o ambiente. Os efeitos observados são analisados estatisticamente e os resultados são expressos em unidades numéricas tais como CL50 (concentração mediana letal a 50% dos organismos testados), CE50 (concentração mediana efetiva que imobiliza 50% dos organismos-teste), CE90 (concentração mediana efetiva que imobiliza 90% dos organismos-teste) e CENO (maior concentração que não causa efeito aos organismos-teste) (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008).

O ensaio de toxicidade aguda avalia os efeitos, em geral severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao agente químico, em um curto período de tempo, geralmente de um a quatro dias. Devido à facilidade de execução, curta duração e baixo custo, esse tipo de ensaio

foi o primeiro a ser desenvolvido constituindo a base de dados ecotoxicológicos (ARAGÃO & ARAÚJO, 2008).

Ao buscar uma espécie para a utilização em testes de toxicidade é preciso que ela atenda a alguns princípios (DOMINGUES & BERTOLETTI, 2008):

- ser bastante sensível a uma diversidade de agentes químicos;
- conhecida quanto à sua biologia e comportamento;
- passível de fácil manutenção em laboratório;
- preferencialmente, possuir pequeno porte e ciclo de vida curto;
- possuir estabilidade genética que possibilite a obtenção de lotes uniformes de organismos.

Sendo assim, a utilização dos microcústáceos dos gêneros *Daphnia* e *Ceriodaphnia* Dana, 1853 (Crustacea, Cladocera) é bastante recomendada por atenderem a todos esses quesitos (DOMINGUES & BERTOLETTI, 2008).

As normas brasileiras ABNT NBR 13373 (2006) e ABNT NBR 12713 (2009) especificam os métodos para avaliação da toxicidade aguda de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, para *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Crustacea, Cladocera) e *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902 (Crustacea, Cladocera), e *Daphnia similis* Claus, 1876 (Crustacea, Cladocera) e *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera), respectivamente.

C. dubia é um microcústáceo zooplanctônico de 0,8 a 0,9 mm de comprimento, de corpo ovalado e com 8 a 10 espinhos anais, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado. Estes organismos, vulgarmente conhecidos como pulgas-d'água, não são brasileiros sendo encontrados na Europa e na América do Norte (ABNT NBR 13373, 2006).

C. silvestrii (Figura 3.10 A) assemelha-se à *C. dubia*, porém, o corpo é ovalado com acentuado sinus cervical e com 9 a 12 espinhos anais. Esta espécie é encontrada no Brasil e na Argentina (ABNT NBR 13373, 2006).

D. similis é um microcústáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são também conhecidos como pulgas-d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte (ABNT NBR 12713, 2009) (Figura 3.10 B).

D. magna possui características semelhantes à *D. similis*, entretanto, é um pouco maior, medindo de 5 a 6 mm de comprimento. Não é uma espécie brasileira, apresentando larga distribuição no hemisfério norte (ABNT NBR 12713, 2009).

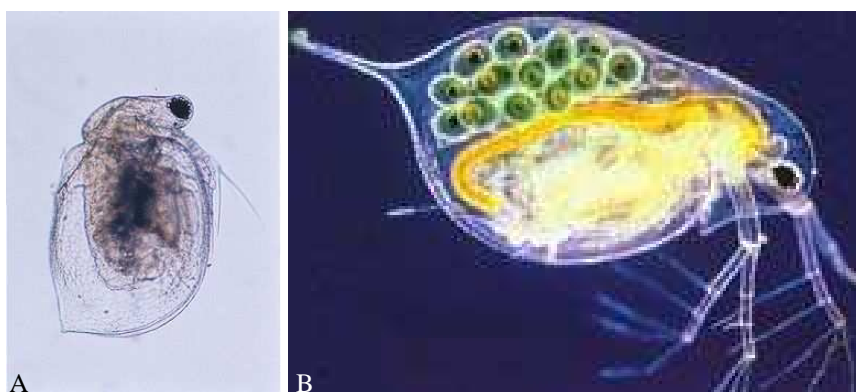


Figura 3.10: A: *Ceriodaphnia silvestrii*. B: *Daphnia similis*.

Fontes: A: <http://species.wikimedia.org/wiki/Ceriodaphnia_silvestrii> acesso em janeiro de 2011.

B: <<http://www.ipen.br/sitio/?idc=388>> acesso em janeiro de 2011.

Destas quatro espécies de cladóceros padronizadas para testes ecotoxicológicos, apenas *C. silvestrii* é encontrada no Brasil. No Brasil, foram identificadas apenas três espécies de *Daphnia*: *Daphnia laevis* Birge 1879, *Daphnia gessneri* Herbst e *Daphnia ambigua* Scourfield, 1947 (JACONETTI, 2005).

Poucas espécies de organismos brasileiros nativos têm sido utilizadas em testes de toxicidade. Este fato se deve, em parte, às dificuldades decorrentes da ausência de estudos sobre a biologia de espécies nativas que possam ser utilizadas como organismos-teste. Apesar disso, vários esforços têm sido realizados na tentativa de desenvolver metodologias utilizando espécies nativas como, por exemplo, *D. laevis* (FONSECA, 1991; Professora Dra. Arnola Cecília Rietzler – comunicação pessoal, 2011) (Figura 3.11).

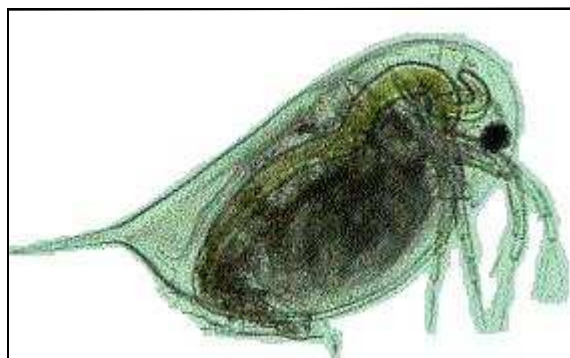


Figura 3.11: A: *Daphnia laevis*.

Fonte: <http://www.icb.ufmg.br/big/lgar/exp_fot.htm> acesso em janeiro de 2011.

Buscando melhorar este cenário, a utilização de espécies nativas para avaliação de toxicidade vem se tornando uma prática em diversos Centros de Pesquisas, pois possibilita maior representatividade quando se extrapola os dados de ensaios em laboratório às condições de campo, aumentando a eficiência e confiabilidade das avaliações ecotoxicológicas (JACONETTI, 2005).

Sendo assim, utilizou-se neste trabalho, além das espécies já padronizadas pela ABNT, *D. similis* e *C. silvestrii*, outra espécie nativa, *D. laevis*, para os testes de toxicidade do látex com o objetivo de se ter um resultado mais representativo do que aconteceria nos ecossistemas aquáticos brasileiros caso esta substância fosse utilizada, em campo, para o controle de *L. fortunei*.

4. METODOLOGIA

4.1. Reprodução das características de rugosidade para experimentação com *Limnoperna fortunei*

Devido ao risco de se trabalhar com espécies invasoras sem a devida infraestrutura laboratorial de segurança biológica, optou-se, inicialmente, anteriormente à construção do Laboratório de Estudos em *Limnoperna fortunei* (LELf), por desenvolver uma metodologia que permitisse a reprodução das características superficiais das colônias de *L. fortunei*, de modo que os efeitos hidráulicos pudessem ser representados. Assim, o procedimento adotado permite formar colônias artificiais a partir de conchas de indivíduos mortos e secos, sem a parte mole interna do animal, evitando a disseminação de larvas e indivíduos adultos dessa espécie.

As conchas dos indivíduos utilizadas nos experimentos foram coletadas em tanques-rede (tanques de piscicultura) no reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu e cedidas pela Itaipu Binacional.

Para a realização dos testes, as conchas secas dos mexilhões foram espalhadas sobre uma superfície coberta com lona plástica preta e manejadas de forma a se obter uma mistura representativa da melhor distribuição possível acerca das dimensões dos indivíduos, cuja variação foi de 0,5 a 3,5 cm de comprimento. Para se obter um conjunto de amostras representativas e que pudessem ser utilizadas nos experimentos, as conchas secas foram contadas e pesadas, formando-se amostras uniformes com 5000 indivíduos.

Optou-se por reproduzir, a partir de fotos, o formato das colônias de regiões já infestadas por *L. fortunei*.

Para a fixação das conchas na tubulação, foram testados alguns aglutinantes, tais como Loctite[®], argamassa de cimento, resina de poliéster e Araldite[®]. No caso da utilização de Loctite[®], observou-se que a concha se fixava bem à superfície, porém, após ser submetida a um escoamento tangencial, ela apresentava um elevado número de quebras. Para contornar esse problema, tentou-se colocar uma mistura de Loctite[®] com pó de concha (formando uma argamassa) que preenchesse os espaços entre as peças coladas. Esse procedimento apresentou dois problemas, sendo o primeiro relacionado ao tipo de superfície que se formava, com uma

rugosidade elevada e que invariavelmente iria interferir nos ensaios de perda de carga. E o segundo, relacionado ao custo bastante elevado dessa colagem.

No caso da colagem com argamassa de cimento, observou-se que seria necessário um tempo elevado para que essa secasse. Além disso, essa alternativa apresentou uma descamação da argamassa frente ao substrato (PVC) da tubulação. A resina de Poliéster mostrou-se muito difícil de se manejar e apresentou dificuldades de aplicação. Os testes com Araldite® apresentaram boas características de adesão, facilidade de aplicação, baixo custo e a superfície não apresentou rugosidade considerável, sendo este o aglutinante utilizado.

A simulação da infestação e incrustação dos moluscos no interior do trecho de testes foi realizada, então, mediante a colagem de conchas de indivíduos mortos em suas paredes internas, com o emprego do adesivo Araldite® de secagem rápida.

Os primeiros testes para colagem dos moluscos foram realizados no interior de trechos de tubulação de PVC. Para isso, seccionou-se a tubulação no sentido longitudinal. As duas metades do tubo ficaram expostas e permitiram a colagem das conchas dentro do mesmo. Para o fechamento longitudinal, fez-se uma vedação com borracha e com um contra tubo construído com um trecho de 1/8 de tubo cortado longitudinalmente. Essa tubulação foi mantida estanque mediante a colocação de um conjunto de braçadeiras que deram resistência mecânica ao conjunto.

A distribuição dos moluscos ao longo da superfície interna do tubo foi feita de forma que a densidade de indivíduos ficasse a mais uniforme possível seguindo o padrão geralmente observado nas infestações ocorridas em obras hidráulicas (Figura 4.1).



Figura 4.1: Colônia de *Limnoperna fortunei* em conduto forçado.

Foto: Rodrigo De Filippo

Para facilitar a colagem das conchas, a seção interna dos tubos foi marcada em intervalos regulares de 10 em 10 cm, com o objetivo de se controlar a densidade de indivíduos para cada taxa de infestação simulada.

4.2. Bancadas de testes em conduto forçado para experimentação com *Limnoperna fortunei*

Para a medição da perda de carga ao longo da tubulação infestada com *L. fortunei* foi idealizado um aparato de testes. Este aparato em condutos forçados visou identificar a evolução da perda de carga em circuitos hidráulicos. A seguir, a descrição do aparato e os sistemas de medição de pressão diferencial utilizados.

4.2.1. Aparato para teste de perda de carga com conchas de indivíduos mortos

A concepção da bancada de ensaios teve como principal objetivo possibilitar a execução de ensaios de medição de perda de carga em tubos de até 4 polegadas, 100 mm.

Os principais componentes da montagem foram (Figura 4.2):

- Unidade de bombeamento, englobando bomba EH, modelo EHF 80–12, 3500 rpm, rotor de 110 mm, vazão máxima nominal de 108 m³/h, altura manométrica de 6 mca e dotada de motor elétrico Eberle, modelo PB112M2/NM, indução trifásica, com potência nominal de 7,5 cv e 3500 rpm;
- Tubulação flexível (mangote) de entrada e de saída da bancada com diâmetro nominal de 4 polegadas;
- Trecho de teste (seção de testes), com 2500 mm de comprimento, com diâmetro externo de 110 mm e 100 mm de diâmetro interno;
- Dois trechos de tubos de PVC (não comerciais), com 300 e 600 mm de comprimento, com diâmetro externo de 100 mm e 90 mm de diâmetro interno, para conexão do mangote ao tubo de acrílico;

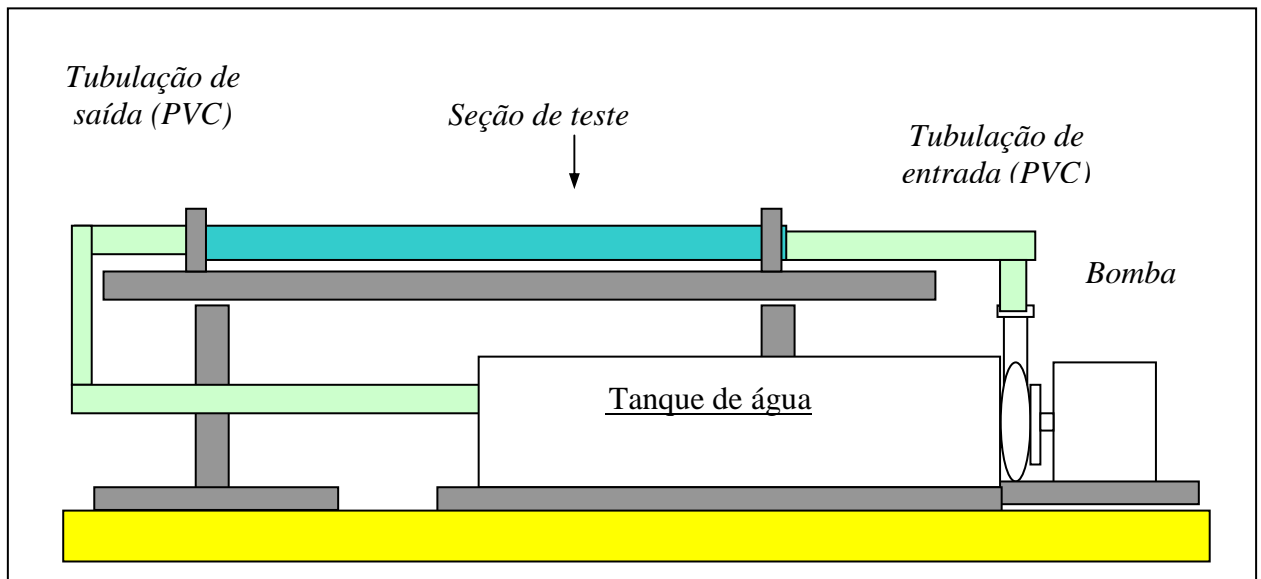


Figura 4.2: Aparato para teste de perda de carga em conduto forçado.

Desenho: Márcio Resende.

- Manômetro de coluna líquida, fundo de escala de 4.000 mm, utilizado para medição da perda de carga entre os pontos de tomada de pressão;
- Circuito eletrônico para medição de pressão, composto de transmissores de pressão, com sensibilidade de 0 a 2,1 bar e 4 a 20 mA, amperímetro com escala de 0 a 20 mA, resistores de 180 W e fonte de corrente alternada com tensão de 12 V. Esse equipamento é um sistema de medição padrão utilizado no Centro de Pesquisas Hidráulicas e Recursos Hídricos da UFMG.
- Medidor eletromagnético de vazão;
- Inversor de frequências, faixa de trabalho de 0 a 60 Hz, utilizado para alimentar o conjunto moto-bomba (Figura 4.3).

Para a construção da bancada foi utilizada uma base rígida a fim de evitar possíveis interferências provocadas por vibrações no sistema, induzidas pelo escoamento ou outra fonte. A bancada é composta de uma pedra granito de 2,4 m de comprimento por 1,5 m de largura, suportada por uma estrutura metálica hiperestática (metalon 50x50) montada sobre rodízios. Para evitar pequenos deslocamentos da bancada foram utilizados rodízios com freio.



Figura 4.3: Equipamento inversor de frequência.

Foto: Márcio Resende.

No segmento de tubulação denominado trecho de testes, apoiado sobre a bancada, no qual foi simulada a infestação de *L. fortunei*, fez-se a medição da perda de carga entre a entrada e saída desse trecho, utilizando-se um manômetro diferencial de tubo em “U” invertido e também transmissores eletrônicos de pressão (RESENDE, 2007).

As Figuras 4.4, 4.5, 4.6 e 4.7 apresentam o diagrama do circuito hidráulico da bancada de testes, uma vista da bancada montada e preparada para o início dos testes e detalhes do circuito de tomada de pressão.

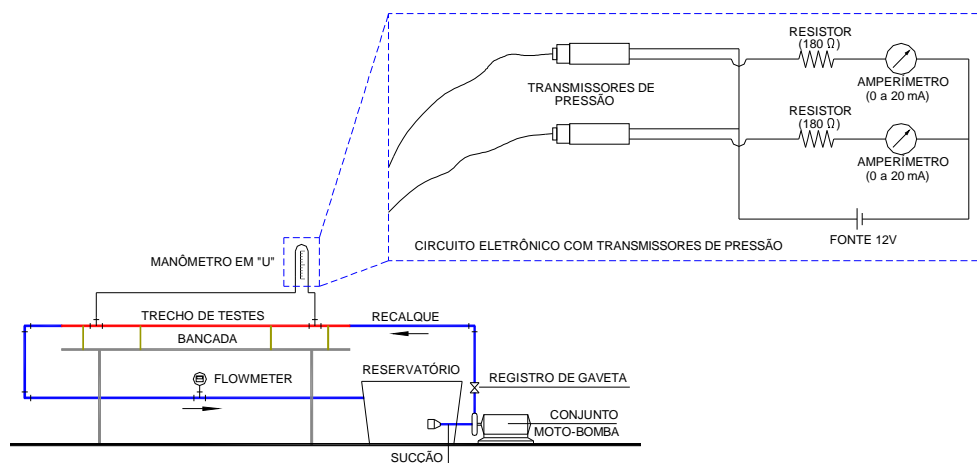


Figura 4.4: Diagrama esquemático do circuito hidráulico da bancada de testes.

Desenho: Márcio Resende.



Figura 4.5: Vista geral da bancada preparada para o início dos testes de perda de carga em condutos infestados por *Limnoperna fortunei*.

Foto: Márcio Resende.

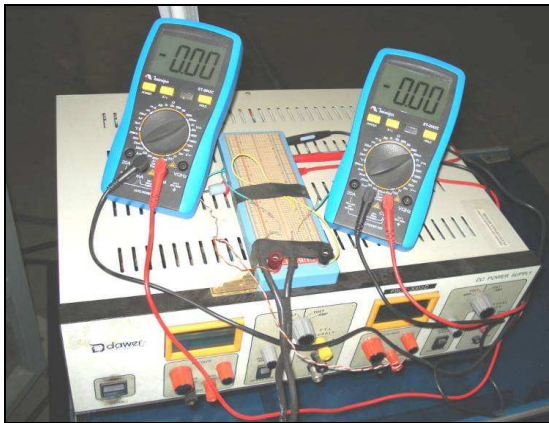


Figura 4.6: Detalhe dos instrumentos de medição de pressão. À esquerda, circuito eletrônico – unidade de tensão e amperímetros. À direita, manômetro de tubo em “U”.

Fotos: Márcio Resende.



Figura 4.7: Detalhe da tomada de pressão. À esquerda, conexão dos piezômetros e transmissores no trecho de testes. À direita, detalhe do transmissor eletrônico de pressão.

Fotos: Márcio Resende.

4.3. Laboratório de criação/manutenção de *Limnoperna fortunei*

4.3.1. Espaço físico

O Laboratório de Estudos em *Limnoperna fortunei* (LELf) foi instalado no Centro de Pesquisas Hidráulicas e Recursos Hídricos da UFMG em uma área isolada de 54 m² (Figura 4.8).

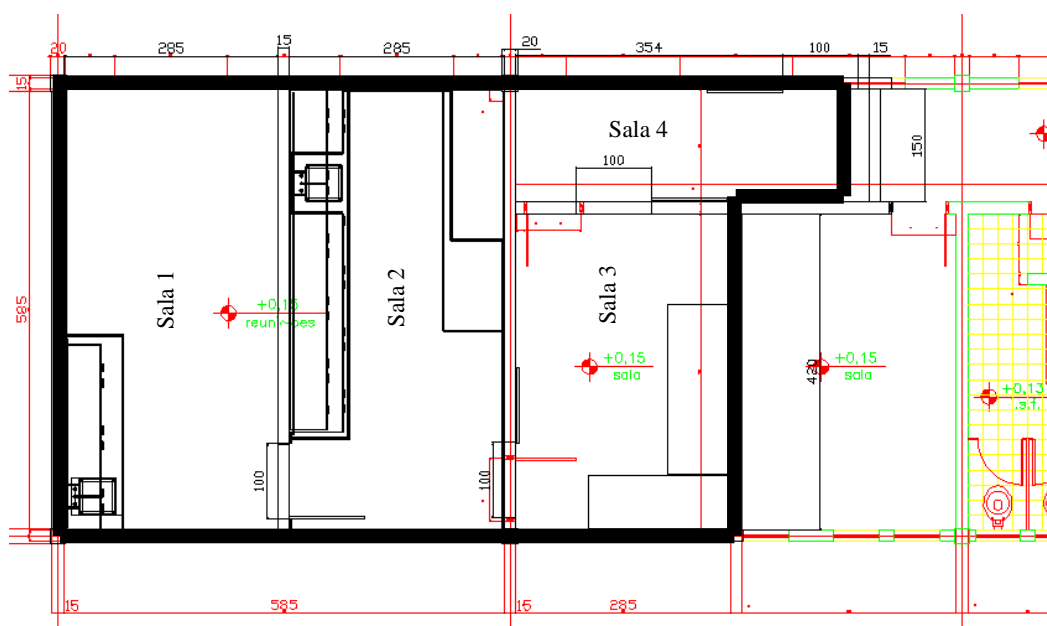


Figura 4.8 : Planta do LELf - área indicada pelo contorno em negrito.

Desenho: Fernando Tomé.

O laboratório consta de 4 ambientes sendo uma sala molhada (Sala 1), onde estão localizados os aquários para criação/manutenção dos mexilhões e a criação de algas para alimentação dos indivíduos. Nesta sala estão localizados 6 aquários de 200 litros e 1 aquário de 600 litros para a manutenção dos mexilhões. As algas foram mantidas em aquários de 25 litros. Os demais ambientes constam de uma sala de procedimentos de pesquisa e manutenção das matrizes das espécies de algas utilizadas (Sala 2), um escritório (Sala 3) e uma sala de entrada onde os equipamentos de proteção individual (jaleco, botas de borracha, máscaras e óculos, quando for o caso) são colocados para o acesso ao laboratório e onde todo o material para descarte é autoclavado (Sala 4) (Figura 4.9).



Figura 4.9: A: Sala 1; B e C: Sala 2; D: Sala3; E: Sala 4.

Fotos: Sílvia M. Gandolfi.

Em todas as salas foi utilizada tinta epóxi com fundo selante para a pintura das paredes, evitando umidade e tornando toda a área lavável (Figura 4.10).



Figura 4.10: Pintura das paredes com material selante e tinta epóxi.

Fotos: Cláudia M. G. Simeão.

No piso, foi utilizado material monolítico, Soledur QP₄[®], pois assim não há emendas, sendo o rodapé entre o piso e a parede curvo evitando o acúmulo de sujeiras como ocorre em ângulos retos (Figura 4.11).

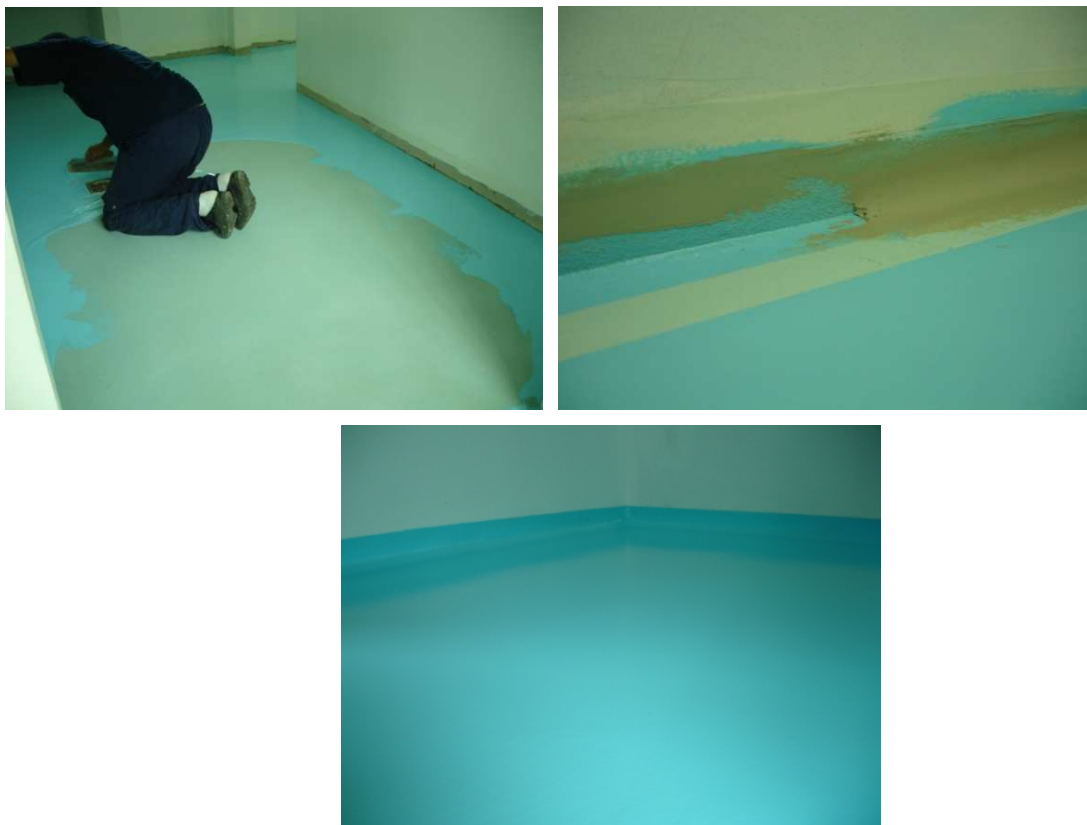


Figura 4.11: Piso monolítico com rodapé arredondado.

Fotos: Denise Maciel de Almeida Diniz.

Todas as janelas foram lacradas, sendo as janelas das salas 1 e 2 lacradas com placas de aço e vedadas com borracha, e todas as salas climatizadas. A iluminação é toda artificial nas salas 1 e 2, pois é essencial o controle dessa e da temperatura para a criação de *L. fortunei*.

As bancadas com cubas das salas 1 e 2 foram confeccionadas em material DuPont Corian[®], material impermeável não poroso e bastante resistente a choques mecânicos e a produtos químicos, certificado de acordo com as regulamentações e orientações da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Portaria SVS/MS N^o 326 de 30/07/97), *Food and Drug Administration* (FDA) e *National Sanitation Foundation* (NSF). Este material é feito com cerca de 70% de pó de bauxita misturado a material sintético. Não possui emendas, o que garante maior facilidade de limpeza e ausência de locais propícios para acúmulo de água contendo larvas de *L. fortunei* (Figura 4.12).



Figura 4.12: Bancada em material DuPont Corian[®]

Foto: Cláudia M. G. Simeão.

Todas as portas são vedantes e confeccionadas com material isolante termo-acústico e resistente a água (facilitando a limpeza e desinfecção).

Todas as salas internas ao LELf e a sala de saída possuem pedilúvio com solução desinfetante de amônia quaternária a 1% (HANADA *et al.*, 2004; JAENISH *et al.*, 2007).

4.3.2. Equipamentos

Com o objetivo de poder controlar a temperatura, todas as salas foram equipadas com sistema de ar condicionado.

A Sala 1 foi equipada com bombas instaladas em cada um dos aquário de 200 litros para circulação interna de água. Ao aquário de 600 litros foi acoplado um *chiller*, sistema de controle de temperatura através de água circulante.

Na Sala 2 foram instaladas 2 incubadoras B.O.D. Modelo 411 – FDP155 com fotoperíodo e temperaturas controlados para manutenção das matrizes de algas. Esta sala contém, ainda, um microscópio estereoscópico, uma bancada de fluxo laminar para procedimentos técnicos requerentes de ambiente estéril, medidor de pH, centrífuga para tubos Falcon e um destilador de água tipo Pilsen.

A Sala 3 possui geladeira e freezer para armazenamento de amostras e reagentes, além de um microscópio estereoscópico, microscópio óptico e um computador.

Na Sala 4 foram instaladas uma autoclave para esterilização do material de descarte e uma estufa para secagem de material para uso interno ao laboratório.

4.3.3. Efluentes do LELf

Toda a água utilizada para abastecimento dos aquários é tratada com anticloro, por ser o cloro um biocida (CATALDO *et al.*, 2003; RAJAGOPAL *et al.*, 2005).

Após utilização, todo o efluente do LELf é conduzido por uma tubulação de PVC de 2 polegadas (50 mm) para uma caixa de PVC com capacidade para 19 L mantida com cloro sólido no repartimento “corpo da caixa” (Figuras 4.13 e 4.14 A).



Figura 4.13: Caixa de PVC onde ocorre o primeiro tratamento químico do efluente.

Fonte: <<http://www.tigre.com.br>> acesso em agosto de 2008.

Após a saída do efluente dessa primeira caixa, o fluxo é conduzido por uma tubulação de 2 polegadas para uma segunda caixa (1000 l) a uma declividade de 1% para um segundo tratamento com cloro sólido (Figura 4.14 B).

Saindo dessa segunda caixa por uma tubulação de 2", o efluente é lançado em uma caixa de infiltração com capacidade para 3000 l (1,2 metros de profundidade por 3,50 m de altura) contendo 30 cm de pedras de mão e 30 cm de brita ao fundo (Figura 4.14 C). Todo o efluente é infiltrado, não sendo lançado na rede de coleta da COPASA.



Figura 4.14: A: primeiro tratamento com cloro sólido. B: segundo tratamento com cloro sólido. C: Caixa de infiltração.

Fotos: Cláudia M. G. Simeão.

A disposição final do sistema de tratamento do efluente ficou conforme Figura 4.15.



Figura 4.15: Disposição final do sistema de tratamento de efluentes do LELF.

Foto: Sílvia M. Gandolfi.

4.3.4. Criação/manutenção de *L. fortunei* em laboratório

4.3.4.1. Coleta de indivíduos

Os mexilhões mantidos no Laboratório de Estudos em *Limnoperna fortunei* (LELf) foram coletados (Licença de coleta IBAMA-Sisbio: 1509243 e 20345-2) no lago da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional (Rio Paraná), nas proximidades do laboratório do Portinho, localizado no Refúgio Biológico Bela Vista, em Foz do Iguaçu/PR.

A coleta foi realizada em bóias da plataforma flutuante dos tanques rede e em bóias que sustentam o trapiche (25° 26' 48,9'' S; 54° 32' 58,1'' W). Os parâmetros físico-químicos da água do local de coleta foram obtidos através de sonda Horiba® (*Water Quality Monitor*), Modelo U-50. Estes pontos foram escolhidos pela alta densidade populacional dos mexilhões aderidos às bóias, fácil acesso e pela baixa quantidade de substrato e macro algas associadas aos *clusters*. Os *clusters* foram coletados manualmente com auxílio de uma espátula em aço inox e transferidos para sacos plásticos (Figura 4.16).



Figura 4.16: A: tanque rede. B: trapiche. C e D: coleta manual de *Limnoperna fortunei*.
Fotos: Daniel Coscarelli.

Os *clusters* coletados foram lavados em água corrente do próprio reservatório e colocados, dentro do laboratório, sobre um tecido de algodão (tipo toalha) para secagem. Após 3 horas de secagem, os *clusters* foram pesados e acondicionados em caixas térmicas (Figura 4.17).



Figura 4.17: A: secagem de mexilhões para acondicionamento e transporte. B: pesagem dos *clusters* após processo de secagem.

Fotos: Daniel Coscarelli.

Para o acondicionamento, internamente à caixa, foram montadas camadas de estopa coberta com tecido fino de algodão intercaladas com camadas de mexilhões (Figura 4.18). Em cada caixa foram colocadas 4 camadas de mexilhões. Após a montagem, as caixas foram lacradas para transporte.



Figura 4.18: A e B: camada de estopa envolta em tecido de algodão. C: camada de mexilhões intercalada à estopa.

Fotos: Daniel Coscarelli.

Esses indivíduos foram transportados para o LELf, em Belo Horizonte, sendo o tempo entre o acondicionamento nas caixas térmicas e a transferência destes para os aquários do laboratório inferior a 24 horas.

4.3.4.2. Manutenção dos indivíduos em laboratório

Chegando ao laboratório, os *clusters* foram retirados das caixas térmicas e colocados em cada um dos 4 aquários contendo, aproximadamente, 200 litros de água desclorada sob aeração constante. A água foi mantida a 18 °C por um *chiller* acoplado ao *sump* (reservatório do

sistema de filtração dos aquários). Cada aquário possuía duas bombas submersas para circulação interna da água.

Após a retirada dos indivíduos das caixas térmicas, estas foram devidamente desinfetadas e permaneceram no laboratório.

Nas primeiras 48 horas, os 3 aquários sofreram 2 trocas totais de água. Após este período, a água dos aquários foi trocada, parcial ou totalmente, de acordo com a necessidade: presença de espuma, água turva e crescimento de fungos.

4.3.4.3. Alimentação dos indivíduos

Os aquários foram abastecidos uma vez ao dia com soluções das algas *Scenedesmus* sp. Meyen, 1829 (Chlorophyceae, Scenedesmaceae), *Selenastrum* sp. Kuetzing, 1845 (Chlorophyceae, Selenastraceae) e *Ankistrodesmus* sp. Corda, 1838 (Chlorophyceae, Selenastraceae) cultivadas em meio CHU 10 (CHU, 1942).

As culturas de algas foram contadas diariamente de acordo com a metodologia sugerida por Lourenço (2006) para obtenção da densidade populacional (número de células/ml da suspensão algácea). Após a contagem, a quantidade de algas fornecida por aquário foi calculada seguindo o protocolo fornecido por Mansur *et al.* (2008), sendo (Equação 4.1):

$$V = \frac{B \times C}{A} \quad (4.1)$$

na qual:

V = volume (ml) da suspensão algácea a ser adicionada na cultura

B = número de mexilhões em cada aquário

C = $3,2 \times 10^6$ (número de células a ser adicionado por *Limnoperna fortunei*)

A = número de células/ml da suspensão algácea (obtido através da contagem das algas)

O volume de cultura de algas necessário foi diluído em 20 l de água desclorada, em um barrilete, e gotejado sobre o aquário ao longo do dia (Figura 4.19).



Figura 4.19: Sistema de alimentação dos mexilhões em laboratório.

Foto: Daniel Coscarelli.

4.3.4.4. Criação/manutenção das culturas de algas

Dois tipos de cultivos de algas foram desenvolvidos para atender a demanda alimentar dos mexilhões. O primeiro tipo, cultura estoque, foi mantido em meio de cultura estéril e teve a finalidade de manter cepas de espécies de algas isoladas para servir de matrizes para o segundo tipo de cultivo. Este segundo tipo, cultura para alimentação, teve como objetivo promover o crescimento rápido das algas, em volumes maiores de meio de cultura para serem usados diretamente como fonte de alimento para os mexilhões.

As culturas estoques foram mantidas em frascos de vidros tipo Erlenmeyer, de três volumes diferentes (250 ml, 500 ml e 2l), vedados com tampa de gaze. Cada frasco foi preenchido com um volume de meio CHU10 (CHU, 1942), duas vezes concentrado, pH 7,18-7,22, correspondente a metade da sua capacidade total. As matrizes originais para o início do cultivo foram cedidas pelo Laboratório de Ficologia (ICB/UFMG). Todo o material utilizado nesse cultivo foi esterilizado por meio de autoclave (120°C por 20min) e os procedimentos de manutenção foram feitos em ambiente estéril de fluxo laminar. As culturas foram mantidas em incubadoras B.O.D. Modelo 411 – FPD 155, a 22°C, com fotoperíodo de 12 horas escuro – 12 horas claro (2500 lux). A manutenção das culturas consistiu em agitar os frascos duas vezes por dia para homogeneizar o meio e repicar as culturas quinzenalmente. Em cada repique, uma alíquota da cultura mãe foi colocada em um frasco de tamanho igual ao da cultura mãe, e outra alíquota, em um frasco de tamanho maior. As culturas dos frascos de 2 litros não foram repicadas, mas utilizadas como matrizes para o cultivo de alimentação.

O cultivo de alimentação também foi feito com meio CHU10, duas vezes concentrado, pH 7,18-7,22, mas em aquários de vidro de 15 x 40 x 40 cm (24 litros). Os aquários foram montados com 4 litros de matriz de cultura originária do cultivo de culturas estoque e 16 litros de meio de cultura. Cada aquário foi equipado com dois pontos de aeração constante, uma torneira de saída de água na altura correspondente a 5 litros de conteúdo do aquário, e tampados com filme plástico transparente. Os aquários ficaram expostos a iluminação artificial de 4 lâmpadas fluorescentes (Luz do dia especial, 40W cada) com fotoperíodo de 12 horas escuro – 12 horas claro (2920 lux) em temperatura ambiente. A concentração das algas nos aquários foi medida diariamente (LOURENÇO, 2006). A cultura estava pronta para uso quando atingisse a ordem de 10^7 células por ml. A utilização do aquário para alimentação foi feita retirando o volume necessário de cultura pela torneira de saída, até que se atingisse o volume final de 5 litros. O meio de cultura era repostado até a marca de 20 litros para nova utilização. Cada aquário foi utilizado três vezes e, então, lavado e remontado a partir de novas matrizes do cultivo de cultura estoque.

4.4. Extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* como controle químico de *Limnoperla fortunei*

4.4.1. Obtenção do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*

Amostras de látex de *E. splendens* var. *hislopii* foram coletadas conforme descrito por Vasconcellos & Amorim (2003b), no outono, obtidas de plantas cultivadas nos canteiros do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro (22°52'35.2'' S e 43°14'41.6'' W) (Figura 4.20). O látex foi coletado cerca de 10 cm abaixo do meristema apical de cada galho da planta após corte de seção transversal. O látex bruto foi coletado em recipiente de vidro envolto com papel alumínio (protegido da luz). Logo após a coleta, o frasco, hermeticamente fechado, foi transportado para o Laboratório de Estudos em *Limnoperla fortunei* (LELf) para o preparo da solução mãe (solução estoque) em, no máximo, 24 horas.



Figura 4.20: Canteiro de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ-RJ, onde foi coletado látex.

Foto: Clélia C. Mello-Silva.

4.4.2. Preparo das soluções concentradas para determinação das doses letais

4.4.2.1. Preparo da solução mãe e das demais concentrações

No Laboratório, 1 ml do látex bruto foi pipetado e transferido para um balão volumétrico de 1000 ml. Em seguida, completou-se o volume para 1000 ml com água destilada, obtendo a concentração de 1000 mg/l (=1000 ppm). A solução foi utilizada em um período máximo de 30 dias para que suas propriedades físico-químicas não fossem alteradas, segundo recomendações de Vasconcellos & Amorim (2003b). Segundo Schall *et al.* (1992), o extrato é altamente eficaz (100% de letalidade para *B. glabrata*) até treze dias após o preparo, havendo perda gradativa de efeito até sua quase inatividade no 30º dia.

Após o preparo da solução mãe, diluições sucessivas deste extrato aquoso foram preparadas a fim de obter as concentrações 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 80.0, 90.0, 100.0, 500.0 mg/l .

As soluções obtidas a partir de diluições da solução mãe foram preparadas em balões volumétricos de 1000 ml e o volume final de cada concentração dividido em 2 frascos de vidro de 500 ml. Cada concentração foi preparada 3 vezes, para que cada grupo de tamanhos diferentes (3 grupos) pudesse ser submetido à mesma concentração. Cada grupo continha 10 indivíduos e cada qual 1 repetição, resultando um total de 20 indivíduos por grupo, por concentração. Sendo assim, na mesma temperatura, cada concentração foi representada por 60 indivíduos (20 indivíduos por grupo x 3 grupos). Para cada temperatura testada, para cada

grupo, foram utilizados 4 frascos controle de 500 ml sem látex, 2 contendo água destilada e 2 contendo água desclorada, com 10 mexilhões em cada. Isso para verificar se haveria diferença de mortalidade entre os grupos submetidos à essas duas variáveis: água desclorada e água destilada.

4.4.2.2. Análise físico-química da solução aquosa do látex

De acordo com a metodologia seguida por Lima (2010) alguns parâmetros físico-químicos da solução-mãe (1000 mg/l) de *E. splendens* var. *hislopii* devem ser avaliados como a condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$), alcalinidade ($\text{mg}/\text{l CaCO}_3$), concentração de cloro ($\text{mg}/\text{l Cl}^{-1}$), dureza de cálcio ($\text{mg}/\text{l Ca}$) e o pH. Portanto, foi realizada, no Instituto Oswaldo Cruz, a análise físico-química do látex utilizado neste experimento.

4.4.3. **Exposição ao látex**

4.4.3.1. Seleção de indivíduos para os bioensaios

Os bioensaios foram realizados com indivíduos coletados no reservatório de Itaipu Binacional – Foz do Iguaçu/PR e mantidos no LELf conforme descrito no item 4.3.4. Para a seleção dos indivíduos, estes foram retirados dos aquários de manutenção, medidos em paquímetro digital Mitutoyo®, separados por grupos e mantidos em bandejas de polietileno com água desclorada e aeração constante por 2 horas. Utilizou-se grupos de mexilhões de 3 comprimentos diferentes: grupo 1 (5,00-15,99 mm), grupo 2 (16,00-25,99 mm) e grupo 3 (26,00-40,99 mm). Após este período, foram selecionados apenas os indivíduos que apresentavam sifão visível externamente à concha e resposta rápida a estímulos externos (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006).

As bandejas contendo os mexilhões selecionados nos grupos pré-determinados acima permaneceram na incubadora B. O. D., a 18° C, por 24 horas anteriormente ao início dos testes.

4.4.3.2. Bioensaios de 24 horas

Os indivíduos aclimatados foram transferidos para frascos de 500 ml (10 indivíduos em cada frasco) contendo soluções em concentrações variadas e mantidos por 24 horas na incubadora B. O. D., sob aeração constante conforme Figura 4.21.



Figura 4.21: À esquerda: frascos com mexilhões e soluções de látex na incubadora sob aeração constante. À direita: detalhe dos frascos com o sistema de aeração.

Foto: Cláudia M. G. Simeão.

Foram realizadas 3 baterias de testes utilizando as temperaturas 18, 20 e 22°C. Estas temperaturas foram escolhidas porque a 18 °C, os mexilhões estavam sendo mantidos no laboratório demonstrando baixa taxa de mortalidade e boa condição de saúde, com sifão bastante visível, resposta rápida a estímulos e produção de bisso. A temperatura de 20°C foi testada baseando-se nos experimentos desenvolvidos sobre taxas de filtração de *L. fortunei* (e.g. SYLVESTER *et al.*, 2005). Não foi testada temperatura acima de 22°C porque foi observado, em laboratório, alta taxa de mortalidade e letargia dos espécimes quando expostos a temperaturas superiores a esta. Durante a realização dos testes, os indivíduos não receberam alimentação.

Após esse período de exposição às concentrações estabelecidas, os espécimes foram avaliados quanto à resposta a estímulos externos, produção de bisso, exposição do sifão, agrupamento e abertura da concha e, em seguida, removidos da solução e lavados em água destilada (LEE *et al.*, 1993; DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006). Os indivíduos mortos foram contabilizados e, os vivos, transferidos para outros frascos de vidro de 500 ml contendo água destilada. Esses frascos (contendo os indivíduos vivos) foram transferidos para a incubadora sob as mesmas condições de temperatura e aeração do experimento e mantidos por mais 24 horas para observação do efeito residual do produto. Após essas 24 horas, os indivíduos foram

novamente observados quanto aos parâmetros anteriores e contados os vivos e mortos (Mello-Silva *et al.*, 2006).

4.4.3.3. Bioensaios de 240 horas (10 dias)

Os indivíduos vivos recuperados em água destilada por 24 horas, após a exposição ao látex pelo mesmo período, foram novamente expostos ao látex. Estes indivíduos foram submetidos às mesmas concentrações estabelecidas para o experimento de 24 horas e às mesmas condições de testes, mas mantidos na solução por até 240 horas. Foram realizadas 3 baterias de testes utilizando as temperaturas 18, 20 e 22°C. A cada 24 horas, eram observadas as mesmas características indicativas de boa saúde citadas no bioensaio de 24 horas e os indivíduos mortos contabilizados e retirados dos frascos.

4.4.4. **Análises estatísticas**

Todas as análises estatísticas foram processadas no software R, versão 2.11.1 (R, 2009).

4.4.4.1. Exposição ao látex por 24 horas

Os resultados obtidos no experimento realizado por exposição dos mexilhões dourados ao látex por 24 horas foram analisados, na parte exploratória, utilizando o teste de Qui-Quadrado (AGRESTI, 2002) para testar a associação da quantidade de mortes entre “grupos” (G1, G2 e G3), “temperaturas” (18, 20 e 22°C) e “substância” (água destilada, água desclorada ou látex). O teste de Kruskal-Wallis (HOLLANDER & WOLFE, 1999) foi utilizado para testar se existia diferença significativa entre a quantidade de mortes e as variáveis “grupos”, “temperaturas” e “substância”.

Para verificar o efeito da concentração de látex nas soluções sobre a quantidade de mortes, utilizou-se o teste de Mann-Whitney, testando a mediana da “concentração” entre os níveis da variável “quantidade de mortes dicotomizada”. Para verificar a existência (ou não) de uma relação positiva entre a “quantidade de mortes” e “concentração”, utilizou-se o teste de Spearman.

A variável resposta “quantidade de mortes” caracteriza uma distribuição de Poisson. Portanto, em relação à modelagem estatística, utilizou-se a Regressão de Poisson (MCCULLAGH & NELDER, 1989) para verificar se as covariáveis “grupo”, “temperatura”, “concentração” e

“substância” (água destilada, água desclorada ou látex) exerciam alguma influência sobre a “quantidade de mortes”, refinando a análise.

4.4.4.2. Exposição ao látex por 240 horas (10 dias)

Os resultados obtidos no experimento realizado por exposição dos mexilhões dourados ao látex por 240 horas (10 dias) foram analisados, na parte exploratória, utilizando o teste de Kruskal-Wallis para testar, dentro de cada dia, se a mediana de mortos diferia pelo menos entre um dos níveis das variáveis “grupo” e “temperatura”. Para verificar o efeito da concentração de látex nas soluções sobre a quantidade de mortes de indivíduos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney testando a mediana da “concentração” entre os níveis da variável “quantidade de mortes dicotomizada”.

Mediu-se também o tempo até a morte de todos os indivíduos da amostra. Dessa forma, para os casos em que no décimo dia ainda não tinha ocorrido a morte de todos os indivíduos da amostra, os dados foram considerados censurados, ou seja, não sabia-se o tempo que levaria para a morte do restante da amostra. Isso gerou uma informação parcial da resposta, caracterizando um estudo de sobrevivência.

Sendo assim, foi utilizado o estimador não paramétrico de Kaplan-Meier (KAPLAN & MEIER, 1958) para estimar as funções de sobrevivência e o teste de Logrank (MANTEL, 1966) para verificar se existia diferença significativa entre as funções de sobrevivência em relação aos “grupos”, “temperaturas”, “concentrações categorizadas” e tipo de “substância” (água destilada, água desclorada e látex).

Para definir qual a melhor distribuição que representaria o componente aleatório do modelo, comparou-se a função de sobrevivência estimada via Kaplan-Meier com as funções de sobrevivência estimadas via distribuições Exponencial, Weibull e Log-normal.

Então, para a modelagem estatística, utilizou-se a regressão paramétrica de Weibull (COLOSSIMO & GIOLO, 2006) para modelar o “tempo até a morte de toda a amostra”, dadas as covariáveis “grupo”, “temperatura”, “substância” e “concentração de látex”.

4.4.5. Experimento de toxicidade do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* para *Daphnia* sp. e *Ceriodaphnia* sp.

A metodologia para a montagem dos testes de ecotoxicidade baseou-se nas recomendações da ABNT NBR 13373 (2006) e ABNT NBR 12713 (2009). Para a realização dos testes foram utilizadas as espécies *D. laevis*, *D. similis* e *C. silvestrii*.

Em potes plásticos transparentes de 50 ml, foram pipetados os volumes desejados de solução mãe (solução estoque – descrita no item 4.4.2.1) para obtenção das concentrações pré-determinadas. Os valores das concentrações utilizadas para a determinação da CE50 foram obtidos em testes preliminares que mostraram as faixas de concentrações em que o látex causava efeito sobre estas 3 espécies. Em seguida, o volume final de 20 ml em cada pote foi completado com água de cultivo e a solução final homogeneizada. Após homogeneização, cada pote recebeu 10 indivíduos, sendo o experimento realizado em duplicata para *D. laevis* e triplicata para *D. similis* e *C. silvestrii* devido à disponibilidade de indivíduos para a realização dos testes.

A espécie *D. laevis* foi submetida às concentrações de 1.0, 5.0 10.0 e 20.0 mg/l. A espécie *D. similis*, às concentrações 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 e 20.0 mg/l. *C. silvestrii* foi submetida às concentrações de 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 e 10.0 mg/l (Tabela 4.1). Para cada espécie, foi montado um grupo controle, sob as mesmas condições de teste, contendo apenas solução de cultivo.

Tabela 4.1: Concentrações utilizadas, por espécie, para obtenção da CE50.

Espécie	Concentração de látex testada (mg/l)	Volume (ml) de solução mãe (1000 mg/l) pipetado em cada pote.	Quantidade de repetições	Quantidade de indivíduos por pote
<i>Daphnia laevis</i>	0,0 (controle)	0	2	10
	1,0	0,02	2	10
	5,0	0,1	2	10
	10,0	0,2	2	10
	20,0	0,4	2	10
<i>Daphnia similis</i>	0,0 (controle)	0	3	10
	1,0	0,02	3	10
	5,0	0,01	3	10
	10,0	0,2	3	10
	15,0	0,3	3	10
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	0,0 (controle)	0	3	10
	1,0	0,2	3	10
	2,5	0,05	3	10
	5,0	0,1	3	10
	7,5	0,15	3	10
	10,0	0,2	3	10

Os experimentos foram lidos com 24 e 48 horas de exposição ao látex, identificando a quantidade de indivíduos imóveis em cada período.

Ao final dos experimentos, 48 horas após a montagem, os resultados obtidos foram processados pelo programa GW Basic utilizando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber para determinar o valor de CE50 de cada espécie.

4.5. Avaliação da pressão suportada por *Limnoperna fortunei*

Os testes de avaliação da pressão suportada por *L. fortunei* foram desenvolvidos no “Portinho”, localizado no Refúgio Biológico Bela Vista, pertencente à Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu-PR.

4.5.1. Aparato de pressão

Neste presente trabalho, foi construído um aparato para a realização dos testes de pressão e velocidade. A carcaça do aparato foi projetada para suportar pressões em modo de trabalho de até 150 mca. Este aparato consistiu em uma caixa de aço de 14 cm x 7 cm confeccionada com chapa de aço carbono 1020 de 2 mm de espessura. Neste sistema, foi instalado uma peça de acrílico de 20 mm de espessura para visualização interna do experimento (Figura 4.22). O aparato foi conectado a uma tubulação de PVC de 2 polegadas. Dois manômetros com capacidade de 140 mca foram instalados no aparato para leitura da pressão desejada e verificação da perda de carga causada pelas placas infestadas por mexilhão dourado no teste de velocidade (item 4.6). Em um dos manômetros, foi conectado um registro de gaveta e a este, uma mangueira de diâmetro interno de 1/8 de polegada conectada à bomba de pressurização para testes hidrostáticos conforme Figura 4.22.

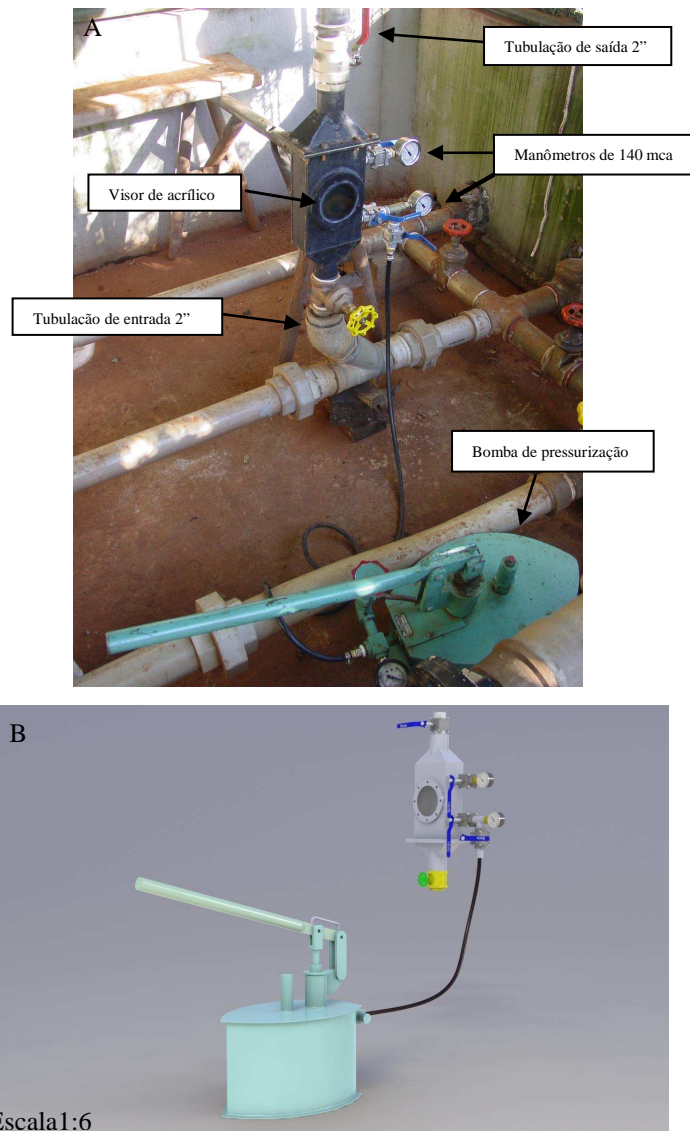


Figura 4.22: A: foto do aparato utilizado no teste de pressão. B: desenho esquemático do aparato de pressão.

Foto - A: Daniel Coscarelli

Desenho - B: Samuel M. O. Gonçalves

A água utilizada foi recalçada por uma bomba submersa (fabricante SPV Hidrotécnica Brasileira Ltda., com capacidade de 22 cv, Modelo P 60 C -HV-, 45 mca, 53 m³/h), fixa na parte inferior de uma plataforma flutuante a 10 m da margem do rio e conduzida até o local de testes por mangueira de 2 in (Figura 4.23).



Figura 4.23: À esquerda, plataforma flutuante onde estão localizadas as bombas submersas com mangueiras para condução de água. À direita, detalhe da mangueira de 2 in de abastecimento do aparato de testes.

Fotos: Daniel Coscarelli.

4.5.2. Separação dos indivíduos para teste

Os exemplares de mexilhão dourado utilizados nos testes de pressão foram coletados em plataformas flutuantes de tanques rede, na região do Portinho (25° 26'48,9" S e 54° 32'58,1" W). Os indivíduos foram coletados manualmente com auxílio de espátula inox, colocados em bandejas de polietileno e levados para o laboratório. No laboratório, os *clusters* foram separados cuidadosamente utilizando tesoura para cortar os biscoitos. Após a individualização dos exemplares, os mexilhões foram medidos com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo®. Os indivíduos foram separados em 3 grupos, seguindo o critério estabelecido para os bioensaios com o látex, sendo o grupo 1 constituído por mexilhões medindo de 5.00 a 15.99 mm de comprimento, o grupo 2 constituído por mexilhões de 16.00 a 25.99 mm e o grupo 3, constituído por mexilhões de 26.00 a 40.99 mm.

Para a realização dos testes, foram confeccionados saquinhos de tela de nylon de malha 1 mm medindo em torno de 10 x 10 cm. Cada saquinho recebeu 30 indivíduos, sendo 10 do grupo 1, 10 do grupo 2 e 10 do grupo 3 (Figura 4.24). Os saquinhos com os mexilhões foram fechados com grampos de metal e mantidos em bandejas de polietileno contendo água desclorada, sem alimentação, por 24 horas antecedentes aos testes.

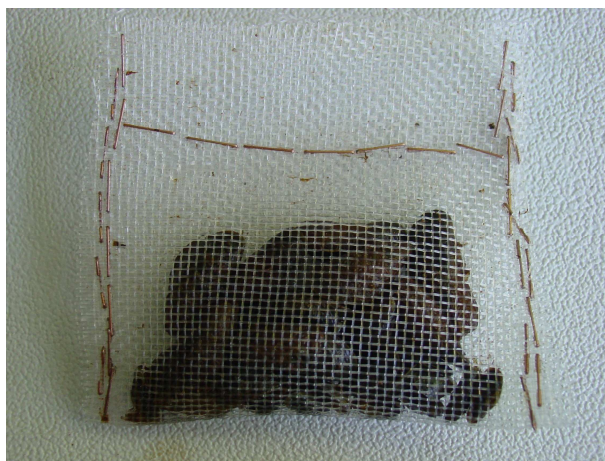


Figura 4.24: Saquinho de nylon contendo 30 mexilhões (10 do grupo 1, 10 do grupo 2 e 10 do grupo 3).

Foto: Daniel Coscarelli.

4.5.3. Teste de pressão

Para cada pressão utilizada no teste, o aparato foi desparafusado e um saquinho de nylon contendo 30 mexilhões colocado em seu interior. O aparato foi, então, novamente fechado. Em cada teste, o processo foi repetido e novo saquinho utilizado (Figura 4.25).

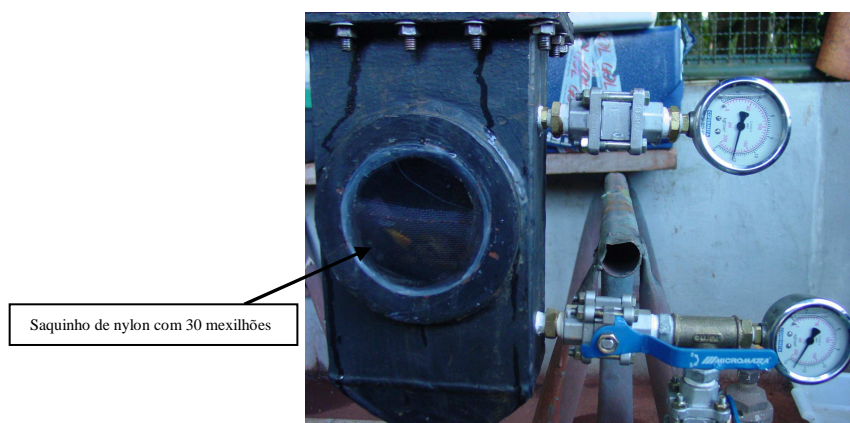


Figura 4.25: Saquinho de nylon com 30 mexilhões no interior do aparato de testes.

Foto: Daniel Coscarelli.

Para obter a pressão desejada, o registro superior do aparato (localizado na saída) foi fechado, os registros dos manômetros abertos e o registro que conecta o aparato à bomba de pressurização também fechado. Apenas com a bomba submersa foi possível atingir a pressão de 50 mca no interior do aparato, sendo as pressões inferiores controladas pelo fechamento parcial do registro de entrada do aparato. Para a obtenção de pressões superiores a esta, o registro de entrada do aparato foi fechado, o registro de conexão do aparato à bomba de

pressurização aberto, e a pressão obtida através do bombeamento manual desta bomba de pressurização. Após a obtenção da pressão desejada, este registro foi imediatamente fechado. Cada pressão testada foi mantida no aparato por 5 minutos.

Após os 5 minutos, o registro de conexão do aparato à bomba de pressurização era aberto, sendo o tempo de despressurização interna do aparato inferior a 1 segundo. Cada teste foi realizado em duplicata (Tabela 4.2). Como controle, também em duplicata, um saquinho foi colocado no interior do aparato, sem pressurização, por 5 minutos.

Tabela 4.2: Pressões testadas, quantidade de mexilhões utilizada e forma de obtenção da pressão.

Pressão testada (mca)	Número do teste (com réplica)	Número de mexilhões utilizados	Forma de obtenção da pressão desejada	Tempo de pressurização (min)	Tempo de despressurização (s)
Controle (pressão atmosférica)	1	30	-	5	< 1
	2	30	-	5	< 1
2,5	3	30	Bomba submersa	5	< 1
	4	30	Bomba submersa	5	< 1
5	5	30	Bomba submersa	5	< 1
	6	30	Bomba submersa	5	< 1
10	7	30	Bomba submersa	5	< 1
	8	30	Bomba submersa	5	< 1
20	9	30	Bomba submersa	5	< 1
	10	30	Bomba submersa	5	< 1
30	11	30	Bomba submersa	5	< 1
	12	30	Bomba submersa	5	< 1
40	13	30	Bomba submersa	5	< 1
	14	30	Bomba submersa	5	< 1
50	15	30	Bomba submersa	5	< 1
	16	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
60	17	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	18	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
70	19	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	20	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1

Continua...

Continuação.

Pressão testada (mca)	Número do teste (com réplica)	Número de mexilhões utilizados	Forma de obtenção da pressão desejada	Tempo de pressurização (min)	Tempo de despressurização (s)
80	21	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	22	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
90	23	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	24	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
100	25	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	26	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
110	27	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	28	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
120	29	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	30	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
130	31	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
	32	30	Bombeamento manual da bomba de pressurização	5	< 1
Total	32	960			

4.5.4. Avaliação dos indivíduos após o teste

Após submissão a determinada pressão por 5 minutos, o aparato foi aberto e o saquinho retirado. Esse mesmo processo foi repetido para todos os testes realizados, incluindo os controles e as réplicas.

Cada saquinho foi, então, aberto e os mexilhões transferidos para um pote plástico identificado contendo 1000 ml de água do rio (Figura 4.26). Uma hora após transferidos para os potes, os indivíduos mortos foram separados e medidos com paquímetro digital

Mitutoyo®. Foram avaliados os parâmetros indicativos de boa saúde como externalização do sifão com concha aberta, resposta a estímulos externos, movimento de pé, produção de bisso e aglomeração (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006). Esse mesmo processo foi repetido 24 e 48 horas após o teste.



Figura 4.26: Mexilhões dourados em potes plásticos contendo água do rio após a realização dos testes de pressão.

Foto: Daniel Coscarelli.

4.5.5. Análise estatística

Para a análise exploratória dos dados obtidos nos testes de pressão, foi utilizado o teste Qui-Quadrado (AGRESTI, 2002) para testar a associação da variável “morte” entre os “grupos” (grupos 1, 2 e 3) e o “tempo” (24 e 48 horas). Para verificar se a mediana da pressão foi maior nos casos onde ocorreram mortes, ou seja, se pressões maiores estão associadas a maior número de mortes, foi utilizado o teste de Mann-Whitney (HOLLANDER & WOLFE, 1999).

Sendo a variável resposta “ocorrência de mortes”, caracterizou-se uma distribuição de Bernoulli para resposta. Então, para a modelagem estatística, foi utilizada a regressão logística (MCCULLAGH & NELDER, 1989) para verificar se o “Grupo”, “Pressão” e “Tempo de quarentena após o teste” exerceram alguma influência nos casos de morte.

4.6. Avaliação da velocidade da água para soltura do mexilhão em relação à fixação em chapas de aço ASTM A-36

4.6.1. Corpos de prova

Para realização dos testes, foram utilizadas chapas em aço carbono ASTM A-36 (80 mm x 100 mm x 20 mm), o mesmo utilizado na fabricação de grades de tomadas d'água das usinas hidrelétricas (informação cedida pelo corpo técnico da CEMIG – Companhia Energética de Minas Gerais - em 2008). Para confirmar a qualidade do aço utilizado, duas placas foram encaminhadas para a empresa Belgo Bekaert Arames S. A. para análise química (Anexo I).

Mensalmente, por 11 meses (setembro/2009 a agosto/2010), 5 pares de placas foram submersas na plataforma flutuante dos tanques redes localizados no Portinho. Cada par de placa de aço foi amarrado a um fio de nylon contendo uma placa de acrílico externa à água com a identificação das placas.

Durante os meses de abril a agosto de 2010, mais 5 pares de placas de aço pintadas com tinta epóxi alcatrão foram submersas mensalmente. A pintura das placas foi realizada por Eletrobrás Furnas Centrais Elétricas S. A.

Os testes de velocidade foram realizados em outubro de 2010. Imediatamente antes dos testes serem realizados, as placas que seriam submetidas ao experimento naquele período do dia (manhã ou tarde) eram trazidas da plataforma flutuante para o local onde o aparato estava montado e registradas fotograficamente.

4.6.2. Bancada de testes

A bancada utilizada para os testes de velocidade foi a mesma utilizada para os testes de pressão conforme descrito no item 4.5.1. Porém, foi instalado um medidor eletromagnético na tubulação de saída do aparato para controle das vazões pré-estabelecidas.

4.6.3. Testes

Em cada teste, o aparato foi desparafusado e a placa contendo mexilhão colocada em seu interior, centralizada, podendo estar apoiada, dependendo da infestação, em um tarugo de nylon, dois tarugos de nylon, canos de PVC duplos acima e abaixo da placa, canos de PVC

duplos apenas acima ou abaixo da placa ou, ainda, solta sem nenhum suporte (quando a placa se encontrava com alta infestação).

Com a bomba de abastecimento do sistema e o medidor eletromagnético ligados, as vazões foram obtidas por controle de registros, os quais eram abertos ou fechados de acordo com a necessidade. As vazões utilizadas durante os testes foram pré estabelecidas a fim de se obter velocidades que variassem de 0,1 m/s a 4 m/s. Essas vazões foram definidas considerando o aparato vazio e em função das velocidades que podem ocorrer nas estruturas das Usinas Hidrelétricas. Pequenas velocidades, entre 0,1 m/s a 0,4 m/s, ocorrem próximas a pilares e em regiões próximas ao barramento. Velocidades mais elevadas, entre 0,4 m/s e 1,5 m/s, ocorrem em pontos da tomada d' água e nas grades, por exemplo. Já velocidades maiores, entre 1,5 m/s e 4 m/s, ocorrem internamente aos condutos forçados e próximas às turbinas hidráulicas (calculado a partir de SCHREIBER, 1977). As vazões utilizadas estão indicadas na Tabela 4.3.

Cada vazão fixada foi mantida por 5 minutos antes de se obter o próximo valor. Após o início do teste, este era interrompido apenas quando todos os mexilhões já haviam sido arrancados da placa (visualização pela placa de acrílico).

Tabela 4.3: Vazões pré-estabelecidas para a realização dos testes de velocidade considerando o aparato vazio.

Velocidade (m/s)	Vazão (m ³ /s)	Tempo de ensaio (min)
0,1	0,38	5
0,3	1,13	10
0,5	1,88	15
0,7	2,63	20
0,9	3,38	25
1,1	4,13	30
1,3	4,88	35
1,5	5,63	40
1,7	6,38	45
1,9	7,13	50
2,1	7,88	55
2,3	8,63	60
2,5	9,38	65
2,7	10,13	70
2,9	10,88	75

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Vazão (m ³ /s)	Tempo de ensaio (min)
3,1	11,63	80
3,3	12,38	85
3,4	12,75	90
3,5	13,13	95
3,6	13,50	100
3,7	13,88	105
3,8	14,25	110
3,9	14,63	115
4,0	15,00	120

Após o término do teste com cada placa, os registros eram fechados, o aparato desparafusado, a placa retirada e nova placa colocada no interior do aparato para novo teste.

4.6.4. Coleta dos mexilhões soltos durante os testes

Em outubro de 2010 foram avaliadas 34 amostras, submersas no período de setembro/2009 a agosto/2010. Cada amostra representa duas chapas pareadas conforme descrito no item 4.6.1, mas serão abordadas, ao longo do texto, como sendo, para cada duas chapas, 1 placa. Portanto, 34 amostras representam 34 placas (= 62 chapas). As placas em que não haviam mexilhões incrustados não foram incluídas nas avaliações estatísticas devido ao “zero” não interferir nas análises, neste caso.

Durante a realização dos testes de velocidade, para cada placa testada, em cada vazão, os mexilhões soltos ao final dos 5 minutos foram coletados.

Os mexilhões soltos foram aparados por saco de nylon de malha 1 mm e por um cilindro em inox também de malha 1 mm. Os sistemas de coleta eram alternados em cada troca de vazão (Figura 4.27). Os indivíduos soltos durante o período de troca das vazões, ou seja, nos intervalos, também foram coletados. O material coletado foi transferido, separadamente, para potes plásticos identificados.



Figura 4.27: Coleta de mexilhões soltos em cada vazão e nos intervalos de troca de vazões. À esquerda: coleta no cilindro em inox. À direita: coleta em saco de nylon de malha 1 mm.

Fotos: Daniel Coscarelli.

Após os testes, os potes plásticos contendo mexilhões foram levados para o laboratório e os indivíduos contabilizados e medidos com paquímetro digital Mitutoyo® (Figura 4.28).



Figura 4.28: Obtenção das medidas dos mexilhões soltos em cada vazão testada e nos intervalos de troca.

Foto: Daniel Coscarelli.

Os indivíduos foram separados, para as análises estatísticas em grupos de 3 tamanhos diferentes sendo o grupo 1 constituído por mexilhões medindo até 15.99 mm de comprimento,

o grupo 2 constituído por mexilhões de 16.00 a 25.99 mm e o grupo 3, constituído por mexilhões de 26.00 a 40.99 mm.

4.6.5. Cálculo da velocidade mínima para remoção de *L. fortunei* aderido às placas de ensaio

4.6.5.1. Cálculo do volume dos mexilhões

A leitura da vazão foi realizada em um medidor eletromagnético como explicado anteriormente. Portanto, para obter os valores de velocidade em cada vazão testada, foi necessário o cálculo da seção transversal ao fluxo internamente ao aparato, com a placa infestada de mexilhões apoiada ou não em algum dos suportes citados anteriormente.

Como não é possível obter as velocidades em cada ponto internamente ao aparato, calculou-se a velocidade média do fluxo de água paralelo à placa para cada vazão.

Para isso, foi necessário o cálculo do volume de cada mexilhão para que este pudesse ser extrapolado para a quantidade de mexilhões retirada em cada vazão e, então, com as seções da placa e o volume dos mexilhões soltos, chegar em uma espessura média da placa para o cálculo da seção interna livre e, por fim, da velocidade.

Para cálculo do volume dos mexilhões utilizou-se procedimento baseado nos ensaios de Limite de Contração de Solos (ABNT NBR 7183, 1982).

Em laboratório, 60 conchas íntegras e limpas de mexilhões mortos de vários tamanhos foram selecionadas e medidos os seus comprimentos, suas larguras e espessuras. Essas conchas foram fornecidas por Itaipu Binacional para a realização dos testes em condutos forçados. Após seleção e medição, cada valva foi preenchida com pasta de dente (material não contaminante, de secagem rápida e de fácil manuseio). As valvas foram, então, unidas como se o mexilhão estivesse vivo e fechado (Figura 4.29). Isso porque, de acordo com o comportamento observado durante o teste de velocidade, durante quase todo o tempo, os mexilhões permaneceram com as conchas fechadas.

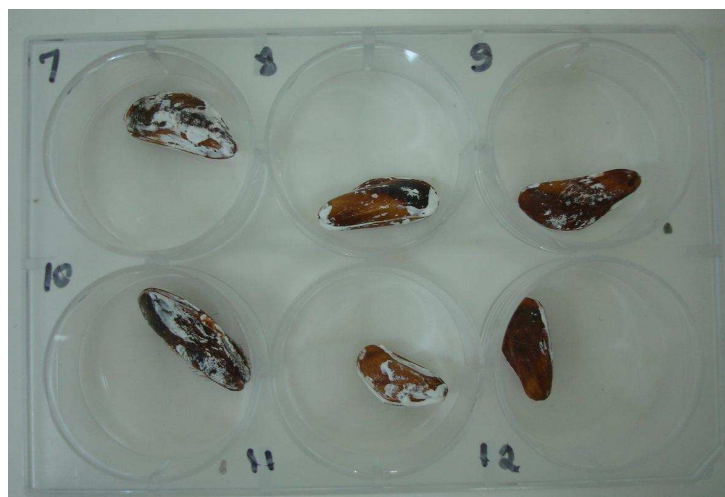


Figura 4.29: Conchas de mexilhões mortos preenchidas com pasta de dente para o cálculo de volume.

Foto: Cláudia M. G. Simeão.

Uma placa de Petri de vidro apoiada em outra placa maior foi preenchida com mercúrio e o menisco nivelado com a borda desta placa com auxílio de uma placa vidro. O líquido expulso foi descartado (metodologia modificada a partir de RODHOUSE, 1977) (Figura 4.30).

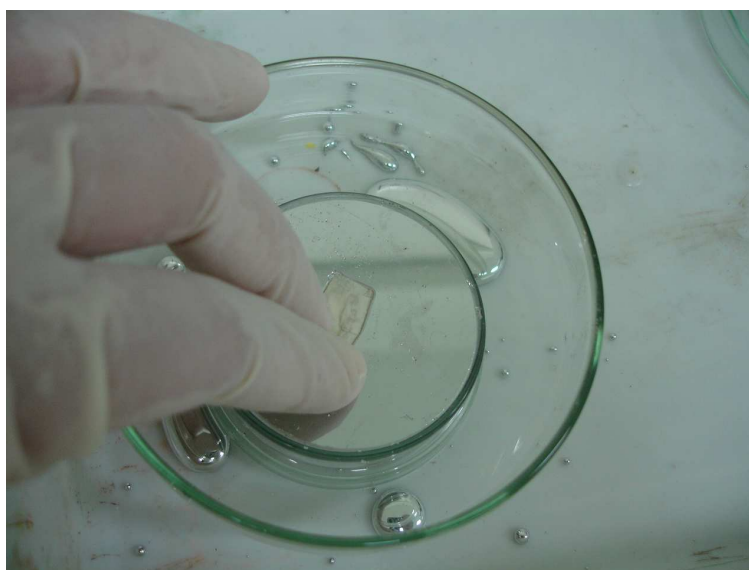


Figura 4.30: Nivelamento do menisco de mercúrio com a borda da placa.

Foto: Cláudia M. G. Simeão.

O mesmo procedimento foi realizado anteriormente à submersão de cada um dos mexilhões utilizados.

Após nivelamento, um mexilhão, de cada vez, foi colocado sobre o mercúrio e, então, pressionado com auxílio de uma placa de vidro. O volume deslocado e derramado sobre a placa suporte foi pesado em balança de precisão Marca Marte, Modelo AI 500 C, 0,02-500 g (Figura 4.31).

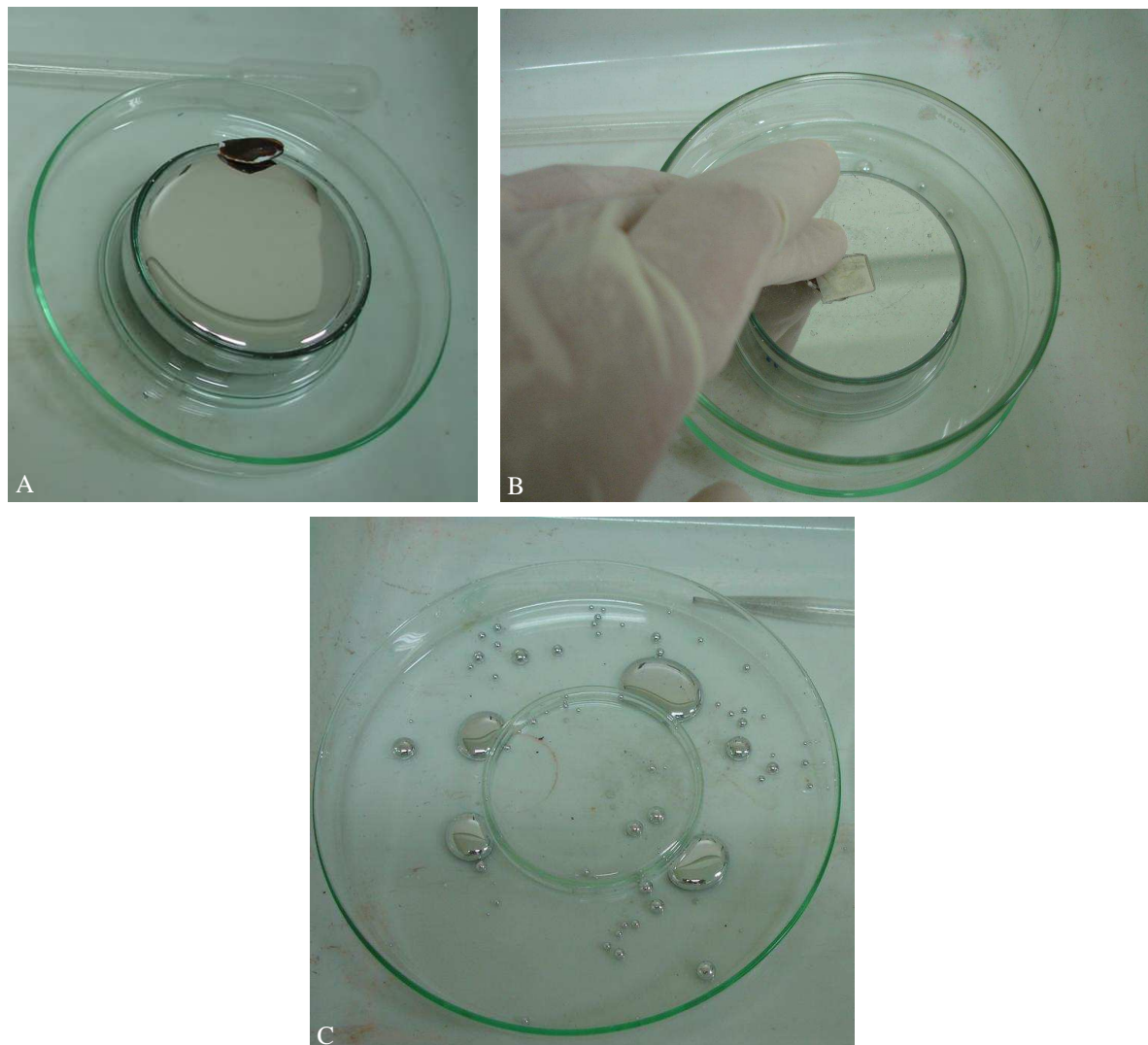


Figura 4.31: Procedimento para o cálculo de volume do mexilhão. A: mexilhão sobre o mercúrio. B: submersão do mexilhão. C: volume deslocado.

Fotos: Cláudia M. G. Simeão.

Conhecendo a massa específica do mercúrio, $13,579 \text{ g/cm}^3$, e a massa do volume deslocado, calculou-se o volume para cada mexilhão (Equação 4.2):

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (4.2)$$

na qual:

ρ = massa específica do mercúrio (g/cm^3)

m = massa do volume deslocado (g)

∇ = volume do mexilhão (cm^3)

Os valores encontrados foram plotados graficamente, obtendo-se a equação exponencial da curva, correlacionando o comprimento do mexilhão com o seu volume.

4.6.6. Análises estatísticas

Para a comparação das velocidades necessárias de fluxo de água para que os mexilhões se soltassem das placas, considerando os grupos de tamanhos pré-estabelecidos, o mês em que cada placa foi submergida (avaliando, neste caso, o tempo de submersão) e tipo de placa (pintada ou não) foi utilizado o teste de Logrank (MANTEL, 1966).

Em relação à modelagem estatística (considerando a velocidade até que todos os mexilhões se soltassem da placa, dadas as covariáveis “grupo”, “meses” e “tipo de placa”), após comparar os modelos com as distribuições Exponencial, Log-normal e Weibull com a função de sobrevivência empírica, utilizou-se a Regressão Paramétrica de Weibull (COLOSSIMO & GIOLO, 2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características hidráulicas em condutos forçados sob infestação de *Limnoperna fortunei*.

Para cada diâmetro de tubulação ensaiado, 2 in, 2 ½ in, 3 in e 4 in, procedeu-se ao traçado das curvas de variação da perda de carga em função da vazão, para toda a faixa operacional da bomba instalada na bancada de testes.

A variação da perda de carga nos tubos ensaiados, sem e com infestação, é apresentada nas Figuras 5.1 e 5.2, respectivamente. Os resultados evidenciam que a colonização dos tubos por *L. fortunei* proporcionou incrementos consideráveis nos níveis de perda de carga.

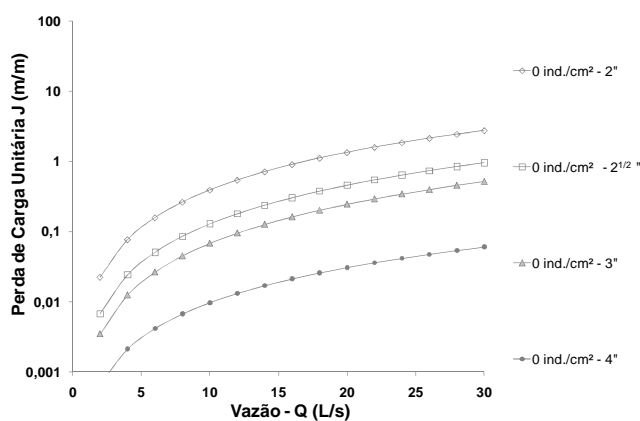


Figura 5.1: Evolução da perda de carga em tubos sem infestação.

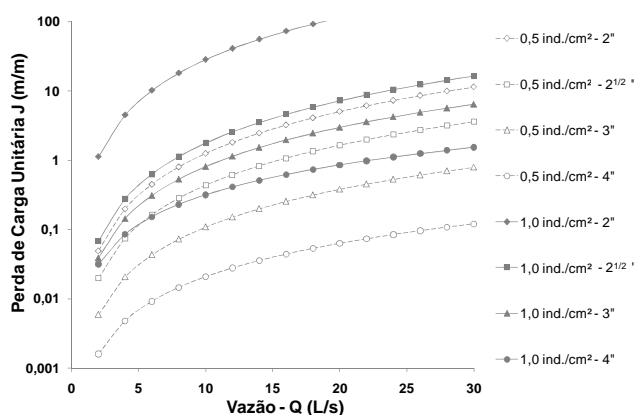


Figura 5.2: Evolução da perda de carga em tubos com infestação.

Como exemplo desse incremento, apresenta-se na Figura 5.3 a relação entre perdas de carga para tubos com infestação na densidade de 1,0 ind./cm² e tubos sem infestação, para vários níveis de vazão e diâmetros ensaiados.

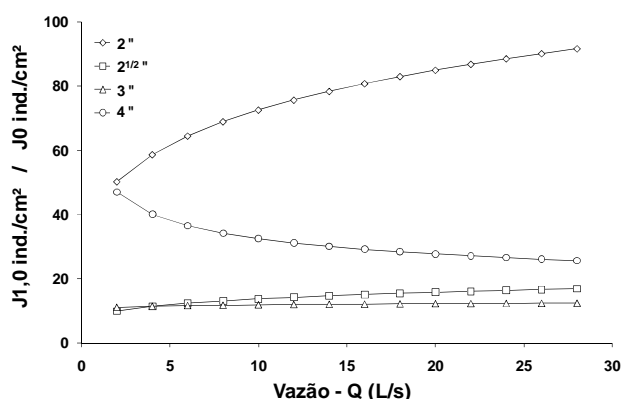


Figura 5.3: Relação entre perdas de carga com tubos infestados na densidade de infestação de 1,0 ind./cm² e tubos sem infestação.

Ao se analisar os resultados obtidos para infestações na densidade de 1,0 ind./cm² (Figura 5.3), observa-se que os incrementos de perda de carga podem ser equiparados ao efeito de *macrofouling*, ou seja, a magnitude do aumento observado na perda de carga correspondeu à ocupação plena da seção, em termos de perda de eficiência hidráulica e no conseqüente aumento nos custos de energia, em caso de adutoras dotadas de sistemas de bombeamento.

Assim, o aumento do fator de atrito proporcionado pela colonização de *L. fortunei* em condutos forçados pode submeter sistemas hidráulicos a situações de colapso, em termos de eficiência hidráulica. Calculando-se a capacidade de vazão em condutos, utilizando-se os fatores de atrito obtidos por Resende (2007), verifica-se que para níveis de perda de carga equivalentes, a capacidade de vazão numa tubulação colonizada com 1,0 ind./cm² reduz-se a níveis inferiores a 20%, em média, da vazão originalmente escoada na mesma tubulação sem a presença do mexilhão dourado, conforme Figura 5.4, que apresenta a relação entre a vazão escoada em tubos infestados e tubos sem infestação.

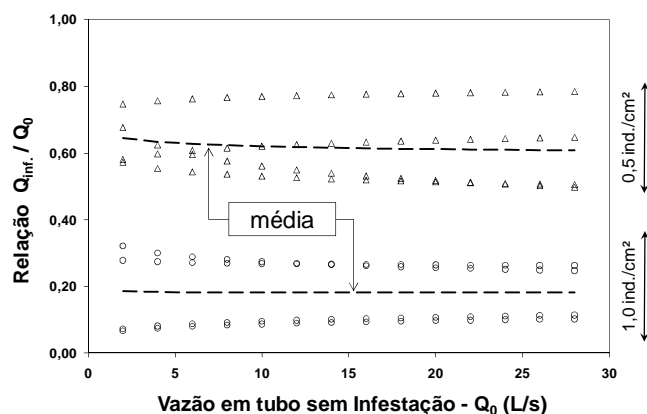


Figura 5.4: Relação entre a vazão (Q) escoada em tubos infestados e tubos sem infestação.

Em face dos resultados obtidos, observa-se que, a partir do momento em que *L. fortunei* inicia a colonização de sistemas de bombeamento e adução, ocorre uma redução significativa da vazão em razão do rápido e progressivo aumento da perda de carga.

De forma geral, essa colonização resultará num elevado custo de manutenção, uma vez que, para os níveis de aumento de perda de carga verificados, inviabiliza-se a possibilidade de se aumentar a pressão na entrada da tubulação para se alcançar a mesma vazão em trânsito e, assim, compensar o aumento de rugosidade e a diminuição do diâmetro interno.

A opção pelo emprego de carcaças de exemplares mortos na simulação da incrustação dos mexilhões às paredes dos tubos introduziu incertezas na realização da simulação das infestações, pois não se conhece com exatidão o padrão de distribuição dos indivíduos nas infestações que ocorrem em tubulações. Por outro lado, ressalta-se que os mexilhões apresentam flexibilidade de movimento enquanto afixados às paredes internas de tubulações, de forma que sua disposição seja hidrodinâmica, fazendo com que não sejam arrancados com facilidade pelo escoamento da água.

Foi observado que, ao longo das diversas simulações e repetições, um determinado percentual de mexilhões foi arrancado pelo escoamento, à semelhança do que se espera que ocorra na realidade. No entanto, essa perda de exemplares não produziu alterações nas curvas de evolução das perdas de carga ao longo das várias repetições realizadas nos ensaios, para todos os cenários estudados.

5.2. Ação do extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* em *Limnoperna fortunei*

5.2.1. Características físico-químicas da solução aquosa do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopilii*

Como houve pequena variação sazonal, apesar de não significativa, nas concentrações letais obtidas para *B. tenagophila* expostas ao látex de *E. splendens* conforme reportado por Schall *et al.* (1992), os experimentos foram realizados com látex coletado apenas durante o outono, a fim de se evitar variações nas respostas dos indivíduos. Os parâmetros físico-químicos analisados estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Parâmetros físico-químicos da solução aquosa de látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* utilizada no experimento.

Parâmetros	Solução aquosa de látex de <i>Euphorbia splendens</i> var. <i>hislopilii</i>
Dureza total (mg/l CaCO ₃)	4.61
Dureza cálcio (mg/l CaCO ₃)	3.69
Dureza magnésio(mg/l CaCO ₃)	0.92
mg/l Ca	1.48
mg/l Mg	0.22
pH	6.09
Oxigênio Dissolvido (mg/l O ₂)	—
Cloretos (mg/l Cl ⁻)	1.39
Condutividade (μS/cm)	13.50
Alc. Total (mg/l CaCO ₃)	5.70
Alc. Hidróxido (mg/l CaCO ₃)	0.0
mg/l OH ⁻	0.0
Alc. Carbonato (mg/l CaCO ₃)	0.0
mg/l CO ⁼	0.0
Alc. Bicarbonato (mg/l CaCO ₃)	5.70
mg/l HCO ⁻	6.96
mg/l STD (Sólidos totais)	—
mg/l Salinidade	—
mg/l N-Amônia	0.122
mg/l N-Nitrito	0.015

Apesar de fatores ambientais como características do solo, clima, altitude e estação do ano poderem desencadear mudanças no metabolismo da planta (MOTT, 1987) resultando em alterações nas concentrações ativas do látex, os resultados físico-químicos obtidos não mostraram alteração na composição da solução que pudesse influenciar na atividade da solução aquosa do látex de *E. splendens* var *hislopii*, concordando com os dados de análise obtidos por Lima (2010). Isso indica que os resultados obtidos neste experimento podem ser comparados com os demais existentes para esta planta coletada no mesmo local e na mesma estação do ano (Outono).

5.2.2. Exposição ao látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* por 24 horas

Os percentuais de mortalidade ocorridos entre os grupos (Grupo 1: 5,00 a 15,99 mm; Grupo 2: 16,00 a 25,99 mm e Grupo 3: 26,00 a 40,99 mm) em cada concentração de látex testada, após 24 h de exposição e após 24 h de recuperação em água destilada, para as 3 temperaturas testadas (18, 20 e 22°C) encontram-se apresentados nas Tabelas 5.2, 5.3 e 5.4.

Tabela 5.2: Taxa de mortalidade de *L. fortunei* após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 18°C. Foram utilizados 20 indivíduos, por grupo, em cada concentração testada.

Concentração (mg/l)	Grupo 1 – 5,00 a 15,99 mm		Grupo 2 – 16,00 a 25,99 mm		Grupo 3 – 26,00 a 40,99 mm	
	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação
0,10	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	5,0
0,25	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,75	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0
30,00	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0
40,00	0,0	0,0	5,0	5,0	0,0	0,0
50,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
60,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
70,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
80,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
90,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
100,00	5,0	5,0	0,0	0,0	5,0	5,0
500,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1000,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle - água destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle- água desclorada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0

Tabela 5.3: Taxa de mortalidade de *L. fortunei* após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 20°C. Foram utilizados 20 indivíduos, por grupo, em cada concentração testada.

Concentração (mg/l)	G1 – 5,00 a 15,99 mm		G2 – 16,00 a 25,99 mm		G3 – 26,00 a 40,99 mm	
	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação
10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0
20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30,0	0,0	0,0	10,0	10,0	0,0	0,0
40,0	0,0	0,0	0,0	5,0	10,0	10,0
50,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0
60,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
70,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0
80,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	5,0
90,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	5,0
Controle - água destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle - água desclorada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 5.4: Taxa de mortalidade de *L. fortunei* após exposição por 24 horas ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 22°C. Foram utilizados 20 indivíduos, por grupo, em cada concentração testada.

Concentração (mg/l)	G1 – 5,00 a 15,99 mm		G2 – 16,00 a 25,99 mm		G3 – 26,00 a 40,99 mm	
	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação	% mortos após 24 h de exposição ao látex	% acumulativa de mortos após 24 h de recuperação
10,0	0,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30,0	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	0,0
40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0
50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
60,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0
70,0	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	5,0
80,0	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	0,0
90,0	0,0	5,0	0,0	15,0	0,0	0,0
100,0	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	0,0
500,0	0,0	5,0	0,0	10,0	0,0	0,0
1000,0	0,0	5,0	0,0	10,0	0,0	5,0
Controle - água destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle - água desclorada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

As concentrações de 0,1 a 10 mg/l foram utilizadas em testes preliminares na tentativa de se obter a CL50 e CL90 baseando-se nas taxas encontradas para *B. glabrata* (MELLO-SILVA, 2006). Entretanto, como houve a morte de apenas 1 indivíduo do Grupo 3 na concentração 0,1 mg/l, não sendo esta representativa, optou-se utilizar, para os demais testes, com outras temperaturas, concentrações entre 10 e 100 mg/l. As concentrações de 500 e 1000 mg/l (solução mãe) foram testadas apenas nas temperaturas de 18 e 22°C. Essas diferenças de concentrações utilizadas para cada temperatura testada foi corrigida nas análises estatísticas para que pudessem ser comparadas.

Mesmo nas concentrações de 10 a 100 mg/l, nas 3 temperaturas, não foi possível calcular as taxas de CL50 e CL90 para *L. fortunei* após 24 horas de exposição ao látex conforme sugerido por Vasconcellos & Amorim (2003a) devido à baixa taxa de mortalidade dos indivíduos (resultado não estabelecido pelo teste de Tukey-Kramer conforme indicação de MELLO-SILVA, 2006). Portanto, sucedeu-se às demais análises estatísticas na tentativa de relacionar as covariáveis envolvidas no experimento “grupo”, “temperatura” e “concentração” com a variável “quantidade de mortes”.

Ao expressar, graficamente, os resultados obtidos entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” (não ocorreu nenhuma morte e ocorreu mais de uma morte) e “Grupos” (Grupos 1, 2 e 3) observa-se que o Grupo 2 apresentou o maior percentual de mortes, 15,4%, e o Grupo 1 o menor percentual, 6,7%. Entretanto, o teste Qui-Quadrado mostrou não haver associação significativa entre os grupos ($X^2 = 3.96$; p-valor = 0.138) (Figura 5.5 e Tabela 5.5).

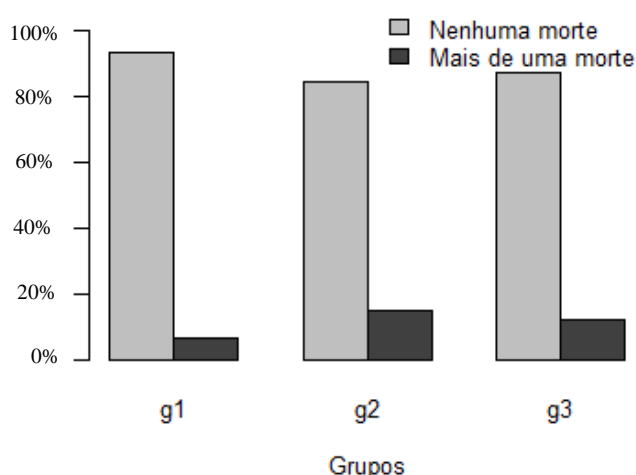


Figura 5.5: Gráfico mostrando a relação “quantidade de mortes dicotomizada” e “Grupos”. Grupo 1 (g1), 5 a 15.99 mm; Grupo 2 (g2), 16 a 25.99 mm; Grupo 3 (g3), 26 a 40.99 mm.

Tabela 5.5: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” e “Grupo”.

Grupo	Quantidade de mortes				Total	Qui-Quadrado	
	Nenhuma morte	Uma ou mais mortes		χ^2		p-valor	
Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm)	97	93,3%	7	6,7%	104	100,0%	
Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm)	88	84,6%	16	15,4%	104	100,0%	3,96 0,1383
Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm)	91	87,5%	13	12,5%	104	100,0%	

A Tabela 5.6 mostra a análise entre a variável “quantidade de mortes” no formato de contagem, ou seja, sem estar dicotomizada e “Grupo”. A média de mortes ocorrida no Grupo 1 foi de 0.077 mortes e no Grupo 3, 0.212 mortes. Entretanto, assim como o teste Qui-Quadrado, o teste de Kruskal-Wallis não evidenciou diferença significativa entre nenhum dos grupos (K = 4.12; p-valor = 0.127).

Tabela 5.6: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para as variáveis “quantidade de mortes” e “Grupo”.

Grupo	Medidas Descritivas				Kruskal-Wallis	
	Média	Desvio Padrão	Mín.	Máx.	K	p-valor
Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm)	0,077	0,302	0	2		
Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm)	0,212	0,552	0	3	4,12	0,127
Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm)	0,125	0,332	0	1		

Ao analisar a relação entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” e “temperatura”, foi verificada uma associação significativa entre elas ($X^2 = 16.63$; p-valor = 0.0002), ou seja, a temperatura influenciou nos casos de ocorrência de mortes. Observa-se que os casos de “mais de uma morte” aumentam a medida que se aumenta a temperatura (Tabela 5.7 e Figura 5.6).

Tabela 5.7: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “quantidade de mortes dicotomizada” e “temperatura”.

Temperatura	Quantidade de mortes				Total	Qui-Quadrado	
	Nenhuma morte	Mais de uma morte		χ^2		p-valor	
18°C	149	95,5%	7	4,5%	156	100,0%	
20°C	61	84,7%	11	15,3%	72	100,0%	16,63 0,0002
22°C	66	78,6%	18	21,4%	84	100,0%	

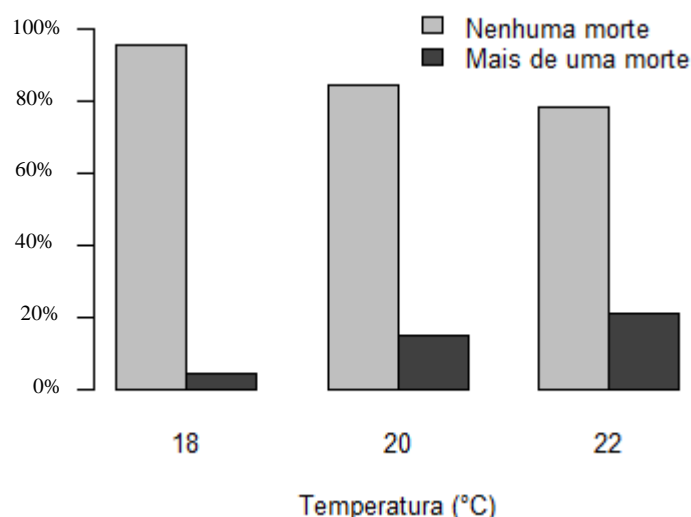


Figura 5.6: Relação entre “quantidade de mortes dicotomizada” e “temperatura”.

Analisando a quantidade de mortes não dicotomizada e as 3 temperaturas utilizadas nos testes (18, 20 e 22°C), observou-se que há diferença significativa entre as médias de mortes nas 3 temperaturas ($K = 17.12$; $p\text{-valor} = 0.0002$). A 18 °C morreu, em média, 0,045 indivíduos enquanto a 22 °C, 0,286 (Tabela 5.8).

Tabela 5.8: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para as variáveis “quantidade de mortes” e “temperatura”

Temperatura	Medidas Descritivas				Kruskal-Wallis	
	Média	Desvio Padrão	Mín.	Máx.	K	p-valor
18°C	0,045	0,200	0	1	17,12	0,0002
20°C	0,167	0,411	0	2		
22°C	0,286	0,612	0	3		

Apesar do látex ter sido diluído em água destilada, foram montados potes controle tanto com água destilada quanto água desclorada, conforme descrito na metodologia. Isso porque observações durante a rotina do laboratório levantaram a hipótese que água destilada poderia estressar o mexilhão dourado durante os testes, influenciando na resposta do experimento. Portanto, foi necessário verificar se haveria diferença de resposta dos mexilhões quando submetidos a água destilada e água desclorada, para comparação dos resultados existentes na literatura.

O teste Qui-Quadrado e o teste de Kruskal-Wallis (Tabelas 5.9 e 5.10) evidenciaram significância entre as variáveis “quantidade de mortes” e “substância”. Foi atribuído o nome de substância às 3 variáveis usadas como meio de exposição do mexilhão: água desclorada, água destilada e solução aquosa de látex de *E. splendens* var. *hislopii*. Observa-se que existe diferença entre látex e água, tanto destilada quanto desclorada, não havendo diferença entre os controles ($X^2 = 7,25$; p-valor = 0,0318 e $K = 7,25$; p-valor = 0,026). Portanto, em relação à resposta do mexilhão, esta independe da exposição em água destilada ou desclorada, podendo ser, as duas, utilizadas em ensaios experimentais. Este resultado corrobora com o encontrado por Deaton *et al.* (1989) onde observaram alta capacidade de osmoregulação por *L. fortunei*, sendo esta espécie capaz de sobreviver desde água deionizada até em meios com 400 mOsm.

Tabela 5.9: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre a quantidade de mortes dicotomizada e “substância”

Substância	Quantidade de mortos				Total		Qui-Quadrado	
	Nenhuma morte		Mais de uma morte				χ^2	p-valor
Água desclorada	29	96,7%	1	3,3%	30	100,0%		
Água destilada	30	100,0%	0	0,0%	30	100,0%	7,25	0,0318
Látex	217	86,1%	35	13,9%	252	100,0%		

Tabela 5.10: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para quantidade de mortes entre as “substâncias”.

Temperatura	Medidas Descritivas				Kruskal-Wallis	
	Média	D.P	Mín.	Máx.	K	p-valor
Água Declorada	0,033	0,18	0	1		
Água Destilada	0,0	0,0	0	0	7,25	0,026
Látex	0,166	0,45	0	3		

O teste de Mann-Whitney, utilizado para verificar se a concentração de látex exercia alguma influência sobre a quantidade de mortes, mostrou que 50% dos valores de concentração nos casos em que ocorreram mais de uma morte estavam abaixo de 70 mg/l e que nos casos em que não ocorreu nenhuma morte esse valor foi de 25 mg/l. Essa diferença foi significativa ao nível de 5% de significância ($W = 2931$; p-valor < 0.001) (Tabela 5.11 e Figura 5.7).

Tabela 5.11: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney para as variáveis “concentração de látex” e “quantidade de mortes dicotomizada”.

Quantidade de mortes	N	Medidas descritivas para a concentração							Mann-Whitney	
		Média	Desvio padrão	Mín.	1º Quartil	2º Quartil	3º Quartil	Máx.	W	p-valor
Nenhuma morte	276	79,15	191,55	0,00	0,25	25,00	70,00	1000,00	2931	<0,001
Mais de uma morte	36	171,11	283,85	0,00	37,50	70,00	100,00	1000,00		

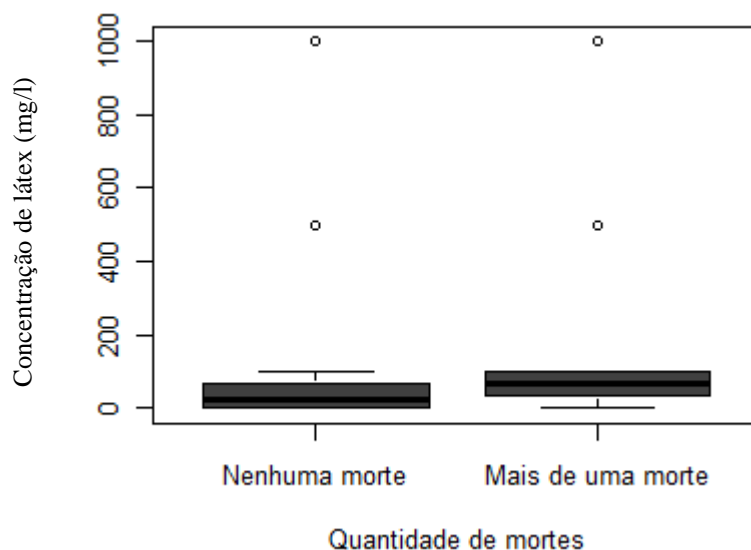


Figura 5.7: Boxplot mostrando a “quantidade de mortes dicotomizada” e “concentração de látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*”.

O coeficiente e o teste de Spearman mostraram uma relação positiva entre a “quantidade de mortes” e a “concentração de látex”, sendo que, à medida em que se aumentou a concentração de látex utilizada nos bioensaios, aumentou o número de mortes de indivíduos (Rho Spearman = 0.227; p-valor < 0.001).

Apesar de ocorrer mais mortes nas concentrações mais elevadas testadas, nenhuma concentração causou a morte de, pelo menos, 50% dos indivíduos após a exposição por 24 horas. Percebe-se pela Tabela 5.11 que 75% dos “casos de mais de uma morte” encontravam-se abaixo de 100 mg/l. É importante ressaltar aqui que são 75% dos “casos de mais de uma morte”, ou seja, dos eventos em que morreram um ou mais indivíduos e não, a mortalidade de 75% dos indivíduos.

Sabendo que modelos lineares generalizados significam uma distribuição mais ampla do que a normal para a variável resposta e uma função de ligação relacionando a média da variável resposta à combinação linear das variáveis explicativas, a modelagem demonstra melhor a significância da relação entre as co-variáveis. Neste experimento de exposição dos mexilhões ao látex de *E. splendens* var. *hislopii* por 24 horas, a variável resposta foi a “quantidade de mortes”. Portanto, em relação à modelagem estatística, caracterizou-se uma distribuição de Poisson para resposta (Tabela 5.12).

O modelo de Regressão de Poisson mostrou que a “temperatura”, o “grupo” e a “concentração de látex” são realmente importantes para explicar a quantidade de mortes, enquanto “água destilada” e “água desclorada” não foram significativas (Tabelas 5.12 e 5.13).

Observa-se que a média da quantidade de mortes aumenta, aproximadamente, 4 vezes na temperatura a 20°C quando comparada à temperatura de 18 °C (p-valor = 0,004). E a 22 °C, a média da quantidade de mortes aumenta, aproximadamente, 6 vezes se comparada à 18 °C (p-valor = 0,0000). Já em relação aos grupos, a quantidade de mortes do Grupo 3 (26 a 40.99 mm) não difere significativamente do Grupo 1 (5 a 15.99 mm) (p-valor = 0,2799), enquanto a quantidade de mortes do Grupo 2 (16 a 25.99 mm) aumenta, em média, 2.75 vezes quando comparada ao Grupo 1 (p-valor = 0,0143) (Tabela 5.13).

Tabela 5.12: Regressão de Poisson com todas as covariáveis para a variável “quantidade de mortes”. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Regressão de Poisson				exp(β)	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-4,872	1,095	-4,449	0,0000*	0,008	0,00	0,12
Temperatura 20°C	1,297	0,479	2,71	0,0067*	3,658	1,43	15,18
Temperatura 22°C	1,701	0,432	3,935	0,0001*	5,479	2,35	102,71
Grupo 2	1,012	0,413	2,45	0,0143*	2,751	1,22	6,97
Grupo 3	0,486	0,449	1,08	0,2799	1,625	0,67	2,10
Concentração	0,001	0,001	1,402	0,1608	1,001	1,00	2,72
Água destilada	-15,660	1524,000	-0,01	0,9918	0,000	0,00	0,00
Látex	1,315	1,017	1,293	0,1960	3,725	0,51	5,65

Tabela 5.13: Regressão de Poisson apenas com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes”. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Regressão de Poisson				$\exp(\beta)$	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-3,797	0,500	-7,59	0,0000*	0,022	0,008	0,060
Temperatura 20°C	1,375	0,478	2,88	0,0040*	3,955	1,549	10,098
Temperatura 22°C	1,767	0,433	4,08	0,0000*	5,852	2,506	13,667
Grupo 2	1,012	0,413	2,45	0,0143*	2,750	1,224	6,177
Grupo 3	0,486	0,449	1,08	0,2799	1,625	0,674	3,921
Concentração	0,0010	0,0005	1,96	0,0498*	1,001	1,000	1,002

Após a troca do intercepto “Grupo” na Tabela 5.14, e “Temperatura” na Tabela 5.15, percebe-se que não existe diferença significativa entre os Grupos 2 e 3, 1 e 3, e entre as temperaturas 20°C e 22°C.

Tabela 5.14: Regressão de Poisson com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes” variando o “grupo” do intercepto. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Regressão de Poisson				$\exp(\beta)$	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-3,311	0,450	-7,365	0,000*	0,036	0,015	0,088
Temperatura 20°C	1,375	0,478	2,875	0,004*	3,955	1,549	10,098
Temperatura 22°C	1,767	0,433	4,083	0,000*	5,852	2,506	13,667
Grupo 2	0,526	0,350	1,504	0,133	1,692	0,853	3,359
Grupo 1	-0,486	0,449	-1,080	0,280	0,615	0,255	1,485
Concentração	0,001	0,001	1,962	0,050*	1,001	1,000	1,002

Tabela 5.15: Regressão de Poisson com os termos significativos para a variável “quantidade de mortes” variando a “temperatura” do intercepto. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Regressão de Poisson				exp(β)	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-2,030	0,400	-5,081	0,000*	0,131	0,060	0,287
Temperatura 20 °C	-0,392	0,368	-1,064	0,287	0,676	0,328	1,391
Temperatura 18 °C	-1,767	0,433	-4,083	0,000*	0,171	0,073	0,399
Grupo 2	1,012	0,413	2,450	0,014*	2,750	1,224	6,177
Grupo 3	0,486	0,449	1,080	0,280	1,625	0,674	3,921
Concentração	0,001	0,001	1,962	0,050*	1,001	1,000	1,002

O teste da Deviance (p-valor = 0,9998, não rejeitando a hipótese nula de que o modelo está adequado) e as análises dos resíduos (envelope de probabilidade e o gráfico da Distância de Cook para cada ponto da amostra) indicaram que o modelo ajustado foi adequado (Figura 5.8).

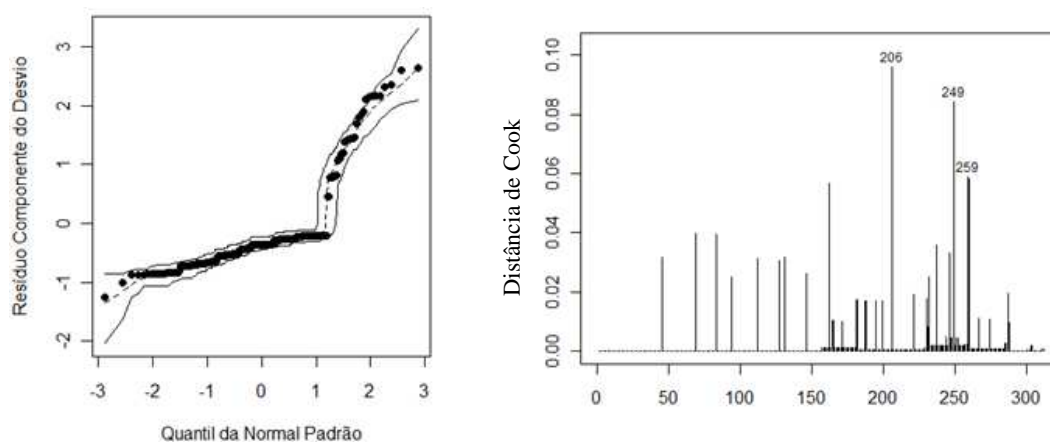


Figura 5.8: Análise de resíduos. À esquerda: envelope de probabilidade. À direita: distância de Cook

Após avaliação do modelo, conclui-se que houve diferença significativa em relação à quantidade de indivíduos mortos apenas entre os Grupos 1 e 2 e entre as temperaturas 18°C e 20°C (ou 22°C). As temperaturas 20°C e 22°C e os Grupos 1 e 3 não se diferenciaram significativamente.

Os resultados obtidos no modelo mostraram que, na temperatura mais baixa, a 18 °C, a quantidade de mortes foi menor quando comparada às demais temperaturas. A influência da temperatura na taxa de mortalidade parece estar relacionada ao aumento de toxicidade do látex, uma vez que não ocorreram alterações nos grupos controle. O mesmo comportamento foi descrito para outras substâncias tóxicas testadas onde temperaturas mais elevadas potencializavam o efeito destas substâncias sobre os indivíduos avaliados. Cataldo *et al.* (2002; 2003) verificaram que as taxas de mortalidade de *L. fortunei* foram muito maiores a 25°C quando comparadas às obtidas em 20°C e 15°C, para os quatro produtos testados (um oxidante, cloro, e três não oxidantes, ClamTrol CT2, H130M e Bayluscide WP70) na maioria das concentrações avaliadas. Para o Bayluscide, a 20°C os efeitos deste composto se duplicaram em relação à 15°C, e a 25°C, todas as concentrações (exceto 0.25 ppm) alcançaram mais de 90% de mortalidade no segundo dia de exposição. Rajagopal *et al.* (2002) também encontraram as maiores taxas de mortalidade, para espécimes de *D. polymorpha* submetidos ao cloro, nas maiores temperaturas (foram avaliadas as temperaturas de 10°C, 15°C, 20°C e 25°C).

Apesar de temperaturas mais altas geralmente potencializarem os efeitos de toxicidade, não é recomendável a submissão de *L. fortunei* a temperaturas superiores a 22°C em testes laboratoriais. Isso porque foi observado alta taxa de mortalidade no laboratório (LELf) quando esta espécie era mantida em temperaturas superiores a esta.

A diferença entre os Grupos 1 e 2 demonstrada no modelo infere que os indivíduos respondem de forma diferente à exposição de produtos potencialmente tóxicos, sendo os indivíduos menores, mais resistentes. Darrigran & Damborenea (2001) também encontraram taxas de mortalidade mais altas para *L. fortunei* em indivíduos maiores em duas das concentrações testadas do produto BULAB6002®.

A explicação para o fato de indivíduos maiores (considerando a significância entre os grupos 1 e 2) apresentarem maior taxa de mortalidade que indivíduos menores (a taxa de mortalidade do grupo 2 foi 2,75 vezes maior que o grupo 1) e em temperaturas maiores a mortalidade também ser maior pode estar nos dados obtidos por Sylvester *et al.* (2005). Segundo esses autores, em termos absolutos, a taxa de filtração de indivíduos medindo 23 mm é maior que em indivíduos com comprimento de concha de 15 mm e, ainda, essas taxas são maiores a 25°C em relação as obtidas a 15°C.

A capacidade de seleção de partículas e substâncias no processo de filtração por *L. fortunei* como reportado por Cataldo *et al.* (2002) e Molina *et al.* (2010) pode não ser completa, não evitando totalmente as substâncias nocivas, fazendo com que taxas de filtrações maiores aumentem os efeitos cumulativos no interior do indivíduo e, conseqüentemente, maior intoxicação e maior taxa de mortalidade. Estudos posteriores poderão avaliar a taxa de acúmulo de látex no interior do indivíduo e a taxa de liberação deste nas pseudofezes em temperaturas e grupos de tamanhos diferentes.

Apesar da diferença mostrada no modelo, e o suporte bibliográfico para este fato, a variação entre os Grupos apresentada neste experimento deve ser analisada com cautela, uma vez que os testes Qui-Quadrado e Kruskal-Wallis não indicaram diferença significativa entre eles. Isso porque a taxa de mortalidade em todos os Grupos foi muito baixa dificultando a compreensão das análises. Se a taxa de mortalidade obtida tivesse sido maior, as diferenças poderiam ser interpretadas mais claramente e, provavelmente, o Grupo 3 também se diferiria dos demais.

O látex de *E. splendens* var. *hislopii*, mesmo em concentrações muito superiores às reportadas na literatura para *B. glabrata*, não foi satisfatório como substância moluscicida para *L. fortunei*, pelo menos para o emprego em curto prazo (24 horas). Mello-Silva *et al.* (2007) encontraram para *B. glabrata* a CL50 em 1 mg/l, e como CL90, um valor de 2,3 mg/l. Para *Melanooides tuberculata* Müller, 1754 (Gastropoda, Thiaridae), também uma espécie exótica da região neotropical, Okumura (2006) obteve 100% de mortalidade a 10 ppm de látex, em uma temperatura de ensaio de 25°C. Como CL50, Okumura (2006) encontrou concentrações médias entre 0,4 a 5,4 ppm.

No Brasil e no exterior, os critérios de eficácia de uma substância natural em relação à sua atividade moluscicida ainda não estão bem estabelecidos (Jurberg *et al.*, 1989). Mott (1987) diz ser eficiente uma substância quando há a mortalidade de 90% dos indivíduos expostos por 24 horas, sob temperatura constante, em concentrações inferiores a 100 mg/l (100 ppm). Este autor reporta ainda que, preferencialmente, os extratos vegetais aquosos devem ser eficientes em concentrações de até 20 mg/l. Farnsworth *et al.* (1987) consideram “positivos” os testes em que as plantas matam caramujos, em qualquer porcentagem, em concentrações até 100 ppm e “fracos” os que matam acima de 100 ppm. Se não matam nenhum caramujo, os testes são considerados negativos. Já para os chineses, as plantas que matam 90% a 100% de

caramujos nas concentrações de 30 a 10.000 ppm são consideradas de alto efeito moluscicida e de efeito moderado as que matam em concentrações acima de 10.000 ppm (KUO, 1987).

A partir dos resultados obtidos neste experimento, o látex de *E. splendens* var. *hislopii* foi considerado ineficiente segundo critérios estabelecidos por Mott (1987), que são os preconizados pela Organização Mundial de Saúde e são os avaliadas por Mello-Silva *et al.* (2006; 2007; 2010) para ensaios com *B. glabrata* utilizando a mesma planta.

Assim como para o látex, *L. fortunei* indicou resistência maior a outras substâncias moluscicidas já testadas. Comparando os resultados encontrados na utilização de Bayluscide como substância moluscicida para as espécies *D. polymorpha*, *Biomphalaria straminea* e *L. fortunei*, esta última mostrou ser a mais resistente. Waller *et al.* (1993) obtiveram para *D. polymorpha* CL50 média de 0.0197 mg/l para indivíduos de 20 a 25 mm e CL50 média de 0.0153 mg/l para indivíduos de 5 a 8 mm (testes realizados a 10°C). Sarquis *et al.* (1997) obtiveram, para *B. straminea*, CL50 de 0.114 mg/l enquanto a CL90 foi de 0.212 mg/l (testes realizados a 25°C). Para *L. fortunei*, a 15°C, Cataldo *et al.* (2002) obtiveram 20% de mortalidade a 0.5 ppm e entre 90 e 100% de mortalidade de 4 a 8 ppm.

A exposição ao látex de *E. splendens* var. *hislopii* por 24 horas como atividade de controle e combate para *L. fortunei* não é indicada devido a alta tolerância do mexilhão dourado a este produto, até mesmo à concentração da solução mãe (1000 ppm).

5.2.3. Exposição ao látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* por 10 dias (240 horas)

As concentrações utilizadas para a exposição de *L. fortunei* por 24 horas ao látex de *E. splendens* var. *hislopii* não foram suficientes para a obtenção da CL50 e da CL90 neste experimento. Portanto, a permanência destes indivíduos por mais tempo nesta substância visou avaliar o comportamento destes, uma vez que o mexilhão dourado apresenta mecanismos de defesa, como fechamento de concha por tempo prolongado, a fim de evitar seu contato com substâncias tóxicas (*e. g.* Cataldo *et al.*, 2002).

A quantidade de indivíduos mortos e sua porcentagem quanto à exposição ao látex por 10 dias após recuperação, nas 3 temperatura testadas (18, 20 e 22°C) encontram-se nas Tabelas 5.16 a 5.24.

Tabela 5.16: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 18°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	20,0	4	20,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	2	10,0	11	55,0
20,0	20	1	5,0	0	0,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	6	30,0
30,0	19	1	5,3	1,0	5,3	0	0,0	0	0,0	3	15,8	1	5,3	0	0,0	5	26,3	2	10,5	0	0,0	13	68,4
40,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	0	0,0	4	20,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	9	45,0
50,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	0	0,0	5	25,0
60,0	20	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0	10	50,0
70,0	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	3	15,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	11	55,0
80,0	20	0	0,0	0	0,0	3	15,0	2	10,0	3	15,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	13	65,0
90,0	20	0	0,0	0	0,0	3	15,0	2	10,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	10	50,0
100,0	19	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	47,4	3	15,8	2	10,5	0	0,0	1	5,3	0	0,0	0	0,0	15	78,9
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Tabela 5.17: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 18°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0
20,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	3	15,0	5	25,0	9	45,0
30,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	20,0	1	5,0	1	5,0	4	20,0	1	5,0	1	5,0	12	60,0
40,0	19	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,3	0	0,0	1	5,3	1	5,3	1	5,3	2	10,5	6	31,6
50,0	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	3	15,0	1	5,0	1	5,0	3	15,0	11	55,0
60,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	4	20,0
70,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	3	15,0	8	40,0
80,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	5	25,0	3	15,0	0	0,0	1	5,0	10	50,0
90,0	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	6	30,0	3	15,0	5	25,0	17	85,0
100,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	1	5,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	2	10,0	10	50,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Tabela 5.18: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 18°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0
20,0	19	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,3	2	10,5	1	5,3	6	31,6	10	52,6
30,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	5	25,0
40,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	4	20,0
50,0	20	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	6	30,0
60,0	20	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	6	30,0
70,0	20	0	0,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	2	10,0	1	5,0	5	25,0	12	60,0
80,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	20,0	6	30,0
90,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	5	25,0	0	0,0	5	25,0	15	75,0
100,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	1	5,0	2	10,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	8	40,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C - água desclorada	19	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Tabela 5.19: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 20°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	1	5,0	0	0,0	2	10,0	4	20,0	1	5,0	3	15,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	14	70,0
20,0	20	0	0,0	4	20,0	4	20,0	2	10,0	3	15,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	16	80,0
30,0	20	5	25,0	0	0,0	3	15,0	5	25,0	0	0,0	5	25,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	19	95,0
40,0	20	2	10,0	6	30,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	15	75,0
50,0	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	4	20,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	45,0
60,0	20	1	5,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	8	40,0
70,0	19	4	21,1	4	21,1	5	26,3	1	5,3	1	5,3	1	5,3	0	0,0	0	0,0	1	5,3	0	0,0	17	89,5
80,0	20	3	15,0	5	25,0	2	10,0	5	25,0	2	10,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
90,0	20	3	15,0	3	15,0	6	30,0	3	15,0	4	20,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
100,0	20	2	10,0	6	30,0	3	15,0	5	25,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	19	95,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C - água descolorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10	2	10,0

Tabela 5.20: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 20°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	1	5,0	6	30,0
20,0	20	0	0,0	3	15,0	3	15,0	1	5,0	9	45,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	19	95,0
30,0	18	1	5,6	2	11,1	2	11,1	1	5,6	0	0,0	1	5,6	2	11,1	1	5,6	3	16,7	0	0,0	13	72,2
40,0	19	1	5,3	4	21,1	8	42,1	0	0,0	2	10,5	0	0,0	1	5,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	16	84,2
50,0	19	3	15,8	1	5,3	1	5,3	2	10,5	1	5,3	0	0,0	1	5,3	2	10,5	0	0,0	1	5,3	12	63,2
60,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	5	25,0	5	25,0	17	85,0
70,0	20	1	5,0	5	25,0	3	15,0	3	15,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	19	95,0
80,0	19	0	0,0	6	31,6	2	10,5	2	10,5	3	15,8	2	10,5	2	10,5	0	0,0	0	0,0	1	5,3	18	94,7
90,0	20	3	15,0	3	15,0	3	15,0	5	25,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	19	95,0
100,0	20	0	0,0	1	5,0	1	5,0	1	5,0	4	20,0	3	15,0	3	15,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	16	80,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	5	25,0

Tabela 5.21: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 20°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	18	0	0	0	0,0	2	11,1	2	11,1	0	0,0	2	11,1	3	16,7	1	5,6	0	0,0	2	11,1	12	66,7
20,0	20	0	0	1	5,0	0	0,0	1	5,0	5	25,0	3	15,0	3	15,0	1	5,0	0	0,0	5	25,0	19	95,0
30,0	20	0	0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	3	15,0	3	15,0	4	20,0	3	15,0	17	85,0
40,0	18	0	0	2	11,1	1	5,6	1	5,6	2	11,1	0	0,0	2	11,1	1	5,6	3	16,7	4	22,2	16	88,9
50,0	20	0	0	0	0,0	2	10,0	3	15,0	2	10,0	1	5,0	3	15,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	12	60,0
60,0	20	0	0	1	5,0	2	10,0	7	35,0	2	10,0	1	5,0	3	15,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	17	85,0
70,0	20	2	10	2	10,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	4	20,0	17	85,0
80,0	19	0	0	3	15,8	6	31,6	1	5,3	1	5,3	1	5,3	3	15,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	15	78,9
90,0	20	4	20	1	5,0	4	20,0	1	5,0	2	10,0	4	20,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	0	0,0	19	95,0
100,0	19	0	0	1	5,3	3	15,8	2	10,5	2	10,5	4	21,1	3	15,8	1	5,3	2	10,5	0	0,0	18	94,7
C - água destilada	20	1	5	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0
C - água desclorada	20	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	2	10,0	5	25,0	8	40,0

Tabela 5.22: Indivíduos do Grupo 1 (5,00 a 15,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 22°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total			
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
10,0	18	0	0,0	3	16,7	2	11,1	3	16,7	0	0,0	1	5,6	1	5,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	11,1	12	66,7
20,0	20	1	5,0	0	0,0	2	10,0	1	5,0	2	10,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	45,0
30,0	20	3	15,0	7	35,0	5	25,0	5	25,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
40,0	20	4	20,0	8	40,0	5	25,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
50,0	20	3	15,0	6	30,0	3	15,0	5	25,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	19	95,0
60,0	20	5	25,0	2	10,0	4	20,0	6	30,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
70,0	20	2	10,0	2	10,0	2	10,0	4	20,0	0	0,0	2	10,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	13	65,0
80,0	20	4	20,0	9	45,0	4	20,0	1	5,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
90,0	19	3	15,8	6	31,6	3	15,8	6	31,6	0	0,0	1	5,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	19	100,0
100,0	20	2	10,0	4	20,0	6	30,0	6	30,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0

Tabela 5.23: Indivíduos do Grupo 2 (16,00 a 25,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 22°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	1	5,0	2	10,0	4	20,0	2	10,0	0	0,0	4	20,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	19	95,0
20,0	20	3	15,0	7	35,0	1	5,0	4	20,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	18	90,0
30,0	18	0	0,0	2	11,1	1	5,6	1	5,6	2	11,1	4	22,2	1	5,6	1	5,6	5	27,8	0	0,0	17	94,4
40,0	20	1	5,0	0	0,0	2	10,0	4	20,0	4	20,0	2	10,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	17	85,0
50,0	20	2	10,0	2	10,0	5	25,0	3	15,0	4	20,0	2	10,0	1	5,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
60,0	19	5	26,3	5	26,3	2	10,5	6	31,6	0	0,0	1	5,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	19	100,0
70,0	18	5	27,8	2	11,1	3	16,7	5	27,8	2	11,1	0	0,0	1	5,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	18	100,0
80,0	18	10	55,6	3	16,7	2	11,1	2	11,1	0	0,0	1	5,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	18	100,0
90,0	17	4	23,5	2	11,8	8	47,1	1	5,9	1	5,9	0	0,0	0	0,0	1	5,9	0	0,0	0	0,0	17	100,0
100,0	18	6	33,3	4	22,2	7	38,9	0	0,0	1	5,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	18	100,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0	3	15,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	3	15,0	3	15,0	2	10,0	2	10,0	3	15,0	15	75,0

Tabela 5.24: Indivíduos do Grupo 3 (26,00 a 40,99 mm) mortos, em cada dia, durante exposição por 10 dias ao extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, a 22°C. Nt = número total de indivíduos recuperados presentes no início do teste; N = número de indivíduos mortos em cada dia; % = percentual de indivíduos mortos diariamente em relação ao Nt; C = controle.

Concentração	Nt	1 dia		2 dias		3 dias		4 dias		5 dias		6 dias		7 dias		8 dias		9 dias		10 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
10,0	20	0	0,0	1	5,0	0	0,0	4	20,0	1	5,0	9	45,0	3	15,0	2	10,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
20,0	20	0	0,0	0	0,0	1	5,0	2	10,0	5	25,0	4	20,0	0	0,0	7	35,0	1	5,0	0	0,0	20	100,0
30,0	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	25,0	3	15,0	6	30,0	3	15,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0	20	100,0
40,0	19	0	0,0	1	5,3	3	15,8	2	10,5	8	42,1	2	10,5	1	5,3	1	5,3	1	5,3	0	0,0	19	100,0
50,0	20	1	5,0	2	10,0	3	15,0	2	10,0	2	10,0	5	25,0	2	10,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	20	100,0
60,0	20	0	0,0	0	0,0	2	10,0	4	20,0	7	35,0	4	20,0	2	10,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	20	100,0
70,0	19	2	10,5	2	10,5	4	21,1	4	21,1	4	21,1	1	5,3	2	10,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	19	100,0
80,0	20	0	0,0	6	30,0	3	15,0	4	20,0	2	10,0	4	20,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	20	100,0
90,0	20	1	5,0	4	20,0	2	10,0	0	0,0	2	10,0	6	30,0	0	0,0	3	15,0	2	10,0	0	0,0	20	100,0
100,0	20	0	0,0	4	20,0	2	10,0	6	30,0	1	5,0	3	15,0	1	5,0	1	5,0	2	10,0	0	0,0	20	100,0
C - água destilada	20	0	0,0	0	0,0	2	10,0	6	30,0	0	0,0	3	15,0	2	10,0	5	25,0	1	5,0	0	0,0	19	95,0
C - água desclorada	20	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,0	1	5,0	4	20,0	7	35,0

Este experimento envolveu as variáveis “quantidade de mortos”, “quantidade de sobreviventes”, “Grupos” (Grupos 1, 2 e 3), “temperatura” (18, 20 e 22° C), “substância” (água destilada, água desclorada e látex) e “concentração de látex” (0.0 – controle, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 80.0, 90.0 e 100.0 mg/l). Nas Tabelas 5.25 e 5.26 pode-se verificar as medidas descritivas para as variáveis do experimento e a quantidade de sobreviventes ao longo dos 10 dias.

Tabela 5.25: Frequência e medidas descritivas sobre os dados relativos ao experimento de exposição ao látex por 10 dias.

Grupo	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Total	
	72	33,3%	72	33,3%	72	33,3%	216	100,0%
Temperatura	18		20		22		Total	
	72	33,3%	72	33,3%	72	33,3%	216	100,0%
“Substância”	água desclorada		água destilada		Látex		Total	
	18	8,3%	18	8,3%	180	83,3%	216	100,0%
Concentração	Média	Desvio Padrão	Mín.	1° Quartil	2° Quartil	3° Quartil	Máx.	N
	45,83	33,3	0,0	17,5	45,0	72,5	100,0	216,0

Tabela 5.26: Medidas descritivas para a quantidade de sobreviventes ao longo dos 10 dias de exposição ao látex após recuperação.

Dias	Medidas descritivas para quantidade de sobreviventes							
	Média	Desvio Padrão	Mín.	1° Quartil	2° Quartil	3° Quartil	Máx.	N
1	9,34	1,23	3	9	10	10	10	216
2	8,56	2,05	2	8	10	10	10	216
3	7,71	2,76	0	6	9	10	10	216
4	6,78	3,38	0	4	8	10	10	216
5	6,03	3,56	0	3	7	9	10	216
6	5,35	3,77	0	2	5	9	10	216
7	4,74	3,83	0	1	4	9	10	216
8	4,23	3,84	0	0	3	8	10	216
9	3,85	3,84	0	0	3	8	10	216
10	3,34	3,67	0	0	2	7	10	216

De acordo com a Tabela 5.27, observa-se que, nos primeiros 4 dias, quanto maior a temperatura maior a quantidade média de mortos (p-valor = 0,0000). Nos 6º, 7º, 8º e 10º dias

há diferença entre as médias de mortes em relação à temperatura, porém a temperatura mais alta (22°C) não apresenta a maior média. Isso era esperado uma vez que, nos últimos dias, a maioria dos mexilhões já se encontrava morta nas temperaturas mais elevadas.

Tabela 5.27: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis para a quantidade de mortos entre as diferentes temperaturas por dia de exposição. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Tempo	Temperatura	Medidas descritivas para quantidade de mortos							Kruskal-Wallis	
		Média	Desvio Padrão	Mín.	1º Quartil	2º Quartil	3º Quartil	Máx	K	p-valor
1º dia	18°C	0,042	0,201	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	31,25	0,0000*
	20°C	0,514	0,949	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
	22°C	0,944	1,310	0,0	0,0	0,0	2,0	5,0		
2º dia	18°C	0,097	0,298	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	43,35	0,0000*
	20°C	0,931	1,248	0,0	0,0	0,0	2,0	5,0		
	22°C	1,333	1,501	0,0	0,0	1,0	2,0	5,0		
3º dia	18°C	0,167	0,475	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	53,83	0,0000*
	20°C	1,056	1,149	0,0	0,0	1,0	2,0	5,0		
	22°C	1,306	1,206	0,0	0,0	1,0	2,0	6,0		
4º dia	18°C	0,347	1,009	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	40,95	0,0000*
	20°C	0,958	1,156	0,0	0,0	1,0	2,0	5,0		
	22°C	1,486	1,492	0,0	0,0	1,0	2,0	6,0		
5º dia	18°C	0,611	0,897	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0	1,49	0,4736
	20°C	0,833	1,126	0,0	0,0	1,0	1,0	6,0		
	22°C	0,819	1,179	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
6º dia	18°C	0,347	0,632	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0	10,58	0,0050*
	20°C	0,681	0,885	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
	22°C	1,028	1,363	0,0	0,0	0,0	2,0	6,0		
7º dia	18°C	0,722	1,258	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0	7,72	0,0210*
	20°C	0,708	0,846	0,0	0,0	0,5	1,0	3,0		
	22°C	0,403	0,799	0,0	0,0	0,0	0,3	3,0		
8º dia	18°C	0,806	1,070	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0	15,58	0,0004*
	20°C	0,236	0,517	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0		
	22°C	0,486	0,904	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
9º dia	18°C	0,403	0,799	0,0	0,0	0,0	0,3	3,0	2,42	0,2984
	20°C	0,458	0,768	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
	22°C	0,278	0,610	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0		
10º dia	18°C	0,819	1,142	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0	18,27	0,0001*
	20°C	0,514	1,048	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0		
	22°C	0,194	0,573	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0		

A Tabela 5.28 refere-se às principais medidas descritivas e ao teste de Kruskal-Wallis realizado entre a quantidade de mortos e os 3 Grupos utilizados (Grupos 1, 2 e 3). Observa-se que apenas no 1º, 4º, 6º, 8º e 10º dias houve diferença significativa entre a quantidade de mortes, sendo que o Grupo 1 apresentou as maiores médias no 1º e 4º dia. Nos dias seguintes, esta média começa a cair e a média maior é do Grupo 3. Isso porque após o quarto dia, a quantidade de sobreviventes do Grupo 1 é menor em relação aos demais.

Tabela 5.28: Medidas descritivas e teste de Kruskal-Wallis entre a quantidade de mortos e grupo em cada dia de exposição. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Tempo	Grupo	Medidas descritivas para quantidade de mortos							Kruskal-Wallis	
		Média	D.P	Mín.	1ºQ	2ºQ	3ºQ	Máx	K	p-valor
1º dia	Grupo - 1	0,708	1,013	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0	17,05	0,0002*
	Grupo - 2	0,639	1,259	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0		
	Grupo - 3	0,153	0,522	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0		
2º dia	Grupo - 1	1,083	1,508	0,0	0,0	0,0	2,0	5,0	4,14	0,1260
	Grupo - 2	0,778	1,178	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0		
	Grupo - 3	0,500	0,934	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0		
3º dia	Grupo - 1	1,042	1,144	0,0	0,0	1,0	2,0	4,0	5,34	0,0691
	Grupo - 2	0,861	1,225	0,0	0,0	0,0	1,0	6,0		
	Grupo - 3	0,625	0,911	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
4º dia	Grupo - 1	1,264	1,538	0,0	0,0	1,0	2,0	6,0	7,03	0,0298*
	Grupo - 2	0,611	0,943	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
	Grupo - 3	0,917	1,330	0,0	0,0	0,0	1,0	6,0		
5º dia	Grupo - 1	0,681	0,947	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0	1,02	0,6007
	Grupo - 2	0,722	1,129	0,0	0,0	0,0	1,0	6,0		
	Grupo - 3	0,861	1,142	0,0	0,0	0,5	1,0	4,0		
6º dia	Grupo - 1	0,542	0,855	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0	5,78	0,0556*
	Grupo - 2	0,514	0,787	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
	Grupo - 3	1,000	1,332	0,0	0,0	0,0	2,0	6,0		
7º dia	Grupo - 1	0,583	1,160	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0	2,85	0,2406
	Grupo - 2	0,542	0,871	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
	Grupo - 3	0,708	0,941	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
8º dia	Grupo - 1	0,292	0,813	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	13,10	0,0014*
	Grupo - 2	0,542	0,855	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
	Grupo - 3	0,694	0,959	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		

Continua...

Continuação.

Tempo	Grupo	Medidas descritivas para quantidade de mortos							Kruskal-Wallis	
		Média	D.P	Mín.	1ªQ	2ªQ	3ªQ	Máx	K	p-valor
9º dia	Grupo - 1	0,278	0,655	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	3,18	0,2036
	Grupo - 2	0,458	0,871	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0		
	Grupo - 3	0,403	0,643	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0		
10º dia	Grupo - 1	0,264	0,628	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	6,27	0,0435*
	Grupo - 2	0,556	1,005	0,0	0,0	0,0	1,0	4,0		
	Grupo - 3	0,708	1,192	0,0	0,0	0,0	1,0	5,0		

A Tabela 5.29 mostra as principais medidas descritivas e o teste Mann-Whitney realizado para verificar se houve diferença significativa entre a concentração de látex testada e os casos de morte ou não. Percebe-se que, exceto nos últimos 3 dias, essa diferença foi significativa, indicando que a ocorrência de mortes está relacionada às maiores concentrações de látex.

Tabela 5.29: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney entre a “quantidade de mortes dicotomizada” e “concentração de látex” para cada dia. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Tempo	Situação	Medidas descritivas para quantidade de concentração								Mann-Whitney	
		Média	Desvio Padrão	Mín.	1ªQ	2ªQ	3ªQ	Máx.	N	W	p-valor
1ª dia	Nenhuma morte	40,99	33,84	0	10	40	70	100	161	2952	0,0002*
	Mais de uma morte	60,00	27,62	0	40	60	80	100	55		
2ª dia	Nenhuma morte	36,32	33,31	0	0	30	60	100	133	3117	0,0000*
	Mais de uma morte	61,08	27,36	10	40	70	80	100	83		
3ª dia	Nenhuma morte	34,34	33,08	0	0	30	60	100	113	3345	0,0000*
	Mais de uma morte	58,45	28,93	0	35	60	80	100	103		
4ª dia	Nenhuma morte	38,02	35,19	0	0	30	70	100	116	4036	0,0001*
	Mais de uma morte	54,90	28,69	0	30	60	80	100	100		
5ª dia	Nenhuma morte	33,81	32,94	0	0	20	60	100	118	3091	0,0000*
	Mais de uma morte	60,31	27,75	0	40	60	90	100	98		
6ª dia	Nenhuma morte	40,08	33,49	0	10	40	70	100	130	4150	0,0013*
	Mais de uma morte	54,53	31,39	0	30	60	80	100	86		
7ª dia	Nenhuma morte	41,91	34,46	0	10	40	70	100	136	4405	0,0191*
	Mais de uma morte	52,50	30,46	0	30	50	80	100	80		
8ª dia	Nenhuma morte	43,93	33,73	0	10	50	70	100	145	4590	0,1940
	Mais de uma morte	49,72	32,47	0	25	40	85	100	71		

Continua...

Continuação.

Tempo	Grupo	Medidas descritivas para quantidade de mortos							Mann-Whitney		
		Média	D.P	Mín.	1 ^a Q	2 ^a Q	3 ^a Q	Máx.	N	W	p-valor
9 ^a dia	Nenhuma morte	45,88	34,23	0	10	50	80	100	160	4462	0,9651
	Mais de uma morte	45,71	31,03	0	20	40	70	100	56		
10 ^a dia	Nenhuma morte	47,42	34,32	0	20	50	80	100	155	5151	0,3044
	Mais de uma morte	41,80	30,69	0	10	40	70	100	61		

A Figura 5.9 mostra o perfil alisado de cada unidade amostral acompanhada ao longo dos 10 dias, verificando a taxa de sobreviventes média ao longo dos dias. Observa-se que não existe uma relação linear entre o número médio de sobreviventes ao longo dos dez dias de experimento.

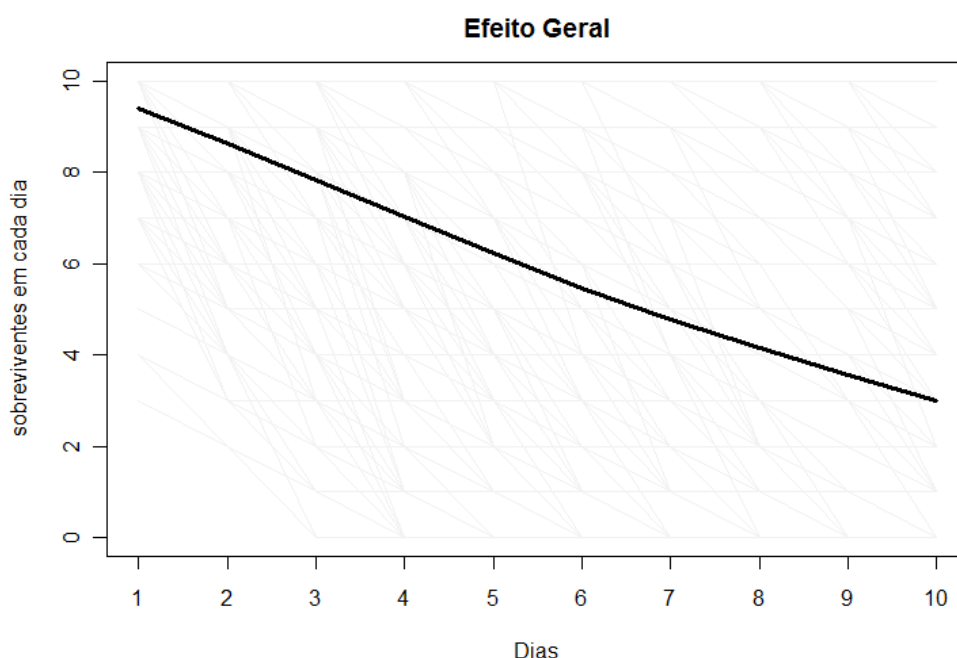


Figura 5.9: Gráfico de perfil alisado para a quantidade de sobreviventes ao longo dos 10 dias de exposição ao látex. Cada amostra foi composta de 10 indivíduos em duplicata.

A Figura 5.10 apresenta o número médio de sobreviventes ao longo dos 10 dias, estratificado para cada variável de interesse: “Grupo”, “Temperatura”, “Concentração de látex” e “Substância”. Observa-se, através do gráfico “Grupo”, que o número médio de sobreviventes do Grupo 1 é o que diminui mais rapidamente ao longo dos dias e que, praticamente, não existe diferença entre os Grupos 2 e 3. As variáveis “Temperatura” e “Concentração” são importantes para explicar o número de sobreviventes uma vez que discriminam bem os perfis

médios de sobreviventes: quanto maior a temperatura e a concentração de látex, maior a taxa de mortalidade e menor a quantidade média de sobreviventes. Percebe-se também que, graficamente, não existe diferença entre as substâncias água destilada e água desclorada.

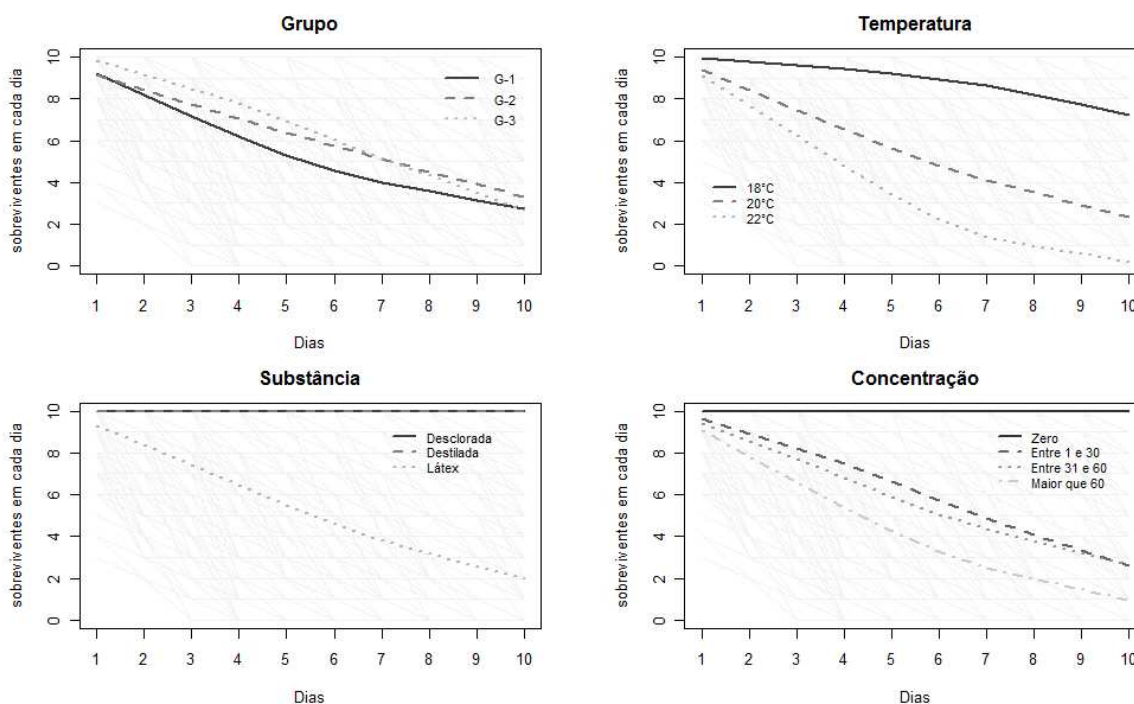


Figura 5.10: Gráficos de perfil alisado para a quantidade de sobreviventes ao longo dos dias entre “Grupo”, “Temperatura”, “Substância” e “Concentração”. Cada amostra foi composta de 10 indivíduos em duplicata.

Na Figura 5.11 tem-se a curva de sobrevivência por Kaplan- Meier, com seu respectivo intervalo de confiança. Percebe-se que no oitavo dia, 80% dos casos ainda não tinham todos os indivíduos mortos. Ao final do experimento, no décimo dia, 60% dos casos ainda não apresentavam todos os indivíduos mortos.

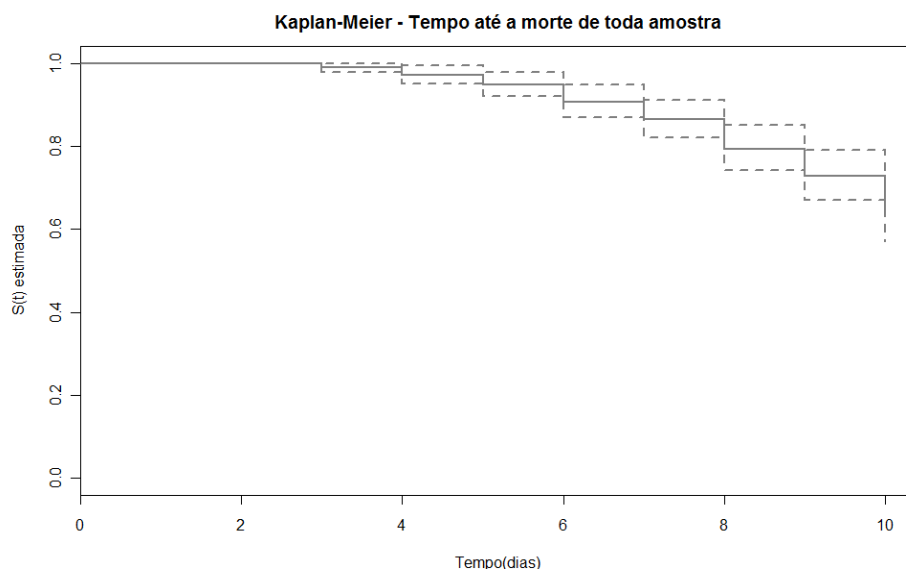


Figura 5.11: Curva de sobrevivência ($S_{(t)}$) estimada por Kaplan-Meier para o tempo até a morte de todos os indivíduos das amostras

A Figura 5.12 mostra a função sobrevivência por Kaplan-Meier estimada para cada variável de interesse. Através do gráfico “Temperatura” percebe-se que a 22°C, aproximadamente no 9º dia, 50% de todos os indivíduos já estavam mortos em todas as amostras e, a 18°C, ao final do décimo dia, mais de 80% dos indivíduos ainda estavam vivos.

Em relação ao gráfico “Grupo” (Figura 5.12), no tempo 6 (6º dia) 85% dos indivíduos do Grupo 2 estavam vivos, enquanto nos Grupos 1 e 3, sobreviviam 94%. No 10º dia, 59% dos indivíduos do Grupo 1 ainda estavam vivos enquanto dos Grupos 2 e 3, sobreviveram aproximadamente 77%.

Observando os gráficos “Concentração” e “Substância” (Figura 5.12) verifica-se que existe diferença entre as curvas estimadas para as categorias de concentração e que não existe diferença entre água desclorada e água destilada.

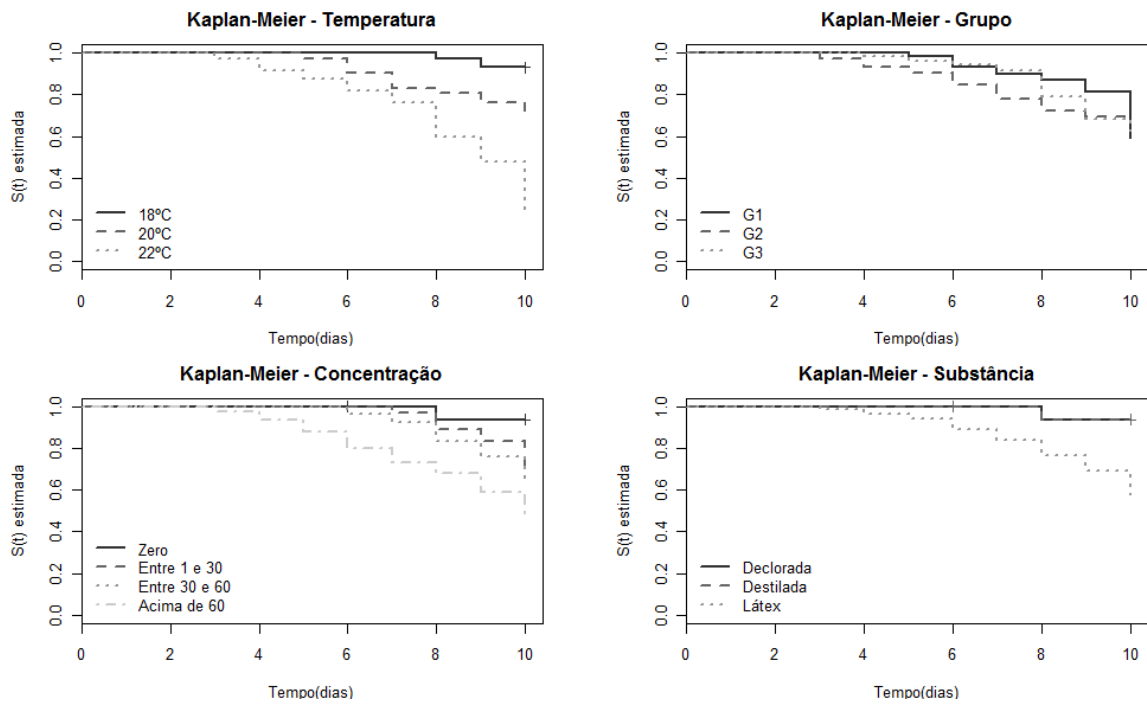


Figura 5.12: Curva de sobrevivência estimada por Kaplan-Meier para o tempo até a morte de toda a amostra, estratificada entre as variáveis “Temperatura”, “Grupo”, “Concentração” e “Substância”.

Após analisar as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier, há a necessidade de verificar se a diferença entre elas foi significativa. Pelo teste de Logrank (Tabela 5.30), percebe-se que não existe diferença significativa entre os grupos, mas esta é significativa entre todas as temperaturas. Não existe diferença significativa entre água desclorada e destilada. Em relação às concentrações, somente não existem diferenças significativas entre as faixas de concentrações de 1 a 30 mg/l comparada à faixa de 30 a 60 mg/l (p-valor = 0,339).

Tabela 5.30: Teste de Logrank para a comparação das funções de sobrevivência.
* = diferença significativa.

Fonte	Teste de Logrank	χ^2	p-valor
Grupos	G1 x G2	0,20	0,664
	G1 x G3	0,01	0,978
	G2 x G3	0,10	0,79
Temperatura	18°C x 20°C	11,30	0,001*
	18°C x 22°C	73,00	<0,001*
	20°C x 22°C	29,10	<0,001*

Continua...

Continuação.

Fonte	Teste de Logrank	χ^2	p-valor
Substância	Desclorada x Destilada	0,00	1,000
	Desclorada x Látex	6,90	0,008*
	Destilada x Látex	6,90	0,008*
Concentração	Zero x Entre 1 – 30 mg/l	5,10	0,024*
	Zero x Entre 31- 60 mg/l	9,50	0,002*
	Zero x Acima de 60 mg/l	18,40	<0,001*
	Entre 1 - 30 mg/l x Entre 31- 60 mg/l	0,90	0,339
	Entre 1 - 30 mg/l x Acima de 60 mg/l	6,60	0,012*
	Entre 31- 60 mg/l x Acima de 60 mg/l	4,00	0,046*

Comparando a função de sobrevivência estimada via Kaplan-Meier com as funções estimadas via distribuições Exponencial, Weibull e Log-Normal, observou-se que a distribuição mais adequada para modelar o tempo até a morte de todos os indivíduos da unidade amostral foi a Regressão de Weibull (Figura 5.13).

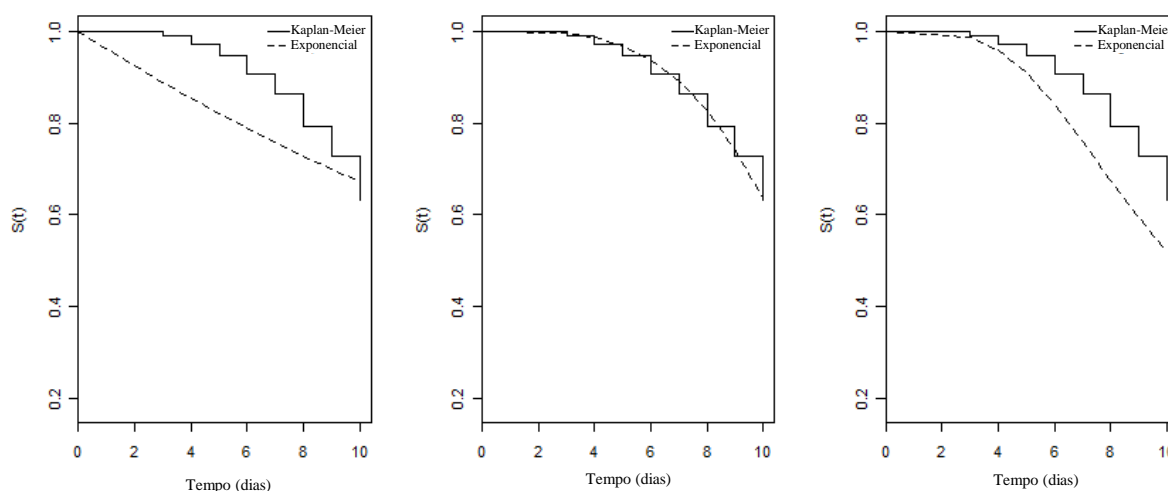


Figura 5.13: Curvas de sobrevivência estimadas pelos modelos Exponencial, Weibull e Log-Normal vs a curva de sobrevivência estimada por Kaplan-Meier.

O modelo de Weibull (Tabelas 5.31 a 5.33) mostrou que as variáveis “Concentração”, “Grupo” e “Temperatura” são significativas para explicar o tempo até a morte de todos os indivíduos da unidade amostral. Observa-se que o tempo mediano até a morte de todos os indivíduos diminui 0,996 vezes a cada unidade acrescida na concentração, ou seja, a cada 10

unidades acrescidas na concentração de látex, o tempo mediano diminui em 0,952 (Tabela 5.31).

Em relação aos “Grupos”, o Grupo 3 não difere significativamente do Grupo 1 (p-valor = 0,0993), mas o Grupo 2, sim (p-valor = 0,0293), sendo o tempo médio para a mortalidade de todos os indivíduos do Grupo 2 menor 0,86 vezes em relação ao tempo do Grupo 1 (Tabelas 5.31 a 5.33).

Quanto à temperatura, há diferença significativa entre todas elas. A 20°C, o tempo médio para a mortalidade de todos os indivíduos da unidade amostral é 0,69 vezes menor em relação à 18°C. Já na temperatura de 22°C, o tempo mediano até a morte de todos os indivíduos da unidade amostral é metade do tempo mediano na temperatura de 18°C (Tabelas 5.31 a 5.33).

Tabela 5.31: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; exp (β) = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Modelo de sobrevivência Weibull				exp(β)	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	3,24289	0,152171	21,31	0,0000	-	-	-
Concentração	-0,00449	0,000911	-4,92	0,0000	0,996	0,994	0,997
Grupo 2	-0,14913	0,068436	-2,18	0,0293	0,861	0,753	0,985
Grupo 3	-0,10291	0,062444	-1,65	0,0993	0,902	0,798	1,020
Temperatura 20°C	-0,37148	0,118461	-3,14	0,0017	0,690	0,547	0,870
Temperatura 22°C	-0,69415	0,122964	-5,65	0,0000	0,499	0,393	0,636

Tabela 5.32: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral, variando o grupo do intercepto. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; exp (β) = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Modelo de sobrevivência Weibull				exp(β)	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	3,140	0,147	21,345	<0,001	-	-	-
Concentração	-0,004	0,001	-4,925	<0,001	0,996	0,994	0,997
Grupo 2	-0,046	0,066	-0,704	0,481	0,955	0,840	1,086
Grupo 1	0,103	0,062	1,648	0,099	1,108	0,981	1,253
Temperatura 20 °C	-0,371	0,118	-3,136	0,002	0,690	0,547	0,870
Temperatura 22 °C	-0,694	0,123	-5,645	0,000	0,499	0,393	0,636

Tabela 5.33: Modelo de Weibull para o tempo até a morte de toda a unidade amostral, variando a temperatura do intercepto. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Modelo de sobrevivência Weibull				exp(β)	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	2,549	0,074	34,52	0,0000	-	-	-
Concentração	-0,004	0,001	-4,92	0,0000	0,996	0,994	0,997
Grupo 2	-0,149	0,068	-2,18	0,0293	0,861	0,753	0,985
Grupo 3	-0,103	0,062	-1,65	0,0993	0,902	0,798	1,020
Temperatura 20 °C	0,323	0,066	4,85	0,0000	1,381	1,212	1,573
Temperatura 18 °C	0,694	0,123	5,65	0,0000	2,002	1,573	2,548

Assim como observado nos experimentos de exposição ao látex por 24 horas, também neste a temperatura teve grande influência sobre o aumento da taxa de mortalidade de *L. fortunei*. A 22°C os indivíduos morrem em um tempo menor que a 18°C. As discussões para este resultado se remetem às mesmas já descritas anteriormente para o experimento com tempo de exposição de 24 horas (item 5.2.2).

Analisando a curva de sobrevivência para concentração (Figura 5.12), e comparando os dados obtidos neste experimento com os dados da literatura referentes à exposição de *B. glabrata* ao látex, observa-se que a concentração letal para *L. fortunei* é mais alta que para *B. glabrata* e *Lymnaea columella*. Enquanto Mello-Silva *et al.* (2007) e Vasconcellos & Amorim (2003b) obtiveram um percentual de 60% de sobreviventes nas primeiras 24 horas de exposição à concentração de 1mg/l para *B. glabrata* e *L. columella*, para *L. fortunei* obteve-se 40% de mortalidade a partir do nono dia quando submetidos às concentrações acima de 60mg/l.

É sabido que existem vários mecanismos que permitem aos moluscos evitar substâncias com propriedades nocivas. Um deles é o abandono da área de ocorrência da solução teste pelos indivíduos. Este comportamento foi reportado para espécimes de *B. glabrata* submetidos às soluções aquosas de látex de *E. splendens* (MELLO-SILVA *et al.*, 2006) em que os indivíduos se deslocaram para fora da substância. Esses autores observaram que o escape era maior em concentrações inferiores à dosagem sub-letal. Isso porque, em dosagens baixas, o molusco ainda encontrava-se ativo, o que não seria possível em dosagens altas onde, os que

ainda estivessem vivos, apresentariam quadro de letargia. Resultado semelhante, para esta mesma espécie, foi obtido por Jurberg *et al.* (1985). Entretanto, para *L. fortunei*, este comportamento não foi observado.

Outro mecanismo para evitar a intoxicação foi observado por Cataldo *et al.* (2003). Estes autores observaram, em um experimento para avaliação da resposta de *L. fortunei* quando exposto a quatro produtos diferentes com propriedades moluscicidas (cloro, Clam Trol CT2, H130M e Bayluscide WP70), que o mexilhão dourado, ao perceber a presença na água, era capaz de fechar as valvas evitando a incorporação da substância. Ainda de acordo com estes autores, uma grande vantagem dos produtos à base de amônia quaternária sobre outros moluscicidas é que a maioria dos animais não percebe a sua presença no meio aquático. Entretanto, *L. fortunei* é capaz de percebê-lo tornando-o menos eficaz para esta espécie quando comparado a outros moluscos. O mesmo procedimento de fechamento das conchas foi também observado por Rajagopal *et al.* (2003a) quando submeteram *L. fortunei* a cloração intermitente. Uma comparação dos resultados obtidos por Cataldo *et al.* (2003) com demais resultados existentes na literatura sobre outros moluscos invasores (*e. g.* WALLER *et al.*, 1993; MACKIE & CLAUDI, 2010) mostra que *L. fortunei* é bem mais resistente devido a maior faixa de tolerância a produtos tóxicos, capacidade de percepção de substâncias diluídas e maior capacidade de evitá-las (fechamento de concha por períodos prolongados) quando comparado a outras espécies de moluscos. Como exemplo, o cloro pode ser de 2 a 40 vezes mais tóxico para *Corbicula fluminea* e *Dreissena polymorpha* que para *L. fortunei*. Ainda, *L. fortunei* é 10 vezes mais resistente que *D. polymorpha* para o Clam Trol e 40 vezes mais para o Bayluscide (Cataldo *et al.*, 2003).

Entretanto, em todas as concentrações testadas, durante todo o tempo de exposição ao látex, não foi observado, neste experimento, o fechamento das valvas por parte de *L. fortunei* a fim de evitar a substância. Ao contrário, mesmo sob a maior concentração avaliada (1.000 mg/l – solução mãe), os indivíduos tiveram atividade normal em relação ao controle: deslocamento pelo frasco, formação de bisco, abertura das conchas com exposição do sifão (Figura 5.10) e resposta rápida (fechamento das valvas) quando estimulados (tocados ou frascos movimentados).

O látex, quando diluído em água, forma uma substância opaca, de cor branca leitosa. Observou-se neste experimento, para todos os grupos e em todas as temperaturas, que o

mexilhão tornava o meio em que se encontrava translúcido ainda nas primeiras 24 horas de exposição. Nesta ocasião, os indivíduos formaram grande quantidade de pseudofezes esbranquiçadas além de ter sido observada a presença de pequenos “grumos” brancos na solução (Figura 5.14). Entretanto, após análise microscópica, observou-se que estes grumos são pedaços que se soltaram do cordão de pseudofezes.

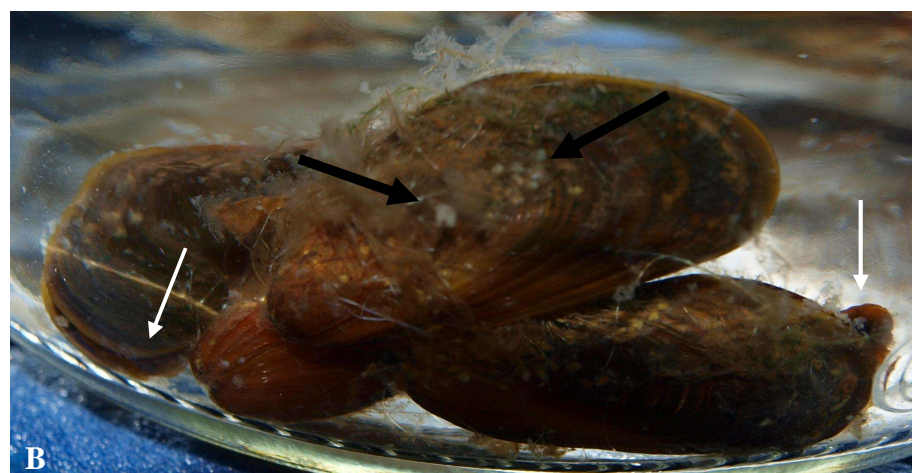
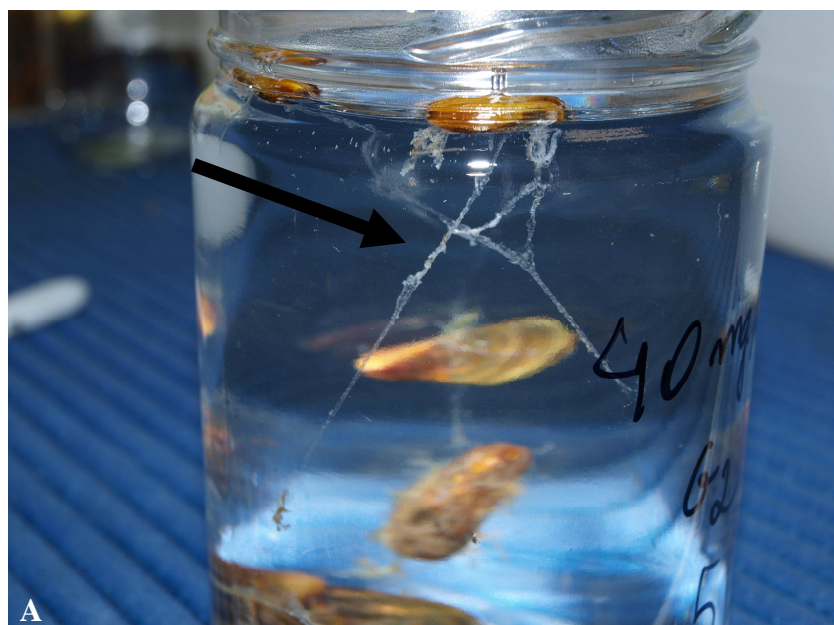


Figura 5.14: Formação de pseudofezes (A) e “grumos” brancos (B) (ambos apontados pelas setas pretas). As setas brancas mostram abertura das valvas e exposição do manto.

Fotos: Daniel Coscarelli.

De acordo com a descrição feita por Darrigran & Damborenea (2006), esse cordão de pseudofezes esbranquiçado é o resultado da seleção de partículas pré selecionadas nas brânquias e não processadas na alimentação.

Em relação aos controles, observou-se que não houve a formação de pseudofezes esbranquiçadas nos frascos. Esses resultados indicam que o látex de *E. splendens* não tem efeito agudo tóxico ao *L. fortunei* durante o tempo de exposição estudado (10 dias) e que esta espécie é capaz de selecionar esta substância e descartá-la sem sofrer intoxicação, pelo menos a curto prazo.

MacGinitie (1941) afirma que bivalves não perturbados produzem, durante a alimentação, uma camada de muco sobre as brânquias que age como filtro sendo capazes de reter até mesmo partículas coloidais presentes na água. Entretanto, Jørgensen (1976) diz parecer inconsistente essa teoria justificando que o tamanho crítico de absorção de partículas para a maioria dos bivalves é em torno de 2 a 4 μm . Jørgensen (1976) afirma que o papel de grande produção de muco formando camadas sobre as brânquias, juntamente com os movimentos da musculatura branquial, está relacionado à limpeza destas quando há grande quantidade de material em suspensão na água circundante. Ele afirma ainda que o estado de alimentação é caracterizado por altas taxas de transporte de água por meio de brânquias altamente retentoras.

A formação de pseudofezes esbranquiçadas e a não intoxicação desta espécie pelo látex pode estar relacionada ao citado anteriormente. A percepção de substância tóxica na água pode se dar, inicialmente, pelo processo de retenção de partículas coloidais pelo muco formado sobre as brânquias (MACGINITIE, 1941) que, imediatamente após o reconhecimento, promove o fechamento da concha (CATALDO *et al.*, 2003; RAJAGOPAL *et al.*, 2003a) ou, acelera a produção de muco para a limpeza branquial (JØRGENSEN, 1976) com a formação de grande quantidade de pseudofezes que pode chegar a conter de 80 a 90 % do volume total do material particulado filtrado (NEWELL, 2004). Considerando que ainda não são bem compreendidos os mecanismos pelos quais as brânquias de bivalves selecionam, filtram, transportam e retêm eficientemente partículas e substâncias do meio em que se encontram (JØRGENSEN, 1976; WARD *et al.*, 1998), pelo menos para *L. fortunei* a afirmação de MacGinitie (1941) não pode ser descartada antes de verificada para esta espécie, em particular.

Outro fator interessante que pode explicar a formação de grande quantidade de pseudofezes esbranquiçadas e a não morbidade dos indivíduos é a sua relação área branquial vs taxa de bombeamento de fluxo no processo de filtração. Apesar de nenhum trabalho fazer referência a essa relação para *L. fortunei*, Meyhöfer (1985) encontrou para *Mytilus edulis*, pertencente à

mesma família do mexilhão dourado, Mytilidae, brânquias extremamente grandes em relação ao tamanho do indivíduo. Este autor afirma que o tamanho das brânquias juntamente com a taxa de bombeamento podem estar relacionados aos diferentes tamanhos de partículas absorvidas. A retenção de partículas muito pequenas pelos bivalves, filtradores, aumenta a resistência do sistema de filtração das brânquias devido a um tipo de colmatação deste, podendo reduzir a vazão ou, pelo menos, alterar o gasto energético do indivíduo para manter a mesma vazão anterior por unidade branquial. Também, a velocidade (vazão por unidade branquial) através do sistema de filtração pode ser um determinante no tamanho das partículas retidas. Portanto, *L. fortunei* pode ter esse tamanho exarcebado das brânquias, semelhantes à *M. edulis*, permitindo a esta espécie a filtração de grande quantidade de partículas muito pequenas sem grandes alterações, pelo menos a curto prazo (10 dias), no processo de filtração (alimentação e respiração) e, conseqüentemente, não ocorrer alterações prejudiciais visíveis.

Apesar de não ter sido avaliada neste experimento, pode ser que o látex não tenha sido suficiente para matar os indivíduos expostos pelo tempo determinado, mas tenha alterado alguma função metabólica/fisiológica destes. Conforme observado por Mello-Silva *et al.* (2006; 2007), mesmo em concentrações sub-letais e após a perda da atividade moluscicida do látex de *E. splendens* var. *hislopii*, na CL50 (1 mg/l), este causou interferência na reprodução de *B. glabrata* estando esta diretamente relacionada a alterações no nível de glicose da hemolinfa. Estudos posteriores poderão verificar as alterações metabólicas e fisiológicas de *L. fortunei* quando submetido ao látex de *E. splendens*.

5.2.4. Toxicidade do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* para *Daphnia* sp. e *Ceriodaphnia* sp.

As Figuras 5.15 e 5.16 mostram as percentagens de indivíduos (*D. similis*, *D. laevis* e *C. silvestrii*) imóveis após 24 e 48 horas de exposição ao látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*.

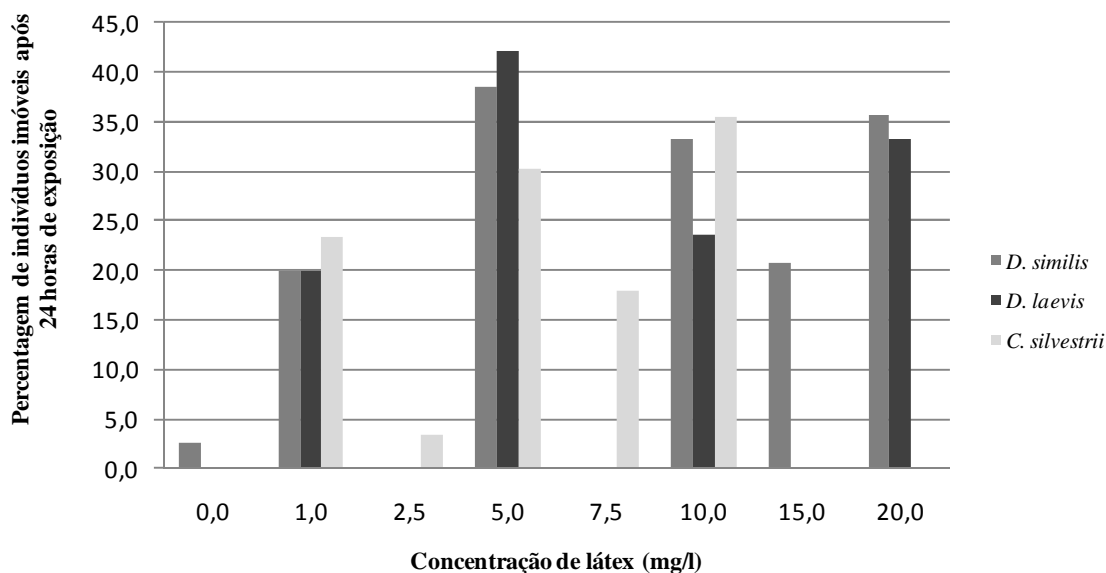


Figura 5.15: Percentagem de indivíduos imóveis após 24 horas de exposição ao látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*. *Daphnia similis* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 e 20.0 mg/l. *Daphnia laevis* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg/l. *Ceriodaphnia silvestrii* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 e 10.0 mg/l.

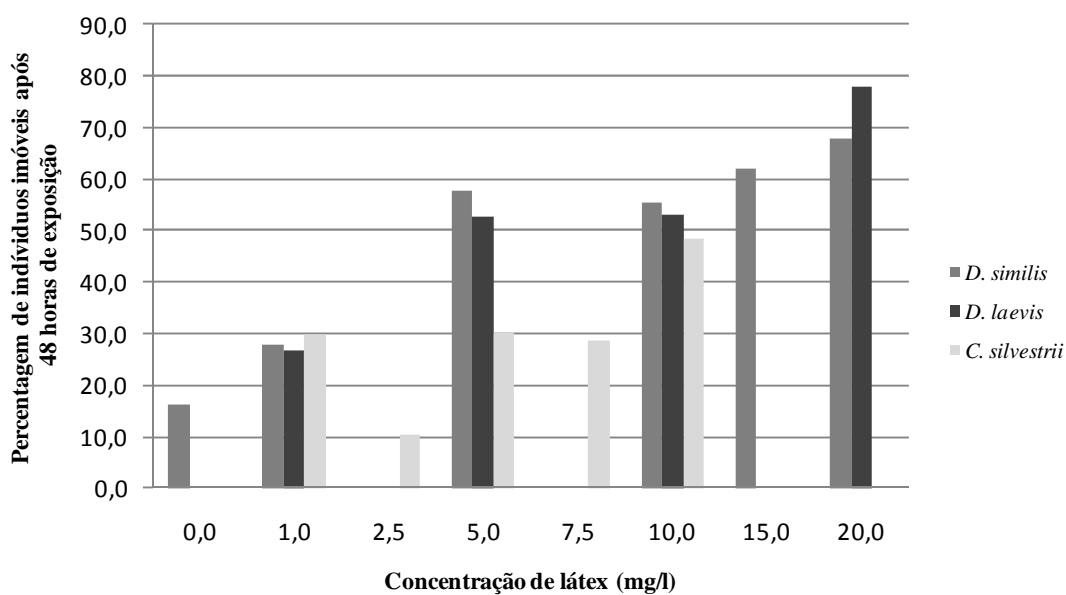


Figura 5.16: Percentagem de indivíduos imóveis após 48 horas de exposição ao látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*. *Daphnia similis* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 e 20.0 mg/l. *Daphnia laevis* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg/l. *Ceriodaphnia silvestrii* foi submetida às concentrações 0.0 (controle), 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 e 10.0 mg/l.

Os valores de CE50, calculados através do teste de Trimmed Spearman Karber, de acordo com os protocolos sugeridos pela ABNT NBR 13373 (2006) e ABNT NBR 12713 (2009) estão demonstrados na Tabela 5.34.

Tabela 5.34: CE50 para as espécies *D. similis*, *D. laevis* e *C. silvestrii*, quando submetidas ao látex de *E. splendens* var. *hislopii*.

Espécie	Valores de CE50 (mg/l) e seus respectivos intervalos de confiança
	48 horas de exposição
<i>Daphnia similis</i>	12,17 IC = 10,33 – 14,35
<i>Daphnia laevis</i>	4,91 IC = 2,24 – 10,78
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	3,16 IC = - *

* intervalo de confiança não calculado pelo teste.

Os resultados obtidos demonstram que o emprego da solução aquosa do látex, em campo, nas concentrações testadas (10 a 1000 ppm), não é viável como método de controle para *L. fortunei*. Mesmo sabendo que soluções em baixas concentrações (não letais) de látex podem interferir no metabolismo, como verificado para outras espécies (e. g. MELLO-SILVA *et al.*, 2006; 2007), o emprego desta substância em campo pode ser bastante prejudicial para as espécies não alvo.

Das duas espécies expostas ao látex padronizadas pela ABNT NBR 13373 (2006) e ABNT NBR 12713 (2009), *D. similis* e *C. silvestrii*, apenas a última espécie é brasileira. O valor de CE50 obtido para *D. similis* foi, aproximadamente, 4 vezes maior que para *C. silvestrii*, indicando ser aquela uma espécie muito mais resistente. Oliveira-Filho & Paumgarten (2000), comparando o efeito tóxico do látex de *Euphorbia milii* var. *hislopii* (sinônimo de *E. splendens*) (Euphorbiaceae) e da niclosamida (moluscicida bastante empregado no combate à *Biomphalaria*) sobre vários organismos aquáticos não alvos (oligoquetas, crustáceos planctônicos, peixes, *Pomacea* sp., rã, bactérias, algas e larvas de mosquito), encontraram para *D. similis* um valor de CE50, após 24 horas de exposição ao látex, de 1,07 mg/l, enquanto, o valor de CE50 obtido após 48 horas de exposição foi de 0,38 mg/l, valor bastante inferior ao encontrado no presente trabalho. Uma das explicações desta diferença de

resultados pode estar relacionada aos fatores ambientais que influenciam na atividade moluscicida do látex (Oliveira-Filho *et al.*, 1999).

A outra espécie utilizada no teste, *D. laevis* não está padronizada pela ABNT, mas é uma espécie brasileira e apresentou um valor de CE50 bastante próximo ao obtido para *C. silvestrii*.

Esses resultados mostram a possibilidade de diferença de tolerância entre espécies brasileiras e exóticas. É muito importante buscar, cada vez mais, para os testes toxicológicos, a utilização e padronização de espécies pertencentes aos locais onde as substâncias tóxicas serão empregadas. Assim, é possível uma avaliação mais abrangente e real em relação à ecotoxicidade do produto (FONSECA, 1991; ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

Vasconcellos & Schall (1986) verificaram, paralelamente ao estudo do efeito do látex de *E. splendens* sobre *B. glabrata* e *B. tenagophila*, que a CL50 para peixes *guppy* (*Lebistes reticulatus* Peters, 1859 - Poeciliidae) é em torno de 2,36 ppm enquanto a CL90 é em torno de 3,77 ppm. Baseando-se nestes resultados e nos resultados obtidos no presente trabalho, afirma-se ser o látex uma substância inviável para a utilização em *L. fortunei* em campo, mesmo que esta substância esteja influenciando no metabolismo do mexilhão, pois as concentrações necessárias a serem empregadas estariam afetando organismos não-alvo no ambiente aquático. Como informação adicional, observou-se que o emprego do látex não é desaconselhado como forma de combate e controle para *B. glabrata*, uma vez que o valor da concentração letal para esta espécie foi inferior ao encontrado para os indivíduos testados (2,3 mg/l - MELLO-SILVA *et al.*, 2006).

Entretanto, quanto mais espécies não-alvo forem estudadas em relação ao seu comportamento mediante um produto tóxico, melhor será a visão de como este age/interage com o meio ambiente onde é/será lançado.

5.3. Pressão suportada por *Limnoperna fortunei*

A quantidade e tamanho dos indivíduos mortos com 24 e 48 horas de observação, após submissão aos testes de pressão, estão apresentados na Tabela 5.35.

Tabela 5.35: Indivíduos mortos com 24 e 48 horas de observação após submissão ao teste de pressão. Foram submetidos 20 indivíduos por grupo em cada pressão testada, sendo: G1 = Grupo 1 (5,00 – 15,99 mm); G2 = Grupo 2 (16,00 – 25,99 mm); G3 = Grupo 3 (26,00 – 45,99).

Número de indivíduos (20 ind. por grupo)	Pressão (mca)	Número de indivíduos mortos após 24 h de observação	Tamanho dos indivíduos mortos após 24 h de observação	Número de indivíduos mortos após 48 h de observação	Tamanho dos indivíduos mortos após 48 h de observação
60	Controle - atmosférica	1	9,50 (G1)	2	28,04 (G3); 10,79 (G1)
60	2,5	1	28,49 (G3)	1	9,30 (G1)
60	5	1	26,06(G3)	0	
60	10	0		0	
60	20	1	23,32 (G2)	0	
60	30	0		0	
60	40	0		0	
60	50	1	31,33 (G3)	0	
60	60	1	7,11 (G1)	0	
60	70	1	14,20 (G1)	1	27,93 (G3)
60	80	0		1	11,95 (G1)
60	90	0		0	
60	100	1	27,56(G3)	1	13,29 (G1)
60	110	0		1	12,06 (G1)
60	120	0		0	
60	130	2	23,19 (G2); 11,74 (G1)	0	

Os testes de pressão envolveram as variáveis “Mortalidade” que, para 192 medidas (16 valores de pressão x duplicatas x 3 grupos x 2 tempos de observação – 24 e 48 horas), 8,9% foram mortes, “Grupos”, com 64 medidas (16 valores de pressão x duplicatas x 2 tempos de observação) em cada grupo, “Tempo”, com 96 medidas nas primeiras 24 horas e 96 medidas com 48 horas de observação dos indivíduos (16 valores de pressão x duplicatas x 3 grupos) e “Pressão” (16 valores) com uma média de 53,3 mca sendo que a pressão mínima utilizada foi a atmosférica “zero” e a máxima, 130 mca (Tabela 5.36).

Tabela 5.36: Frequência das medidas descritivas para os dados relativos ao experimento de pressão.

	N	%	N	%	N	%	N	%
Mortalidade	Vivos		Mortos		Total			
	175	91,1%	17	8,9%			192	100,0%
Grupos	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Total	
	64	33,3%	64	33,3%	64	33,3%	192	100,0%
Tempo	24 horas		48 horas		Total			
	96	50,0%	96	50,0%			192	100,0%
Pressão	Média	Desvio Padrão	Mín.	1° Q	2° Q	3° Q	Máx.	N
	57,3	42,9	0,0	17,5	55,0	92,5	130,0	192,0

O Grupo 1(5 – 15.99 mm) apresentou 14,1% de mortes, o Grupo 2(16 – 25.99 mm), 3,1% e o Grupo 3(26 – 40 mm), 9,4%. Entretanto, o teste Qui-Quadrado, não detectou associação significativa entre esses valores ($X^2 = 4,78$; p-valor = 0,0901) (Tabela 5.37).

Tabela 5.37: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “Morte” e “Grupo”.

Grupo	Mortos				Total		Qui-Quadrado	
	Não		Sim				χ^2	p-valor
Grupo 1	55	85,9%	9	14,1%	64	100,0%		
Grupo 2	62	96,9%	2	3,1%	64	100,0%	4,78	0,0901
Grupo 3	58	90,6%	6	9,4%	64	100,0%		

A Figura 5.17 mostra que a mediana da pressão nos casos em que ocorreram mortes é maior que nos casos onde não ocorreram.

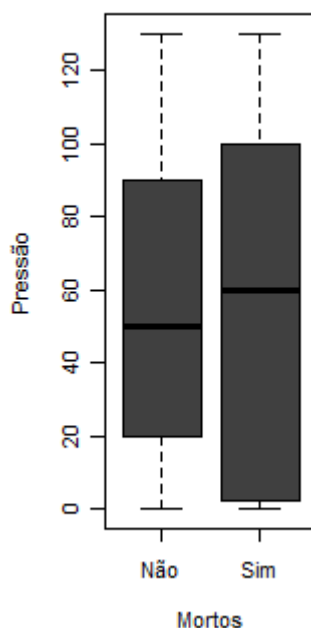


Figura 5.17: Boxplot entre “pressão” e os “casos de morte ou não”.

A Tabela 5.38 mostra as principais medidas descritivas relacionadas à Figura 5.17. Entretanto, o teste de Mann-Whitney não detectou diferença significativa entre os valores medianos ($W = 1601$, $p\text{-valor} = 0,6031$).

Tabela 5.38: Medidas descritivas e teste de Mann-Whitney para os casos em que ocorreram mortes ou não.

Mortos	Medidas descritivas para Pressão							Mann-Whitney		
	Média	Desvio Padrão	Mín.	1º Quartil	2º Quartil	3º Quartil	Máx.	N	W	p-valor
Não	57,60	42,48	0	20	50	90	130	175	1601	0,6031
Sim	54,71	48,58	0	2,5	60	100	130	17		

A Tabela 5.39 e a Figura 5.18 mostram que, com 24 horas de observação, morreram 3% mais indivíduos que com 48 horas. Entretanto o teste Qui-Quadrado não evidenciou associação significativa entre as variáveis “morte” e “tempo de observação” ($X^2 = 0,58$, $p\text{-valor} = 0,446$).

Tabela 5.39: Tabela de contingência e teste Qui-Quadrado entre as variáveis “morte” e “tempo”.

Tempo de observação	Mortes				Total	Qui-Quadrado	χ^2	p-valor
	Não		Sim					
24 horas	86	89,6%	10	10,4%	96	100,0%	0,58	0,446
48 horas	89	92,7%	7	7,3%	96	100,0%		

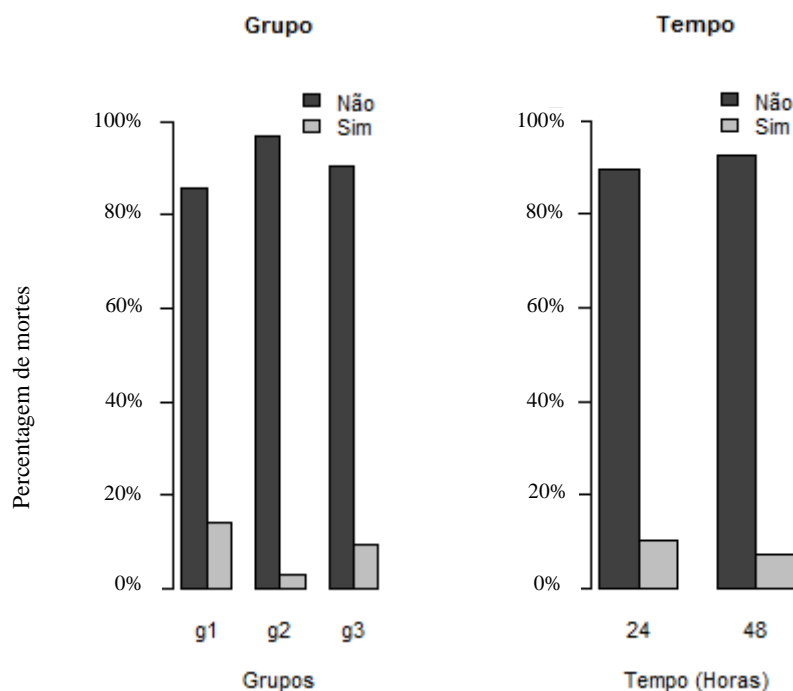


Figura 5.18: Percentual de mortes em relação ao grupo e ao tempo de observação de mexilhões submetidos ao teste de pressão.

Para o experimento relacionado à pressão, a variável resposta foi se ocorreu morte ou não, caracterizando uma distribuição de Bernoulli para resposta. O modelo logístico foi utilizado para verificar se o “grupo”, “pressão” e “tempo de observação” exerceram alguma influência nos casos de morte. A Tabela 5.40 mostra o modelo logístico com as variáveis explicativas.

Tabela 5.40: Regressão logística com as covariáveis “Tempo”, “Grupo” e “Pressão” para a variável “Morte”. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; Odds = Razão de chance (Interpretação do modelo logístico); I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Regressão Logística				Odds	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-1,532	0,541	-2,83	0,0046	-	-	-
Grupo 2	-1,629	0,804	-2,03	0,0429	0,196	0,041	0,949
Grupo 3	-0,461	0,561	-0,82	0,4115	0,631	0,210	1,894
Pressão	-0,002	0,006	-0,27	0,7872	0,998	0,987	1,010
48 h	-0,401	0,522	-0,77	0,4423	0,670	0,241	1,863

Após serem retirados os termos sem significância da Tabela 5.40, tem-se a Tabela 5.41. Ela mostra que apenas a variável “Grupo” é importante para explicar a ocorrência de morte, sendo o aumento de pressão, não significativo. A chance de morrer indivíduos do Grupo 2 é, aproximadamente, 0,20 vezes a chance do Grupo 1, ou seja, a chance de morrer indivíduos do Grupo 1 é 5 vezes maior que a do Grupo 2. Não houve diferença significativa entre as chances de morte entre os Grupos 1 e 3. Para verificar se existia diferença significativa entre os Grupos 2 e 3, o mesmo modelo foi ajustado colocando o Grupo 3 no intercepto (Tabela 5.42). Entretanto, confirmou-se a existência de diferença significativa apenas entre os Grupos 1 e 2.

Tabela 5.41: Regressão logística para “Grupo” e “Morte”. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; Odds = Razão de chance (Interpretação do modelo logístico); I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Regressão Logística				Odds	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-1,810	0,359	-5,03	<0,001	-	-	-
Grupo 2	-1,624	0,803	-2,21	0,0432	0,197	0,041	0,951
Grupo 3	-0,458	0,559	-0,81	0,4126	0,632	0,211	1,892

Tabela 5.42: Regressão logística para “Grupo” e “Morte”, com o Grupo 3 no intercepto. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; Odds = Razão de chance (Interpretação do modelo logístico); I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance.

Fonte	Regressão Logística				Odds	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-2,26	0,428	-5,29	<0,001	-	-	-
Grupo 2	-1,16	0,837	-1,39	0,1640	0,313	0,061	1,617
Grupo 1	0,458	0,559	-0,81	0,4126	0,632	0,211	1,892

O teste da Deviance (p-valor = 0,9889), a análise do envelope de probabilidade e o gráfico com as distâncias de Cook mostram que o modelo ajustado utilizado está adequado (Figura 5.19).

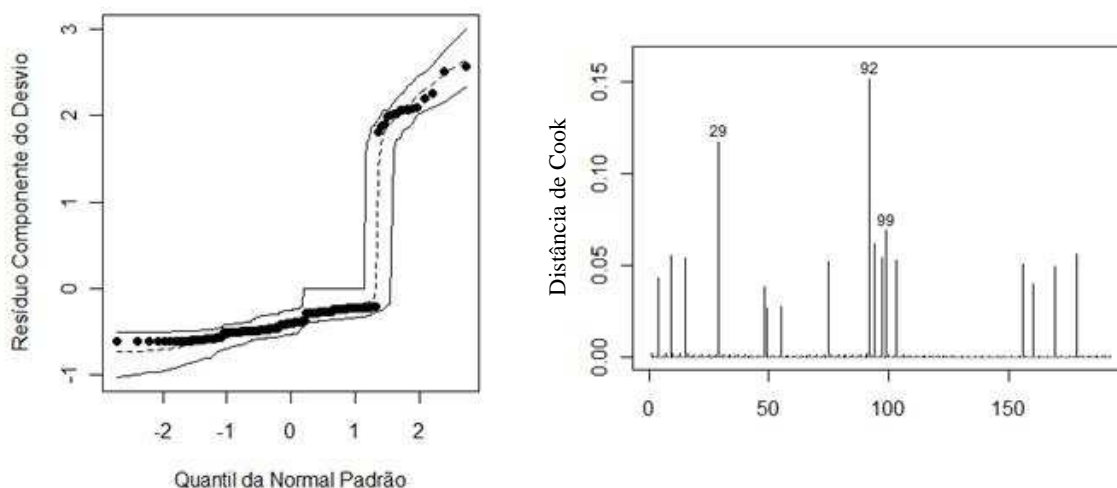


Figura 5.19: Análise de resíduos. À esquerda: envelope de probabilidade. À direita: distância de Cook.

Concluindo, através das análises estatísticas, observa-se que o aumento de pressão, bem como depressurização, não influenciou na morte dos indivíduos, o que indica que, para um tempo de exposição de 5 minutos, os valores testados encontram-se abaixo dos letais para *L. fortunei*.

Há uma grande dificuldade para discutir os dados encontrados devido a ser o primeiro trabalho desenvolvido com o objetivo de se avaliar o comportamento de uma espécie de bivalve de água doce quando submetido à variação de pressão.

Entretanto, um artigo escrito por Schlieper (1968) suporta os dados aqui obtidos. Este autor verificou os efeitos provocados por altas pressões em invertebrados marinhos e peixes, sendo uma das espécies de molusco estudada, *M. edulis*, pertencente à mesma família do mexilhão dourado, Mytilidae.

Schlieper (1968) refere-se aos resultados encontrados pelos autores Menzies e Wilson, em 1961, em que submeteram as espécies *Pachygrapsus crassipes* Randal, 1840 (Crustacea, Grapsidae) e *M. edulis* a diferentes pressões. Segundo Schlieper (1968) estes autores variaram as pressões de forma bastante lenta, gastando de 1 a 60 minutos para atingir a pressão máxima bem como no processo de descompressão. Os resultados indicaram que *M. edulis* pode suportar variações de pressão acima de 200 atm (aproximadamente 2.000 metros de coluna d' água).

Referenciando o trabalho realizado por Naroska, em 1968, Schlieper (1968) cita a pressão de 800 atm (aproximadamente 8.000 metros de coluna d' água) como a CL50 para *M. edulis*. Aqui, deve-se entender a CL50 como o valor de pressão que causou 50% de mortes dos indivíduos submetidos aos testes. Segundo Schlieper (1968), espécies eurióicas litorâneas tolerantes a ampla faixa de temperatura e resistentes a variações osmóticas possuem uma alta resistência a variações de pressão. Apesar de *L. fortunei* não ser uma espécie marinha, pertence a uma família de representantes marinhos (Mytilidae). Apresentando as características acima citadas, esta espécie mostrou-se bastante resistente a variações de pressão.

Apesar de não haver referências sobre tolerância a despressurização em bivalves, esta é bastante estudada em peixes (revisão bibliográfica realizada por Magalhães, 2009). De acordo com Tsvetkov *et al.* (1972), a partir de uma taxa de descompressão de 9,1 mca/s, mesmo as espécies de peixes mais resistentes podem sofrer danos devido a, principalmente, rompimento da bexiga natatória.

Entretanto, os dados obtidos para *L. fortunei* foram surpreendedores. Apesar desta espécie poder viver bem em profundidades de até 50 metros, como é o caso no reservatório de Itaipu

Binacional (dados fornecidos por Itaipu Binacional), esperava-se que ela não resistisse ao processo de descompressão rápida. Acreditava-se que os músculos adutores da concha se rompessem às taxas de descompressões instantâneas utilizadas (10 a 130 mca/s). Entretanto, eles não sofreram nenhuma alteração.

Foi observado, neste estudo, que os indivíduos submetidos aos testes ficaram mais ativos que os indivíduos “controle”, tanto durante as 24 quanto 48 horas de observação. Os indivíduos “testados” se movimentaram mais, exteriorizaram mais o pé e responderam mais rapidamente a estímulos externos (toque) que os indivíduos “controle”. Esse mesmo comportamento foi também observado por Schlieper (1968) em várias espécies marinhas. Este autor afirma que a submissão a taxas de pressurização não-letais causa, temporariamente, um aumento de atividade. Taxas de pressurizações superiores interrompem esta reação estimulante levando a um retardamento dos movimentos. Em taxas maiores ainda, os movimentos cessam e inicia-se um processo de contração muscular progressiva. Os resultados aqui obtidos mostram que os valores testados de pressurização/despressurização encontram-se, realmente, abaixo das taxas letais.

O fato de indivíduos do Grupo 1 apresentarem chance 5 vezes maior de mortalidade que o Grupo 2 deve ser melhor investigado em pesquisas futuras utilizando pressões mais elevadas. Isso porque, apesar de estatisticamente significativa esta diferença, a variação da pressão não estava relacionada à mortalidade (Tabelas 5.40 e 5.41) e, ainda, a taxa de mortalidade foi bastante baixa e parecida com a obtida para o Grupo controle (Tabela 5.35).

Portanto, estudos devem ser desenvolvidos submetendo exemplares de *L. fortunei* a tempos e taxas maiores de pressurização com o objetivo de verificar melhor a possibilidade do emprego desta técnica como forma de controle e combate do mexilhão dourado em plantas industriais, de abastecimento de água e geradoras de energia.

5.4. Velocidade mínima de remoção de *Limnoperna fortunei* após aderência em aço carbono

5.4.1. Volume de *L. fortunei*

A Tabela 5.43 mostra os valores de comprimento, largura e espessura obtidos para os 60 mexilhões medidos e o volume de mercúrio (Hg) deslocado correspondente a cada mexilhão.

Tabela 5.43: Medidas de comprimento, altura, espessura e volume dos 60 indivíduos.

Número do teste	Comprimento (mm) - L	Altura (mm)	Espessura (mm)	Massa de Hg deslocada (g)	Volume de Hg deslocado (cm ³)
1	24,230	11,190	7,660	10,967	2,067
2	21,360	10,140	7,320	9,330	2,404
3	27,060	12,680	8,010	15,358	1,413
4	17,170	8,270	5,320	4,791	1,152
5	19,350	9,410	6,700	6,837	1,475
6	33,040	16,110	11,930	32,648	1,194
7	24,070	11,340	7,380	9,602	1,131
8	23,340	10,050	8,390	11,784	1,152
9	23,630	10,630	7,680	10,509	1,055
10	26,280	11,330	8,520	15,646	0,975
11	18,220	9,250	5,980	5,012	0,760
12	19,480	9,870	7,510	7,720	0,856
13	25,770	11,620	6,560	10,317	1,067
14	19,390	10,050	6,950	6,926	0,808
15	20,440	8,820	6,630	6,193	0,707
16	13,440	6,800	4,700	2,574	0,915
17	18,830	10,120	7,070	7,836	0,774
18	15,440	7,760	5,250	3,728	0,868
19	23,020	10,570	7,020	9,877	0,727
20	19,280	9,600	7,190	6,485	0,906
21	12,290	6,290	4,330	1,894	0,701
22	13,660	7,250	4,760	2,711	0,657
23	11,300	4,970	3,980	2,224	0,687
24	16,710	9,190	6,390	5,309	0,683
25	10,950	5,320	4,170	0,930	0,456

Continua...

Continuação.

Número do teste	Comprimento (mm) - L	Altura (mm)	Espessura (mm)	Massa de Hg deslocada (g)	Volume de Hg deslocado (cm ³)
26	21,330	10,530	7,650	9,275	0,569
27	23,890	11,370	7,670	12,422	0,510
28	29,090	13,020	9,320	19,188	0,503
29	27,140	13,510	8,850	16,214	0,478
30	22,720	10,490	9,110	12,302	0,425
31	33,450	13,940	11,490	28,072	0,577
32	26,090	12,130	8,130	13,244	0,369
33	15,790	7,310	5,620	3,953	0,438
34	28,050	12,450	9,630	20,024	0,353
35	18,860	9,240	6,830	5,776	0,391
36	28,730	11,940	8,880	15,649	0,329
37	14,190	6,780	5,240	2,684	0,329
38	12,790	5,790	4,640	2,100	0,291
39	12,960	7,660	5,350	2,978	0,275
40	22,490	9,260	7,080	9,513	0,184
41	13,800	6,760	4,920	3,325	0,230
42	9,440	4,480	3,360	1,532	0,319
43	24,690	10,950	9,170	14,489	0,198
44	25,370	11,150	7,780	11,621	0,196
45	16,170	7,250	5,830	4,473	0,245
46	10,130	5,320	3,660	1,598	0,200
47	11,840	6,250	4,890	3,633	0,190
48	14,310	7,810	5,140	3,117	0,219
49	14,240	8,290	5,300	4,330	0,155
50	14,190	6,510	4,780	2,663	0,139

Continua...

Continuação.

Número do teste	Comprimento (mm) - L	Altura (mm)	Espessura (mm)	Massa de Hg deslocada (g)	Volume de Hg deslocado (cm ³)
51	16,150	8,820	5,770	4,474	0,268
52	10,040	5,010	3,970	2,297	0,164
53	9,740	5,120	3,760	2,461	0,164
54	17,900	8,610	6,540	5,948	0,068
55	15,000	7,050	4,610	2,494	0,110
56	26,220	11,720	9,760	14,323	0,221
57	21,880	9,970	6,850	8,928	0,169
58	10,560	5,090	3,710	1,497	0,118
59	11,830	6,040	4,540	2,227	0,181
60	10,280	5,880	4,330	3,004	0,113

Com as medidas (Tabela 5.43), obteve-se, graficamente, a relação “comprimento (L - mm)” vs “volume (cm³)” (Figura 5.20).

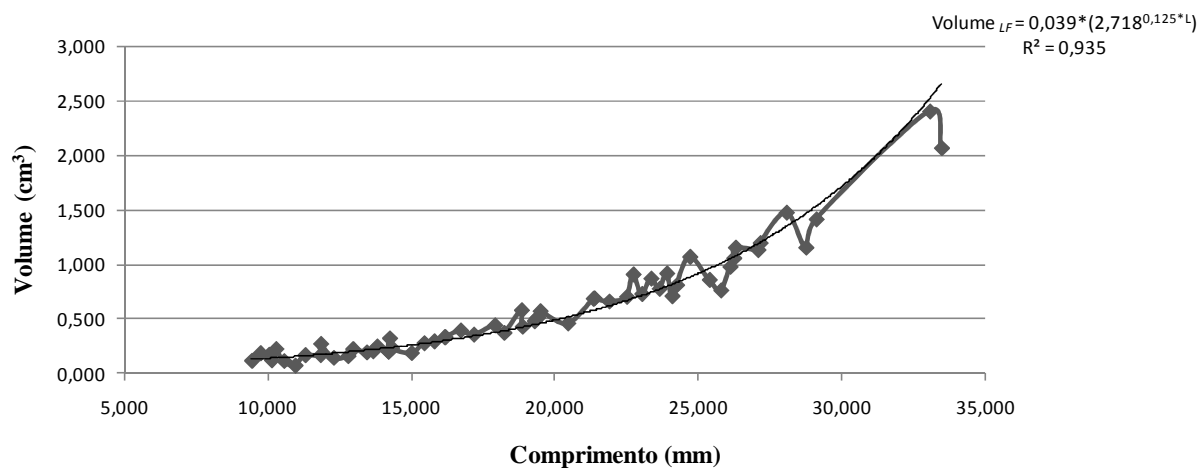


Figura 5.20: Gráfico mostrando o volume correspondente ao comprimento do mexilhão dourado.

A equação obtida para correlação entre o comprimento e o volume de *L. fortunei* foi ($R^2 = 0,935$) (Equação 5.1):

$$V = 0,039 \times (2,718^{0,125 \times L}) \quad (5.1)$$

na qual,

V = volume do mexilhão (cm³)

L = comprimento da concha (mm)

Ainda não há na literatura disponível referências sobre cálculo de volume para *L. fortunei*. A metodologia sugerida por Rodhouse (1977) para o cálculo de volume de bivalves se baseia na submersão de indivíduos em água. Experimentos preliminares a este trabalho, seguindo sugestões deste autor, desenvolvidos no LELF, buscaram obter a correlação “comprimento da concha vs volume do mexilhão” utilizando água. Porém, não foram obtidos resultados satisfatórios. Isso porque, provavelmente, houve absorção significativa de água pela pasta interna que preenchia a concha e, também, devido a tensão superficial da água ser menor que a do mercúrio, causando perdas de volume durante a taragem e erros em relação ao volume deslocado quando o mexilhão era submerso. Entretanto, a utilização de mercúrio (neste trabalho) ao invés de água mostrou resultados mais consistentes entre a relação “comprimento vs volume” apresentando um R² satisfatório (R² = 0,935).

Mansur *et al.* (2008) analisaram, por 12 meses, as relações alométricas obtidas entre os parâmetros morfométricos da concha (altura, largura, comprimento) e pesos seco e úmido dos indivíduos para populações de mexilhões dourados fixas em substratos experimentais de duas localidades de Porto Alegre/RS: Canal do Rio Jacuí e Cais do Porto. Estes autores verificaram haver diferença significativa entre essas relações, nem sempre diretamente proporcionais, para essas duas populações. As diferenças foram atribuídas ao fato dessas variáveis sofrerem influências das condições ambientais de forma diferenciada em cada população. Iwasaki & Uryu (1998) também afirmam a existência de variações entre populações de mexilhões devido às características ambientais particulares de cada região.

A relação obtida entre o comprimento da concha e o volume para mexilhões do reservatório de Itaipu Binacional foi considerada adequada neste experimento devido ao alto valor obtido para o coeficiente da curva (R² = 0,935). Entretanto, uma vez que existem diferenças populacionais entre outros parâmetros morfométricos (por exemplo, altura, largura e comprimento da concha) (MANSUR *et al.*, 2008; IWASAKI & URYU, 1998) é importante o

estudo com populações de outras localidades na tentativa de verificar o comportamento desta relação (comprimento *vs* volume).

5.4.2. Velocidade de remoção

Em outubro de 2010 foram submetidas ao teste de velocidade 34 amostras (placas), submersas no período de setembro/2009 a agosto/2010 (Apêndice I). Portanto, as placas mais antigas submetidas ao teste estavam submersas há 13 meses (setembro/2009) e as placas mais recentes, há 5 meses (refrentes ao mês de maio/2010). As placas submersas nos meses de junho, julho e agosto de 2010 não apresentaram mexilhões incrustados, ou pelo menos, não apresentavam mexilhões de tamanhos visíveis a olho nu. Portanto, não foram testadas. Segundo Mansur *et al.* (2008), o prazo de 5 meses para recolhimento em testes utilizando substratos submersos é suficiente para que as larvas incrustadas se fixem e desenvolvam em juvenis (aproximadamente 2 mm).

Avaliando os resultados obtidos de uma forma geral, cada placa analisada gerou, em média 13,3 pseudo-réplicas. Foi considerada como “pseudo-réplica” cada velocidade testada, por placa. Cada evento deste não foi nomeado réplica por apresentar quantidades diferenciadas de mexilhões incrustados e, ainda, por ter ocorrido diferenças nas velocidades empregadas em cada placa como consequência da variação do tipo de suporte utilizado e da área interna do aparato (Apêndice II). A quantidade de mexilhões incrustada em cada placa foi de, em média, 114,6 indivíduos, sendo encontrado o mínimo de 3 e o máximo de 596 indivíduos (correspondendo a uma densidade populacional de 37.250 indivíduos/m²). Foi obtida uma média de 9,09 mexilhões por pseudo-réplica, sendo que, em 50% dos casos, soltaram menos que 3,51 indivíduos. A velocidade média empregada até que todos os mexilhões fossem soltos foi de 0,72 m/s, sendo que, em 50% dos casos, essa velocidade foi menor que 0,62 m/s. A velocidade máxima média atingida em cada placa foi de 1,21 m/s, sendo que, em menos de 75% dos casos, esse valor foi menor que 1,60 m/s. Entretanto, houve 1 caso de velocidade máxima de soltura igual a 2,87 m/s (Tabela 5.44, Figura 5.21 e Apêndice II).

Tabela 5.44: Medidas descritivas para as pseudos-réplicas, quantidade de mexilhões, mexilhões por pseudo-réplica, velocidade média (m/s) e velocidade máxima de soltura (m/s).

Medidas descritivas	Pseudo-réplicas	Quantidade de mexilhões	Quantidade de mexilhões por pseudo-réplica	Velocidade média (m/s)	Velocidade máxima (m/s)
N	34 placas	34 placas	34 placas	34 placas	34 placas
Média	13,32	114,65	9,09	0,72	1,21
E.P	1,64	27,19	2,91	0,06	0,11
Mín.	3,00	3,00	1,00	0,23	0,46
1ª Quartil	4,00	9,00	1,54	0,47	0,60
2ª Quartil	11,50	48,00	3,51	0,62	1,08
3ª Quartil	20,50	145,00	8,50	0,95	1,60
Máx.	37,00	596,00	85,14	1,41	2,87

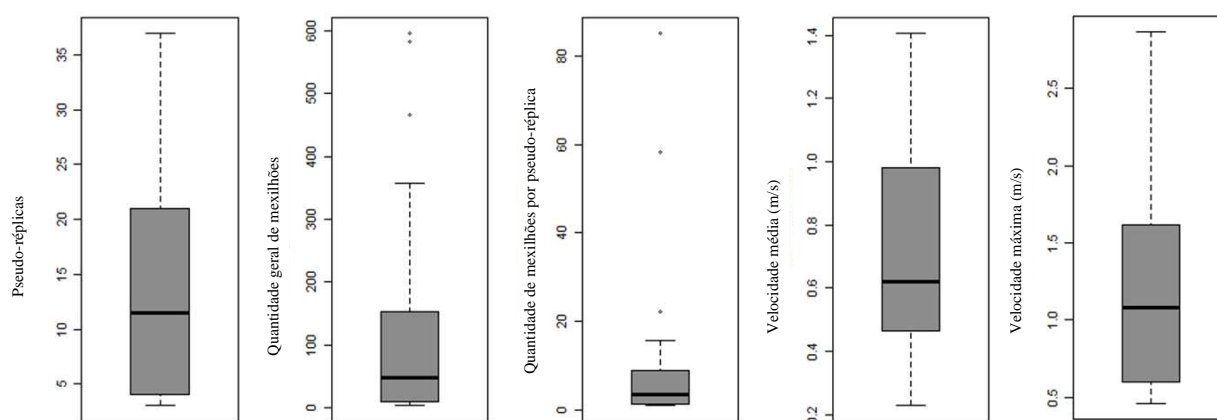


Figura 5.21: Boxplot mostrando as medidas descritivas presentes na Tabela 5.44.

Ao analisar os resultados estratificados de acordo com o tempo de submersão da placa, observou-se que o maior número de mexilhões fixados foi obtido com 13, 12 e 11 meses de submersão, diminuindo consideravelmente nas placas submersas depois do mês de novembro/2009 (10 meses de submersão) (Tabela 5.45 e Figura 5.22).

Tabela 5.45: Quantidade de mexilhões incrustados nas placas de acordo com o tempo de submersão. M = meses.

	Quantidade de mexilhões fixos								
	13M	12M	11M	10M	9M	8M	7M	6M	5M
Quantidade de placas	4	3	5	4	3	5	5	4	1
Média	345,50	328,33	128,00	27,00	73,00	50,00	58,40	4,75	3,00
E.P	110,16	156,30	30,79	11,92	19,14	19,83	32,99	1,44	-
Mín.	152,00	44,00	46,00	4,00	35,00	18,00	4,00	3,00	3,00
1ª Quartil	164,75	201,00	88,00	7,75	61,50	18,00	6,00	3,00	3,00
2ª Quartil	317,00	358,00	111,00	27,00	88,00	33,00	6,00	3,50	3,00
3ª Quartil	497,75	470,50	179,00	46,25	92,00	57,00	120,00	5,25	3,00
Máx.	596,00	583,00	216,00	50,00	96,00	124,00	156,00	9,00	3,00

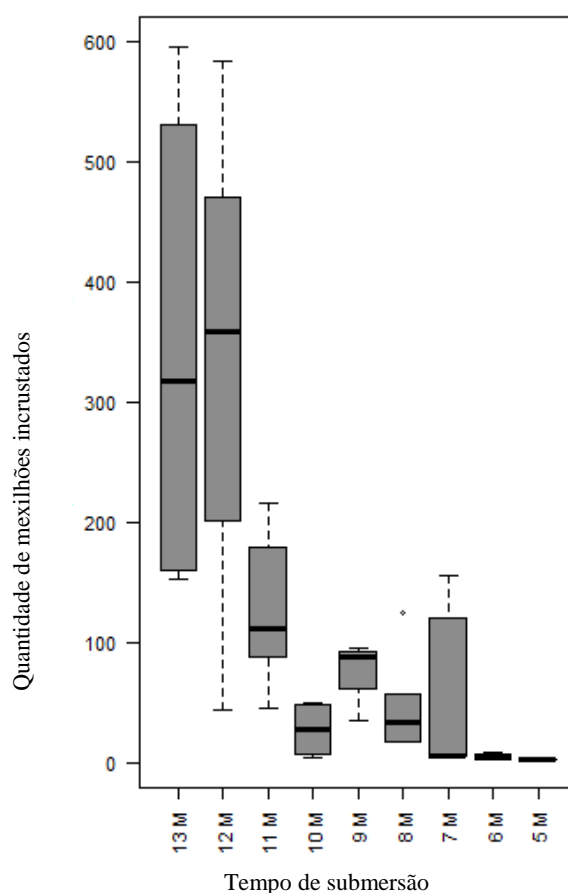


Figura 5.22: Boxplot para a quantidade de mexilhões incrustados nas placas em relação ao tempo de submersão. M = meses

Em relação às velocidades médias e máximas médias do fluxo de água necessárias para a soltura dos mexilhões, estas diminuíram consideravelmente para as placas com tempo de submersão igual ou inferior a 7 meses. Entretanto, as velocidades empregadas nas placas submersas em novembro/2009 (com tempo de submersão de 11 meses) também apresentaram

velocidades baixas necessárias para a soltura dos mexilhões se comparada com as demais (Tabela 5.46 e Figura 5.23).

Tabela 5.46: Velocidades médias e máximas de soltura dos mexilhões por tempo de incrustação. M = meses.

Velocidades médias (m/s)									
	13M	12M	11M	10M	9M	8M	7M	6M	5M
Quantidade de placas	4	3	5	4	3	5	5	4	1
Média	0,85	0,76	0,57	0,85	0,80	0,99	0,43	0,66	0,31
E.P	0,15	0,17	0,08	0,19	0,21	0,17	0,10	0,13	-
Mín.	0,44	0,43	0,38	0,59	0,55	0,44	0,23	0,46	0,31
1ª Quartil	0,73	0,65	0,49	0,63	0,59	0,77	0,29	0,51	0,31
2ª Quartil	0,93	0,88	0,53	0,70	0,64	1,13	0,33	0,56	0,31
3ª Quartil	1,05	0,93	0,60	0,92	0,92	1,26	0,53	0,71	0,31
Máx.	1,10	0,98	0,84	1,41	1,21	1,34	0,77	1,04	0,31

Velocidades máximas (m/s)									
	13M	12M	11M	10M	9M	8M	7M	6M	5M
Quantidade de placas	4	3	5	4	3	5	5	4	1
Média	1,19	1,11	1,02	1,39	1,81	1,78	0,83	0,89	0,46
E.P	0,26	0,33	0,29	0,38	0,37	0,38	0,18	0,19	-
Mín.	0,48	0,51	0,46	0,85	1,28	0,59	0,51	0,60	0,46
1ª Quartil	0,93	0,85	0,63	1,02	1,45	1,42	0,51	0,70	0,46
2ª Quartil	1,32	1,19	0,86	1,09	1,62	1,97	0,60	0,75	0,46
3ª Quartil	1,58	1,41	1,06	1,46	2,07	2,04	1,08	0,94	0,46
Máx.	1,62	1,63	2,11	2,53	2,53	2,87	1,43	1,45	0,46

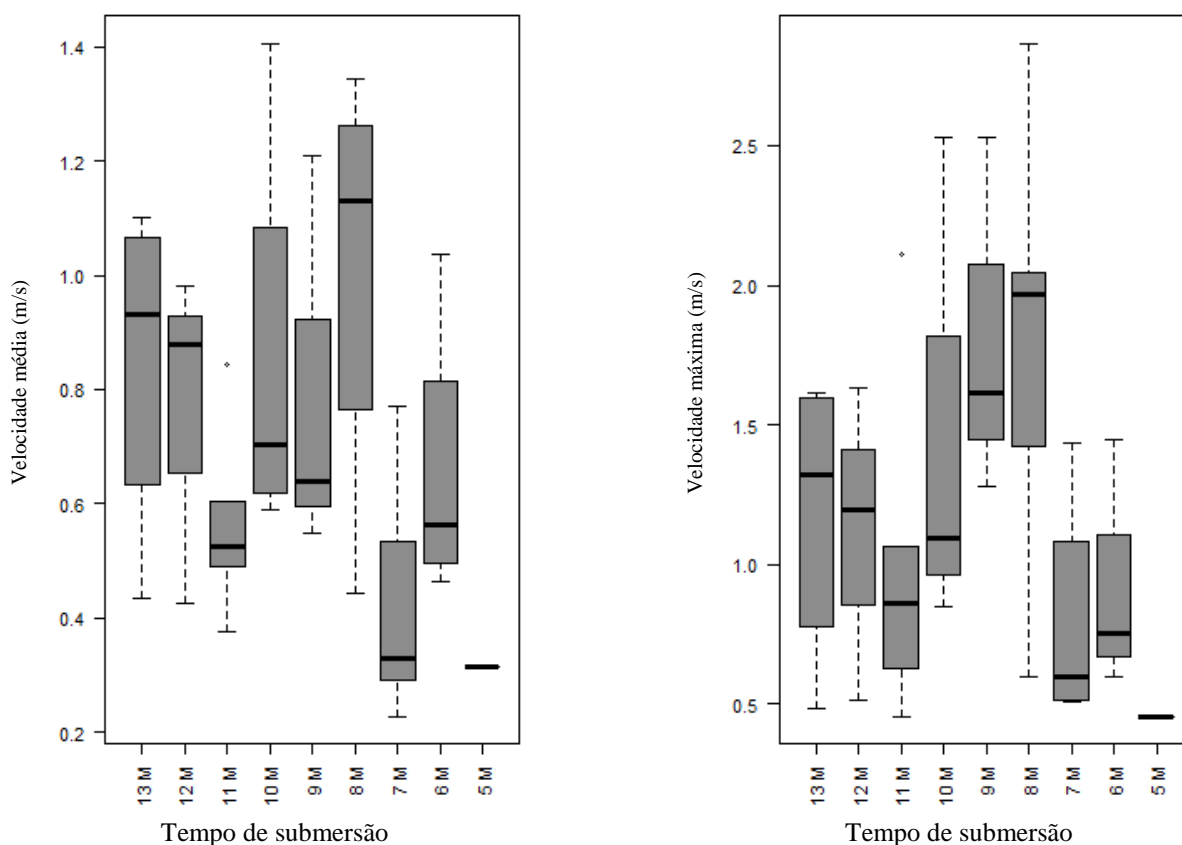


Figura 5.23: Boxplot para as velocidades médias e máximas de soltura de *L. fortunei* em relação ao tempo de submersão.

Ao comparar as variáveis da Tabela 5.47 considerando os tipos de placas (pintadas e sem pintura - “Normal”), observou-se que todas as variáveis apresentaram, em média, valores menores nas placas pintadas (Tabela 5.47 e Figura 5.24). É interessante destacar que as placas pintadas foram submersas entre os meses de abril e agosto de 2010, sendo que apenas os meses de abril e maio/2010 apresentaram mexilhões incrustados. Devido à pequena quantidade amostral de mexilhões nas placas pintadas e da existência de apenas 2 meses para comparação com as placas não-pintadas, não foi possível identificar, com clareza, se o efeito da diminuição da quantidade de mexilhões e da velocidade foi devido à pintura ou não. As placas pintadas submersas de junho a agosto/2010 não apresentaram mexilhões incrustados visivelmente, mas também as não pintadas apresentaram o mesmo resultado nos meses de junho e julho/2010.

Tabela 5.47: Medidas descritivas comparando as placas não pintadas e pintadas. N = quantidade de placas.

Medidas descritivas	Pseudo réplicas		Quantidade de mexilhões		Mexilhões por pseudo-réplica		Velocidade média (m/s)		Velocidade máxima (m/s)	
	Tipo de placa		Tipo de placa		Tipo de placa		Tipo de placa		Tipo de placa	
	Sem pintura	Pintada	Sem pintura	Pintada	Sem pintura	Pintada	Sem pintura	Pintada	Sem pintura	Pintada
N	30	4	30	4	30	4	30	4	30	4
Média	14,63	3,50	129,30	4,75	10,13	1,31	0,73	0,59	1,27	0,81
E.P	1,72	0,29	29,84	1,44	3,25	0,31	0,06	0,16	0,12	0,22
Mín.	3,00	3,00	3,00	3,00	1,00	1,00	0,23	0,31	0,46	0,46
1ª Quartil	7,00	3,00	21,75	3,00	1,86	1,00	0,50	0,43	0,66	0,56
2ª Quartil	12,00	3,50	72,50	3,50	4,69	1,00	0,64	0,50	1,09	0,67
3ª Quartil	21,00	4,00	155,00	5,25	9,12	1,31	0,95	0,66	1,62	0,92
Máx.	37,00	4,00	596,00	9,00	85,14	2,25	1,41	1,04	2,87	1,45

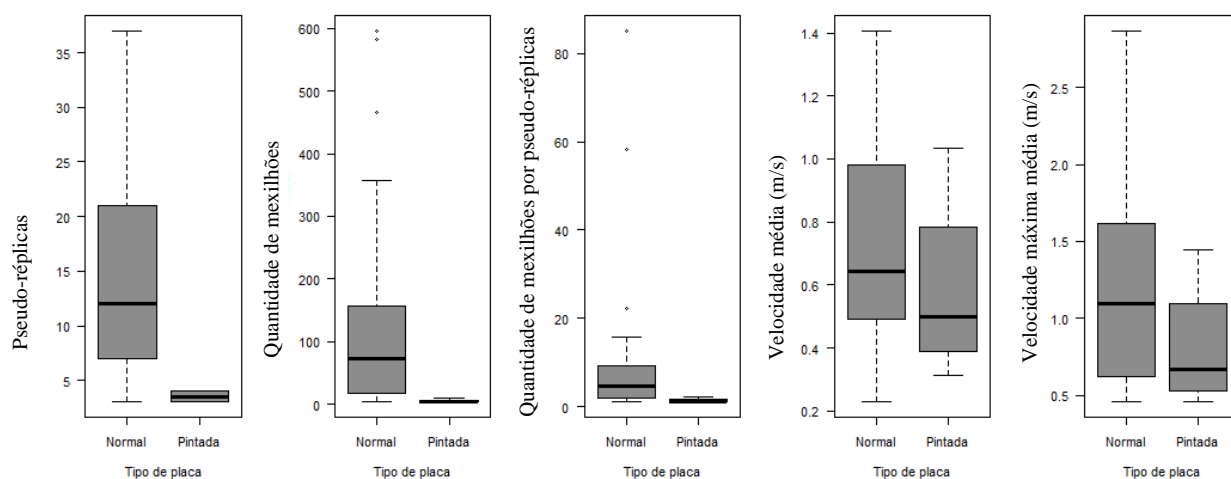


Figura 5.24: Boxplot comparando as medidas descritivas entre as placas “Normais” (sem pintura) e “pintadas”.

Um fato interessante foi que todas as placas pintadas que não apresentaram mexilhões incrustados tiveram grande quantidade de esponja aderida. Amostras deste material aderido foram recolhidas e fixadas para posterior identificação, mas não há resultados até a presente data. Fusari *et al.* (2008) identificaram no Rio Paraná a substituição de bancos de esponjas de água doce por *L. fortunei*. Estes autores encontraram, ainda, larvas de mexilhão dourado associadas a estas esponjas nos substratos submersos. Eles chamam a atenção para o risco de

extinção de espécies nativas, por exemplo, espécies de Chironomidae dependentes de esponjas em determinado ciclo de vida, devido à substituição por *L. fortunei*.

Para verificar a velocidade mínima necessária de soltura dos mexilhões incrustados nas placas, criou-se uma curva de sobrevivência empírica relacionando as velocidades com as quantidades de indivíduos para todas as placas (Figura 5.25). Esta curva mostra quantos mexilhões estavam ainda presos à placa no início do teste para cada velocidade. É importante destacar que, como não houve presença de censura, ou seja, todas as placas foram acompanhadas até que todos os mexilhões se soltassem, pôde-se calcular a função de sobrevivência empírica não sendo necessária a estimativa por Kaplan-Meier. Dessa forma, ao analisar a Tabela 1 do Apêndice III e a Figura 5.25, percebe-se que, na velocidade média de 0,512 m/s, havia, considerando todas as placas, 1975 mexilhões sob risco (ainda incrustados), ou seja, metade da soma de mexilhões de todas as placas. Isto significa que, nesta velocidade, metade dos mexilhões já estavam soltos. Na velocidade de 1,00 m/s, 30.48% dos mexilhões ainda estavam fixos. A partir da velocidade de 1,4 m/s, menos de 6% dos mexilhões ainda se mantinham nas placas. É interessante notar a variação entre as placas, sendo consideravelmente grande quando comparada à função de sobrevivência geral (linha escura) (Figura 5.25).

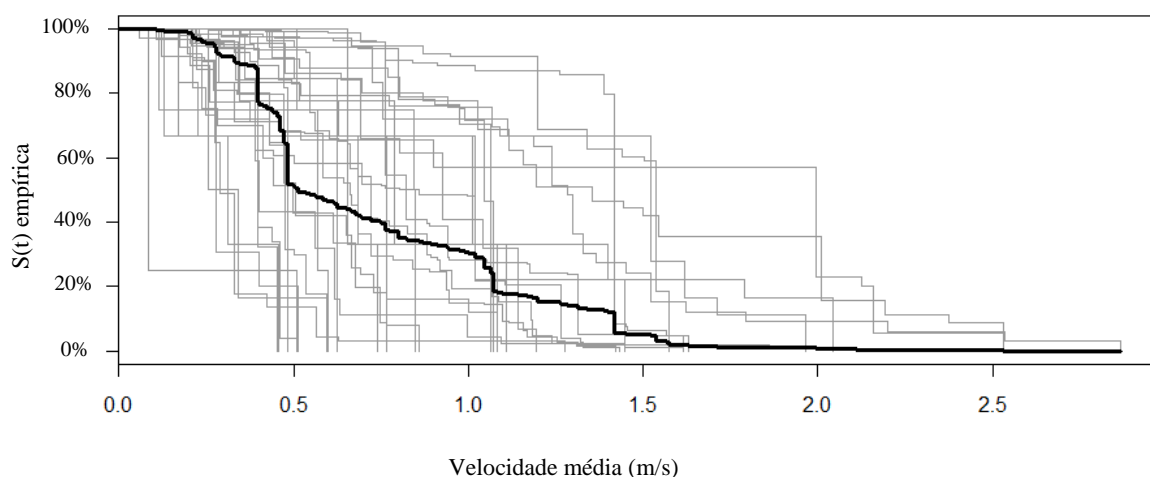


Figura 5.25: Função de sobrevivência empírica até que todos os mexilhões se soltem das placas à medida em que se aumenta a velocidade.

Ao plotar os resultados obtidos em relação ao tempo de submersão das placas, tem-se a Figura 5.26. Percebe-se, inicialmente, que existe uma variação considerável entre os meses. Com um tempo de submersão de 5 meses, correspondente às placas submersas em maio/2010, na velocidade de 0,228 m/s, apenas 50% dos mexilhões estavam fixos às placas. Já com um

tempo de submersão de 13 meses, correspondente às placas submersas em setembro/2009, a velocidade em que 50% dos mexilhões ainda estavam incrustados foi de 0,750 m/s. No geral, os meses de novembro/09, janeiro/10, março/10 e maio/10, correspondentes a um tempo de submersão de 11, 9, 7 e 5 meses respectivamente, foram os que apresentaram as maiores taxas de mexilhões soltos por velocidade. No mês de outubro/2009 (tempo de submersão de 12 meses) para a função sobrevivência cair de, aproximadamente, 50% para 30%, a velocidade variou de 0,450 m/s a 1,40 m/s.

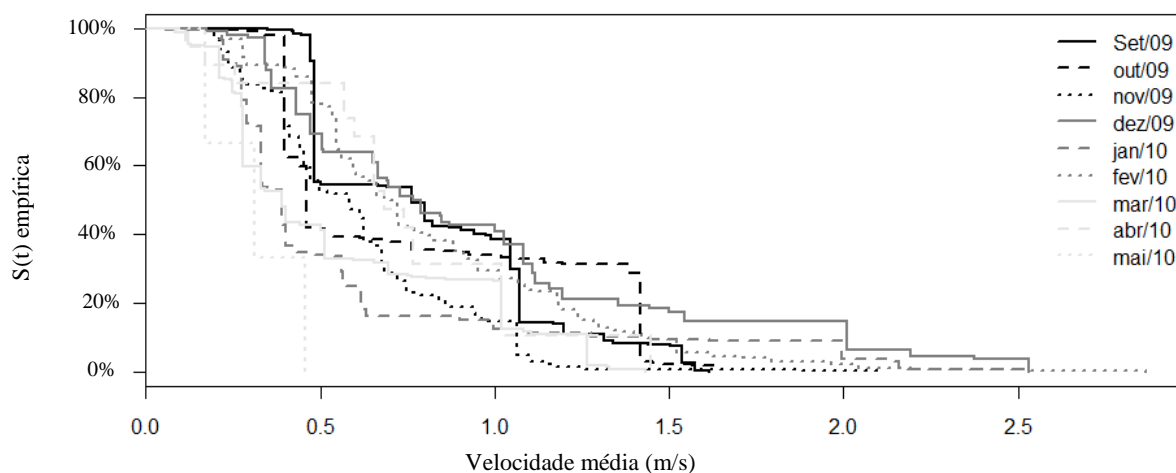


Figura 5.26: Função de sobrevivência empírica até que todos os mexilhões se soltem das placas à medida em que se aumenta a velocidade, por tempo de submersão.

A Figura 5.27 mostra as velocidades necessárias para soltura dos indivíduos entre as duas classes de tamanhos pré-estabelecidas ($G1 = 1,00$ a $15,99$ mm e $G2 = 16,00$ a $25,99$ mm). Inicialmente, estabeleceu-se uma terceira classe de tamanho, correspondente aos indivíduos de comprimento igual ou superior a $26,00$ mm. Entretanto, em todas as placas submetidas ao teste, houve apenas 1 indivíduo nesta classe, na placa 01, submersa no mês de setembro/2009, que foi desconsiderado estatisticamente. Percebe-se, pela curva, que não houve diferença estatística significativa entre as velocidades de soltura para cada um dos grupos, ou seja, a velocidade necessária para soltura não é influenciada pela classe de tamanho do mexilhão (pelo menos, em relação aos Grupos 1 e 2).

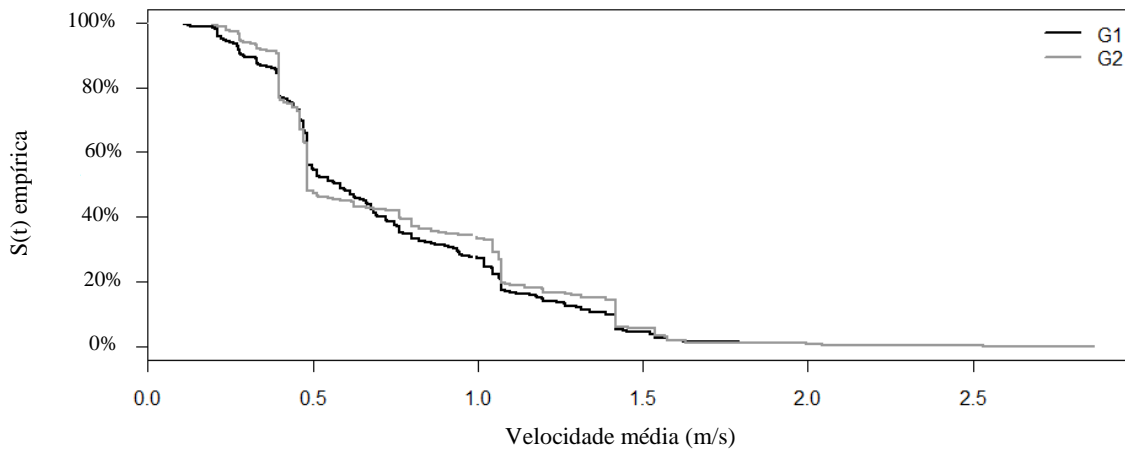


Figura 5.27: Função de sobrevivência empírica para a soldura de todos os mexilhões de acordo com o aumento da velocidade e o grupo de tamanho (G1 = até 15,99 mm; G2 = 16 a 25,99 mm).

A função de sobrevivência, considerando os tipos de placas submersas, pintadas e sem pintura, mostrou um distanciamento um pouco maior entre as curvas se comparado ao obtido para os grupos de tamanhos mas, mesmo assim, podem ser considerados semelhantes (Figura 5.28).

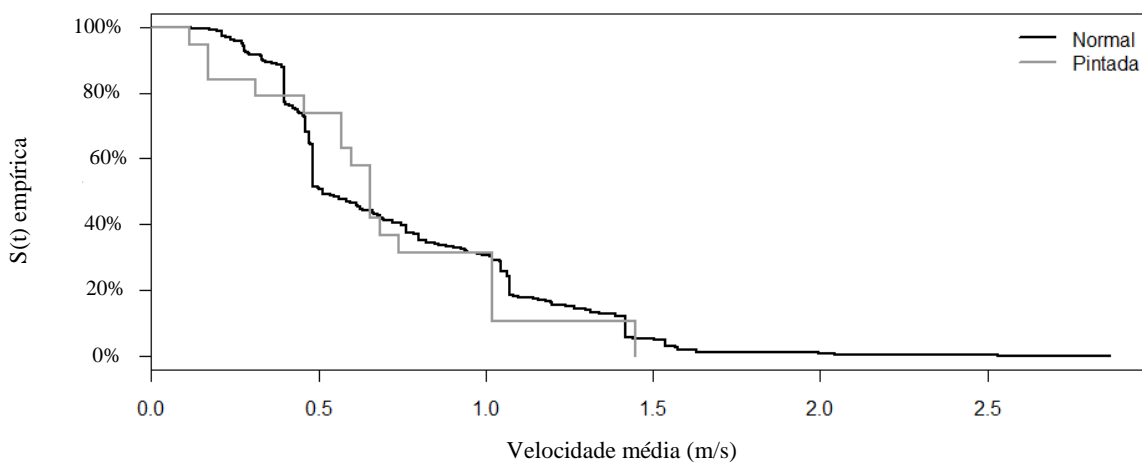


Figura 5.28: Função de sobrevivência empírica para a soldura de todos os mexilhões de acordo com o aumento da velocidade e o tipo de placa.

Para verificar a correlação entre todas as variáveis consideradas neste experimento, foi realizado o teste de Logrank para comparar as curvas de sobrevivência entre os meses, tipos de placa (pintadas e sem pintura) e grupos (G1 e G2) (Tabelas 5.48 e 5.49). Apesar da amostragem das placas pintadas ter sido pequena, como discutido anteriormente, estas placas foram acrescentadas nas análises para uma melhor visualização.

Percebe-se pela Tabela 5.48 que, sob uma análise geral, os meses de set/09, out/09, dez/09 e fev/2010 (sendo os tempos de submersão das placas, respectivamente, 13, 12, 10 e 8 meses) se diferem dos meses de nov/09, mar/10, abr/10 e maio/10 (sendo os tempos de submersão das placas, respectivamente, 11, 7, 6 e 5 meses), uma vez que o primeiro grupo apresenta as menores taxas de mexilhões soltos com o aumento da velocidade e o segundo grupo, as maiores taxas.

Tabela 5.48: Teste de Logrank comparando as curvas de sobrevivência entre os meses.

Comparações meses				p-valor	Comparações meses				p-valor
set/09	x	out/09		0,7986	nov/09	x	mar/10		0,5146
set/09	x	nov/09		0,0002	nov/09	x	abr/10		0,9970
set/09	x	dez/09		0,4735	nov/09	x	mai/10		0,0076
set/09	x	jan/10		0,6623	dez/09	x	jan/10		0,1783
set/09	x	fev/10		0,2878	dez/09	x	fev/10		0,9667
set/09	x	mar/10		0,0000	dez/09	x	mar/10		0,0004
set/09	x	abr/10		0,0114	dez/09	x	abr/10		0,0537
set/09	x	mai/10		0,0000	dez/09	x	mai/10		0,0000
out/09	x	nov/09		0,0117	jan/10	x	fev/10		0,2514
out/09	x	dez/09		0,2989	jan/10	x	mar/10		0,0416
out/09	x	jan/10		0,9975	jan/10	x	abr/10		0,6479
out/09	x	fev/10		0,1859	jan/10	x	mai/10		0,0447
out/09	x	mar/10		0,0009	fev/10	x	mar/10		0,0000
out/09	x	abr/10		0,0997	fev/10	x	abr/10		0,0304
out/09	x	mai/10		0,0003	fev/10	x	mai/10		0,0000
nov/09	x	dez/09		0,0011	mar/10	x	abr/10		0,4168
nov/09	x	jan/10		0,1366	mar/10	x	mai/10		0,1617
nov/09	x	fev/10		0,0000	abr/10	x	mai/10		0,0176

O teste de Logrank confirmou a inexistência de diferença significativa para as curvas de sobrevivência entre os tipos de placas e entre os grupos (Tabela 5.49).

Tabela 5.49: Teste de Logrank comparando as curvas de sobrevivência entre os tipos de placas (Sem pintura e Pintada) e grupos (G1 e G2).

Comparações Tipo de placa			p-valor
Sem pintura	x	Pintada	0,0635
Comparações Grupos			p-valor
G1	x	G3	0,1650

Direcionando para a modelagem estatística, com o intuito de estabelecer a curva de sobrevivência dadas as covariáveis de interesse, foi verificado qual das três principais distribuições utilizadas em análise de sobrevivência, exponencial, Weibull e Log-Normal, se aproximava mais da função de sobrevivência empírica. Percebeu-se que tanto a Log-Normal quanto a Weibull se ajustavam bem aos dados. Sendo que, nos valores altos de sobrevivência a Log-Normal apresentou melhor ajuste, enquanto nos valores baixos, a distribuição Weibull foi melhor (Figura 5.29). Dessa forma, optou-se pela distribuição de Weibull, uma vez já ter sido empregada no teste de exposição do mexilhão dourado ao látex de *E. splendens* var. *hislopii*, neste trabalho.

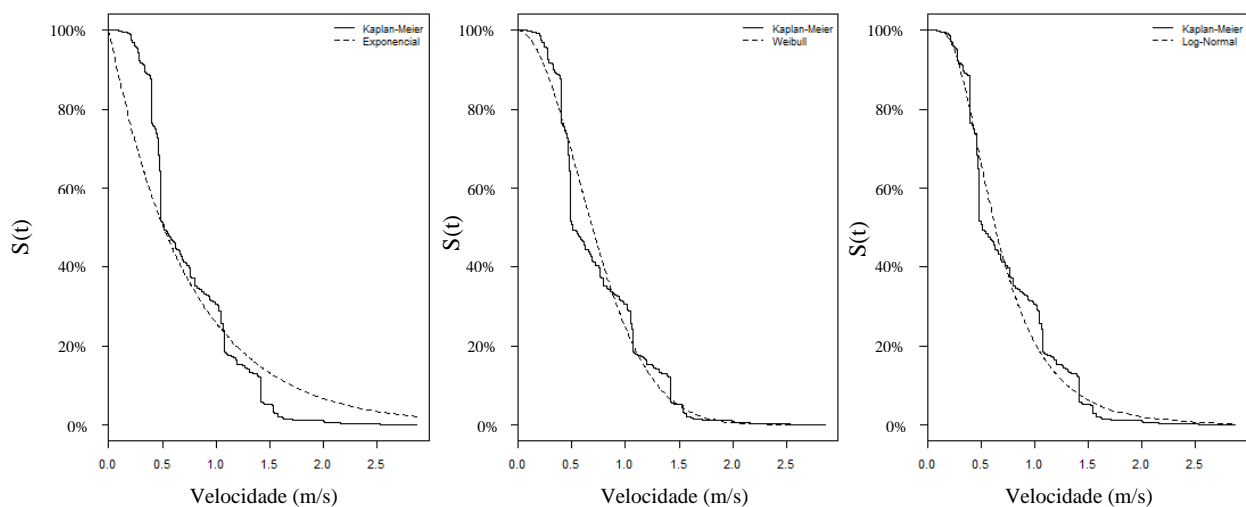


Figura 5.29: Curvas de sobrevivência estimadas pelos modelos Exponencial, Weibull e Log-Normal vs curva de sobrevivência empírica.

Utilizando o modelo de Weibull para a modelagem estatística, obtiveram-se as Tabelas 5.50 e 5.51.

Tabela 5.50: Modelo de Weibull para a velocidade de soltura de todos os mexilhões das placas considerando todas covariáveis envolvidas (tempo, tipo de placa e grupo). β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial de β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Modelo de sobrevivência Weibull				$\exp(\beta)$	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-0,125	0,018	-7,113	0,000*	-	-	-
out/09	0,021	0,021	0,979	0,327	1,021	0,979	1,065
nov/09	-0,272	0,025	-10,941	0,000*	0,762	0,726	0,800
dez/09	0,249	0,051	4,887	0,000*	1,282	1,161	1,417
jan/10	-0,114	0,037	-3,060	0,002*	0,892	0,829	0,960
fev/10	0,056	0,036	1,553	0,120	1,057	0,986	1,134
mar/10	-0,277	0,034	-8,239	0,000*	0,758	0,710	0,810
abr/10	-0,317	0,294	-1,076	0,282	0,729	0,409	1,297
mai/10	-1,254	0,435	-2,884	0,004*	0,285	0,122	0,669
Placa pintada	0,283	0,320	0,884	0,377	1,327	0,708	2,486
Grupo 2	-0,004	0,017	-0,240	0,810	0,996	0,963	1,030

Scale = 0,509

Tabela 5.51: Modelo de Weibull para a velocidade de soltura de todos os mexilhões das placas considerando apenas as covariáveis significativas. β = valor do coeficiente; E.P = erro padrão relacionado a estimativa do coeficiente; Wald = estatística de teste; $\exp(\beta)$ = exponencial β ; I.C = intervalo de confiança; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95% para o estimador da razão de chance. * = diferença significativa entre as médias de mortes.

Fonte	Modelo de sobrevivência Weibull				$\exp(\beta)$	I.C - 95%	
	β	E.P	Wald	p-valor		L.I	L.S
Intercepto	-0,128	0,014	-9,261	0,000*	-	-	-
out/09	0,021	0,021	0,980	0,327	1,021	0,979	1,065
nov/09	-0,271	0,024	-11,116	0,000*	0,763	0,727	0,800
dez/09	0,249	0,051	4,889	0,000*	1,282	1,161	1,417
jan/10	-0,114	0,037	-3,053	0,002*	0,892	0,829	0,960
fev/10	0,057	0,035	1,635	0,102	1,059	0,989	1,134
mar/10	-0,275	0,033	-8,379	0,000*	0,759	0,712	0,810
abr/10	-0,067	0,118	-0,571	0,568	0,935	0,743	1,177
mai/10	-0,970	0,294	-3,296	0,001*	0,379	0,213	0,675

Scale = 0,509

Verificou-se nas Tabelas 5.50 e 5.51 que apenas os meses, ou seja, o tempo de submersão, foram significativamente importantes para explicar a variação nas velocidades, ou seja, de maneira geral, indivíduos incrustados por mais tempo requerem velocidades maiores de soltura.

As placas mais antigas apresentaram maior quantidade de indivíduos fixados que as placas mais recentes. Uryu *et al.* (1996) verificaram que indivíduos aglomerados produzem maior quantidade de bisso que indivíduos isolados. Segundo Nagaya *et al.* (2001), a produção bissogênica de um único indivíduo pode chegar a 109 filamentos. Vivendo aglomerados e uns sobre os outros, apesar de não ter sido possível contabilizar os filamentos de bisso de cada mexilhão solto, a quantidade de bisso presente para a fixação de todos estes indivíduos foi maior nas placas mais antigas (ver fotos das placas no Apêndice I). Conseqüentemente, a velocidade necessária para soltá-los foi maior. Entretanto, algumas discussões para este fato podem ser levantadas.

Segundo Clarke & MacMahon (1996), a produção de bisso varia em relação à temperatura. Estes autores verificaram que a produção de bisso em *D. polymorpha* aumenta proporcionalmente ao aumento da temperatura, ocorrendo a menor taxa de produção a 5°C e a maior, a 30°C. Entretanto, estes dados foram obtidos no hemisfério norte onde as estações do ano são bem definidas. No caso do reservatório de Itaipu, os dados de temperaturas referentes ao período de submersão das placas (setembro de 2009 a agosto de 2010) não apresentam grandes variações, sendo a temperatura mínima registrada 22,5°C e a máxima, 29,6°C (Figura 5.30).

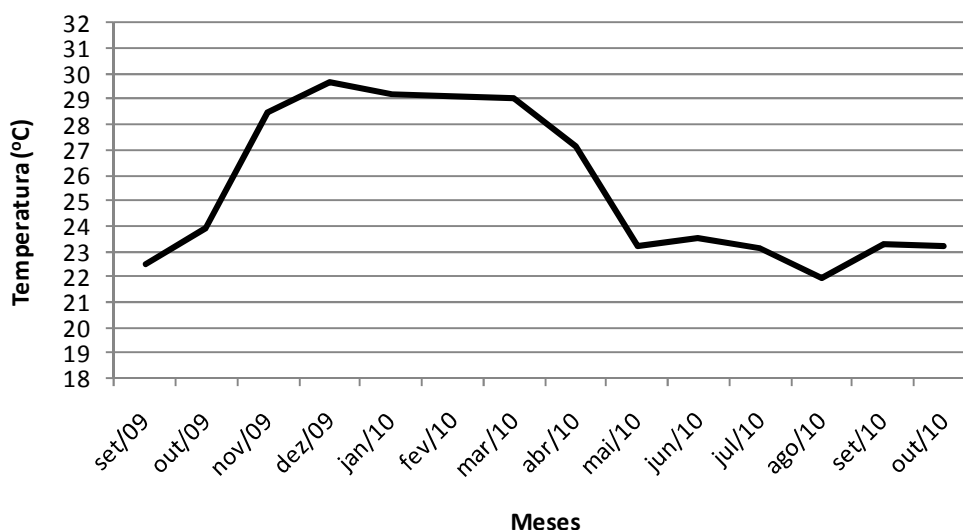


Figura 5.30: Temperaturas médias da água obtidas no local onde as placas foram submersas durante os meses de setembro de 2009 a outubro de 2010.

Fonte: dados cedidos por Itaipu Binacional em março de 2011.

Apesar desta variação ser relativamente pequena, talvez seja o suficiente para alterar a taxa de produção de bisso. Moeser & Carrington (2006) observaram força de adesão do bisso diferenciada de acordo com a estação do ano, mas justificam o fato afirmando que há diferenciação da qualidade/composição do bisso e não, que estivesse ocorrendo maior produção em determinada época. Estes autores reportaram que, para ensaios nos EUA, na primavera, os filamentos de bisso produzidos foram 60% mais fortes e 83% mais extensíveis em relação às demais estações.

Os maiores valores de velocidade foram obtidos durante os meses de setembro, outubro, dezembro de 2009 e fevereiro de 2010. Este período coincide com a elevação da temperatura mostrada na Figura 5.30. Os meses de março, abril e maio de 2010, que apresentaram as menores velocidades de soltura, correspondem ao período de declínio da temperatura (Figura 5.30). Portanto, devido à maior produção ou à alteração da composição do bisso parece estar a temperatura influenciando no processo de adesão. Porém, estudos posteriores deverão verificar a influência da temperatura, em campo, sobre a força/produção do bisso para *L. fortunei*.

Contrariamente, Rajagopal *et al.* (1996) reportaram diminuição da produção de bisso quando espécimes de *D. polymorpha* eram expostos a temperaturas superiores a 20°C e inferiores a 10°C. Entretanto, estes autores verificaram que existe relação entre a produção de bisso e

salinidade do meio: a produção não é alterada quando submetidos a concentrações salinas de até 3 ppt, mas reduzida quando a concentração supera este valor. Pesquisas futuras poderão fazer correlações entre possíveis variações de salinidade e outros parâmetros físicos e químicos (por exemplo, oxigênio dissolvido, pH, turbidez) do meio aquático ao longo do ano com a força/produção/composição de bisso de *L. fortunei*.

A faixa média de velocidade obtida para soltura da maioria dos mexilhões (0,5 a 1,4 m/s) neste trabalho coincide com os valores reportados na literatura para a faixa de velocidade máxima em que as larvas e indivíduos jovens se fixam (até 2,0 m/s) (MACKIE & CLAUDI, 2010). Entretanto, no presente trabalho, houve apenas 1 caso em que a velocidade empregada foi de 2,87 m/s. De acordo com os dados obtidos, sugere-se que, para evitar a incrustação e para promover a limpeza de locais já infestados, quando possível, sejam utilizadas velocidades de fluxo de água acima de 3 m/s.

A maior densidade populacional registrada neste trabalho para as placas testadas foi de 37.250 indivíduos/m² (596 indivíduos em uma área de 0,016 m²). Essa densidade é pouco mais que o dobro da registrada em Itaipu para o ano de 2009 (17.000 indivíduos/m² – dados fornecidos por Itaipu Binacional em 2010). Entretanto, a área de amostragem é muito pequena (considerando a placa) e não representativa do reservatório como um todo, uma vez que as placas foram fixadas em um único ponto, em uma mesma profundidade. Segundo Mansur *et al.* (2008), Iwasaki & Uryu (1998) e Nadaffi *et al.* (2010), a população de mexilhões pode se diferenciar em relação à densidade, crescimento e reprodução em locais próximos de amostragem, uma vez que são influenciadas pelas características singulares do ambiente, tanto físico-químicas (por exemplo, profundidade e luminosidade) quanto ecológicas (como predação e presença de locais para incrustação).

Apesar desta alta densidade populacional em algumas placas, a maioria apresentou poucos mexilhões incrustados. Talvez um fato que tenha contribuído para isto foi a utilização de chapas de aço carbono como corpos de prova. Faria *et al.* (2006) também encontraram baixa quantidade de mexilhões incrustados em substratos de aço carbono quando comparada às quantidades encontradas em outros tipos de materiais como aço inoxidável, PVC e alumínio, por exemplo. Estes autores afirmam que a baixa força de desligamento do bisso de indivíduos já incrustados e a baixa porcentagem de organismos que se fixam a este tipo de substrato pode ser devido à forte oxidação que esse material sofre, quando em contato com a água, sendo que

os produtos dessa reação são fracamente ligados ao substrato de aço. Esse processo de oxidação acelerada sofrida pelo aço quando em contato com água foi também observada neste experimento como pode ser visualizado nas fotos das placas de prova (Apêndice I). É interessante observar que este processo realmente pode influenciar na facilidade de soltura dos indivíduos fixados. A primeira placa, submersa em setembro/2009, que seria submetida ao teste, foi recusada porque, com o manuseio para ser colocada no aparato, soltou a camada superficial com todos os mexilhões aderidos (Figura 5.31).



Figura 5.31: Processo de oxidação em placa de aço carbono com 13 meses de submersão.

Fotos: Daniel Coscarelli.

O fato das velocidades de soltura não serem influenciadas pelo tamanho dos mexilhões (G1 e G2) neste trabalho contradiz o afirmado por Mackie & Claudi (2010) para *D. polymorpha*, onde a produção de bisso é proporcional ao tamanho da concha, sendo (Equação 5.2) ($R^2 = 0,984$):

$$NF = -8,59 + 19,26 (L) \quad (5.2)$$

Na qual:

NF = número de filamentos

L = comprimento da concha (mm)

Isso porque, sendo a produção de bisso maior em indivíduos maiores, conseqüentemente a velocidade de soltura destes após fixados seria maior que a velocidade necessária para a soltura de indivíduos menores, com uma menor quantidade de filamentos fixos (NAGAYA *et*

al. 2001) (Figura 5.32). Entretanto, neste trabalho, a relação de tamanho vs velocidade não foi observada.

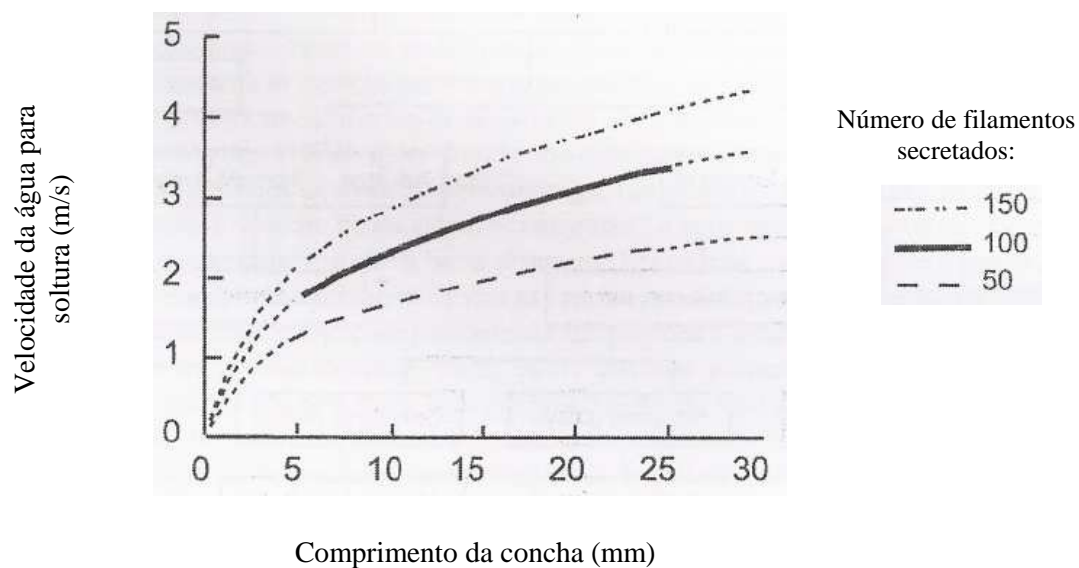


Figura 5.32: Velocidade (m/s) de fluxo de água necessária para a soltura de *Limnoperna fortunei* em relação ao comprimento da concha (mm) e quantidade de filamentos secretados.

Fonte: modificado de Nagaya *et al.* (2001).

Portanto, conhecimentos em relação aos mecanismos de fixação e às forças que suportam as fibras protéicas do bisso são muito importantes para o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de prevenção e controle do *macrofouling* (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2006).

6. CONCLUSÕES

6.1. **Levantamento da perda de carga provocada pela infestação de *Limnoperna fortunei***

A evolução da infestação de *Limnoperna fortunei* em sistemas de bombeamento e adução gera redução significativa da vazão em razão do rápido e progressivo aumento da perda de carga. Os acréscimos nas perdas de carga são resultantes do aumento da rugosidade e da perda de seção útil devido à infestação. Sendo assim, as perdas de carga podem ser:

- 0,5 a 3 vezes superiores àquelas obtidas nos tubos sem infestação, para o cenário de infestação na densidade de 0,5 indivíduo/cm²;
- 10 a 90 vezes superiores àquelas obtidas nos tubos sem infestação, para o cenário de infestação na densidade de 1,0 indivíduo/cm².

Os tubos infestados em taxas de 0,5 ind./cm² e 1,0 ind./cm² passam a ter capacidades de escoamento que correspondem, respectivamente, a cerca de 60% e 20% da vazão original.

6.2. **Avaliação do látex de *E. splendens* var. *hislop* como moluscicida para o mexilhão dourado**

O látex de *E. splendens* não foi tóxico para *L. fortunei* para um período de exposição de 24 horas em concentrações que variaram de 0,1 a 1000 ppm (solução mãe), não sendo possível calcular a CL50.

Em relação ao experimento de exposição ao látex por 10 dias, observa-se que as variáveis “Concentração”, “Grupo” e “Temperatura” foram significativas no experimento. Observou-se que, a cada 10 unidades acrescidas na concentração de látex, o tempo mediano até a morte de todos os indivíduos diminuiu em 0,952 vezes. O Grupo 3 não diferiu significativamente do Grupo 1 (p-valor = 0,0993), mas o Grupo 2, sim (p-valor = 0,0293), sendo que o tempo médio para a mortalidade de todos os indivíduos do Grupo 2 foi 0,86 vezes menor em relação ao tempo do Grupo 1.

Tanto no experimento de exposição por 24 quanto 240 horas observou-se que, em temperaturas mais altas, as taxas de mortalidade foram maiores. A temperatura parece

influenciar na toxicidade do látex. A 20°C, o tempo médio para a mortalidade de todos os indivíduos da unidade amostral foi 0,69 vezes menor em relação à 18°C. Na temperatura de 22°C, o tempo mediano até a morte de todos os indivíduos foi metade do tempo mediano na temperatura de 18°C.

O mexilhão dourado comporta-se de forma idêntica tanto em água destilada quanto água desclorada devido à sua alta capacidade de osmorregulação. Portanto, ambas podem ser utilizadas em experimentos laboratoriais sem influenciar o comportamento de *L. fortunei*.

Nos testes de ecotoxicidade, os valores obtidos de CE50 para *D. laevis*, *D. similis* e *C. silvestrii* foram, respectivamente, 4,91 mg/l, 12,17 mg/l e 3,16 mg/l. Estes resultados mostram que a utilização do látex, em campo, nas concentrações testadas para *L. fortunei* neste trabalho, pode afetar espécies não alvo em ambientes aquáticos.

A utilização do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* como substância moluscicida a ser empregada no campo para *Limnoperna fortunei* não é viável, devido às doses letais para esta espécie (superiores a 1000 mg/l) serem muito altas, ultrapassando os valores preconizados pela Organização Mundial de Saúde. Ainda, com os resultados obtidos nos testes de ecotoxicidade, conclui-se que a utilização desta substância em campo, nas concentrações testadas, afetaria espécies não alvo.

6.3. Avaliação do efeito de pressão sobre o mexilhão dourado

A exposição de *L. fortunei* a diferentes pressões (até 130 mca) por curto tempo (5 minutos) não é uma solução eficaz para o controle desta espécie em plantas industriais. Isso porque os indivíduos são bastante tolerantes a esta variação assim como a altas velocidades de descompressão (130 mca/s).

6.4. Avaliação da velocidade da água para soltura do mexilhão dourado após fixação

As velocidades médias obtidas de soltura variaram entre 0,5 a 1,4 m/s. As maiores velocidades foram utilizadas nas placas submersas por mais tempo. Os indivíduos fixos nas placas mais recentes se soltaram em velocidades mais baixas. A velocidade necessária para a

soltura dos mexilhões, neste trabalho, está relacionada ao tempo de incrustação e não sofre influência do tamanho do indivíduo.

Apesar da velocidade média máxima ter sido 1,4 m/s, 1 indivíduo soltou-se a uma velocidade de 2,87m/s. Portanto, recomenda-se a utilização de velocidades de fluxo de água superiores a 3 m/s para a limpeza de locais infestados.

7. RECOMENDAÇÕES

Quanto ao impacto da infestação em condutos forçados por *L. fortunei*, em relação a eficiência hidráulica, fazem-se necessárias as seguintes recomendações:

- o monitoramento de vazões nas tubulações operando em ambientes colonizados ou com risco potencial de colonização, de forma a se identificar perdas de eficiência que justifiquem a parada dos sistemas para limpeza e desobstrução e;
- a realização de estudos detalhados sobre as tecnologias disponíveis para a desobstrução e limpeza de tubulações, relacionadas ao custo incremental de energia para sustentar os níveis de vazão requeridos em sistemas infestados.

Quanto ao emprego do látex para controle de *L. fortunei*, estudos posteriores poderão verificar a influência desta substância em alterações metabólicas/fisiológicas para esta espécie. Estes estudos deverão verificar a possibilidade destas alterações em concentrações inferiores às prejudiciais ao meio ambiente aquático.

Sabendo que a susceptibilidade a substâncias tóxicas por *L. fortunei* pode ser influenciada pela temperatura e que o período de coleta do látex também pode alterar sua atividade moluscicida, sugere-se a realização de novas pesquisas com o mexilhão dourado exposto a esta substância em estações diferentes do ano, utilizando látex de *Euphorbia splendens* também coletado em épocas e regiões diferentes.

Novos estudos devem ser realizados em relação à ecotoxicidade aguda e crônica do látex utilizando outras espécies de animais do ambiente aquático, como, por exemplo, outros moluscos e espécie bentônicas. Ainda, estudos com *Daphnia* spp. e *Ceriodaphnia* spp. devem ser repetidos, utilizando uma quantidade maior de amostras, com o objetivo de obter valores que possam ser padronizados para o emprego desta substância no ambiente.

Pesquisas futuras devem avaliar o efeito de pressões/descompressões em larvas de *L. fortunei* e avaliar o comportamento de indivíduos adultos quando submetidos a um tempo maior de pressurização.

Apesar de ser recomendado, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, uma velocidade de água de 3 m/s a fim de se retirar indivíduos incrustados, estudos posteriores deverão aprofundar nos mecanismos de produção de bisso e força de fixação do mexilhão dourado aos vários tipos de substratos. Estes estudos deverão buscar, em campo, quais os fatores que realmente influenciam nessa fixação. Isso para que técnicas de erradicação e controle, bem como alternativas na estruturação civil do empreendimento, possam ser aprimoradas e empregadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 12713* – Ecotoxicologia aquática: Toxicidade aguda: Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2009. 23 p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 13373* – Ecotoxicologia aquática: Toxicidade crônica: Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2006. 15p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 7183* – Relação do limite e relação de contratação dos solos. Rio de Janeiro: ABNT, 1982. 03 p.

ACKERMAN, J. D.; SIM, B.; NICHOLS, S. J.; CLAUDI, R. A review of the early life history of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*): comparisons with marine bivalves. *Can. J. Zool.*, v. 72, p. 1169 – 1179, 1994.

AGRESTI, A. *Categorical data analysis*. New York: Wiley, 2002. 710 p.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. 2 ed. São Carlos: RIMA, 2008. p. 117 – 152.

AVELAR, W. E. P.; MARTIM, S. L.; VIANNA, M. P. A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.*, v. 64, n. 4, p. 739 – 742, 2004.

BOLTOVSKOY, D.; CATALDO, D. H. Population dynamics of *Limnoperna fortunei*, an invasive fouling mollusc, in the lower Paraná River (Argentina). *Biofouling*, v. 14, n. 3, p. 255 – 263, 1999.

BRUGNOLI, E.; CLEMENTE, J.; BOCCARDI, L.; BORTHAGARAY, A.; SCARABINO, F. Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) distribution in the main hydrographical basins of Uruguay: update and predictions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 77, n. 2, p. 235 – 244, 2005.

CANTANHEDE, S. P.; MARQUES, A. M.; SILVA-SOUZA, N.; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. *Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosia*, v. 20, n. 2, p. 282 – 288, 2010.

CAPRARI, J. J.; LECOT, C. J. El control de bivalvos invasores *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em la central hidroeléctrica Yaciretá mediante pinturas. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE GESTIÓN AMBIENTAL E HIDROELECTRICIDADE, 2001, Campejo Hidroeléctrico de Salto Grande. *Actas...Salto Grande*: 2001.

CARLTON, J.; GELLER, J. Ecological Roulette: the global transport of nonindigenous marine organisms. *Science*, v. 261, p. 78 – 82, 1993.

CARLTON, J.T. Man's role in changing the face of the ocean: biological invasions and implications for conservation of nearshore environments. *Conservation Biology*, v.3, p. 265–273, 1989.

CATALDO, D.; BOLTOVSKOY, D. D.; MARINI, V. CORREA, N. *Limitantes de Limnoperna fortunei en la cuenca del Plata: la predación por peces*. In: Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay, 2002, Paysandu Uruguay.

- CATALDO, D.; BOLTOVSKOY, D. Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná river and the Río de la Plata estuary (Argentina). *Aquatic Ecology*, v. 34, p. 307 – 317, 2000.
- CATALDO, D.; BOLTOVSKOY, D.; POSE, M. Control del molusco incrustante *Limnoperna fortunei* mediante el agregado de moluscicidas al agua. In: TERCERA JORNADA SOBRE CONSERVACIÓN DE LA FAUNA ÍCTIA EN EL RÍO URUGUAY, 3., 2002, Paysandu Uruguay. *Proceedings...* Paysandu Uruguay: OCARU, 2002.
- CATALDO, D.; BOLTOVSKOY, D.; POSE, M. Toxicity of chlorine and three nonoxidizing molluscicides to the fouling pest mussel *Limnoperna fortunei*. *Journal of the American Water Works Association - AWWA*, v. 95, n.1, 2003.
- CHAPIN III, F. S.; ZAVALETA, E. S.; EVINER, V. T.; NAYLOR, R. L.; VITOUSEK, P. M.; REYNOLDS, H. L.; HOOPER, D. U.; LAVOREL, S.; SALA, O. E.; HOBBIE, S. E.; MACK, M. C.; DÍAZ, S. Consequences of changing biodiversity. *Nature*, v. 405, p. 234 – 242, 2000.
- CHU, S. P. The Influence of the Mineral Composition of the Medium on the Growth of Planktonic Algae: Part I. Methods and Culture Media. *Journal of Ecology*, v. 30, n. 2, p. 284 – 325, 1942.
- CLARKE, M.; McMAHON, R. F. Effects of temperature on byssal thread production by the freshwater mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas). *American Malacological Bulletin*, v. 13, p. 105 – 110, 1996.
- COLARES, E. R. C.; SUMINSKY, M.; BENDATI, M. M. A. Diagnóstico e controle do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei*, em sistemas de tratamento de água em Porto Alegre (RS/Brasil). In: SIMPÓSIO ÍTALO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, VI, 2002, Vitória. *Artigos...* Vitória: 2002.
- COLOSSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. *Análise de Sobrevivência Aplicada*. São Paulo: Edgard Blucher, 2006. 392 p.
- COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS, FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. *Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande*. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC, 2000. 141 p.
- COYNE, K. J.; QIN, X-XIA; WAITE, J. H. Extensible collagen in mussel byssus: a natural block copolymer. *Science Reports*, v. 277, p. 1830 – 1832, 1997.
- DAMBORENEA, C.; PENCHASZADEH, P. Características de la especie. In: DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. (Ed.) *Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano*. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2006. p. 53 – 68.
- DARRIGRAN, D. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasion*, v. 4, p. 145 – 156, 2002.
- DARRIGRAN, G. A.; COLAUTTI, D. C.; MAROÑAS, M. E. A potencial biocida for control of the golden mussel, *Limnoperna fortunei*. *Journal of Freshwater Ecology*, v. 22, n. 2, p. 359 – 360, 2007.
- DARRIGRAN, G. A.; COPPOLA, A. Los bivalves invasores del Río de La Plata. Su potencial uso como bioindicadores ambientales. *Tankay*, v. 1, p. 150 – 152, 1994.

- DARRIGRAN, G. A.; MAROÑAS, M. E.; COLAUTTI, D. C. (2001) “Primeras estimaciones de concentraciones letales de un biocida para el molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Mytilidae). In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE GESTIÓN AMBIENTAL E HIDROELECTRICIDADE, 2001, Campesino Hidroeléctrico de Salto Grande. *Actas...*Salto Grande: 2001.
- DARRIGRAN, G. A.; MARTIN, S. M.; GULLO, B.; ARMENDARIZ, L. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Rio de La Plata, Argentina. *Hidrobiologia*, v. 367, p. 223 – 230, 1998.
- DARRIGRAN, G. *Limnoperna fortunei* ¿Um problema para los sistemas naturales de agua dulce del Mercosur?. *Revista Museo*, n. 5, p. 85 – 86, 1995.
- DARRIGRAN, G. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasions*, v. 4, p. 145 – 156, 2002.
- DARRIGRAN, G. Prevención y control de bivalves de agua dulce – caso “Mejillón Dorado” em la Región Neotropical. In: NOGUERITA, M. G.; HENRY, R.; JORCIN, A. *Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata*. São Carlos: RiMa, 2005. Cap. 9.
- DARRIGRAN, G. Summary of the distribution and impact of the golden mussel in Argentina and neighboring countries. In: MACKIE, G. L.; CLAUDI, R. *Monitoring and control of macrofouling mollusks in fresh water systems*. Boca Raton: CRC Press, 2010. cap. 10, p. 389 – 396.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. *Bio-invasión del mejillón dorado em el continente americano*. La Plata: Universidade Nacional de La Plata, 2006. 226 p.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. Concentraciones letales de un biocida para adultos del molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Mytilidae). In: ACTAS SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE GESTIÓN AMBIENTAL E HIDROELECTRICIDAD, 2001, Salto Grande. *Proceedings...*Salto Grande, Argentina, 2001.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C.; PENCHASZADEH, P.; TARABORELLI, C. Reproductive stabilization of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia Mytilidae) after ten years of invasion in the Americas. *Journal of Shellfish Research*, v. 22, n. 1, p. 1 – 6, 2003
- DARRIGRAN, G.; DARRIGRAN, J. El mejillón dorado: una obstinada especie invasora. *Ciencia Hoy*, v. 11, n. 61, Febrero/ Marzo, 2001.
- DARRIGRAN, G.; de DRAGO, E. Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The Nautilus*, v. 114, n. 2, p. 69 – 73, 2000.
- DARRIGRAN, G.; PASTORINO, G. The recent introduction of a fresh-water asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South-America. *The Veliger*, v. 38, n. 2, p. 171-175, 1995.
- DEATON, L. E.; DERBY, J. G. S.; SUBHEDAR, N.; GREENBERG, M. J. Osmoregulation and salinity tolerance in two species of bivalve mollusk: *Limnoperna fortunei* and *Mytilopsis leucophaeta*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v. 133, p. 67 – 79, 1989.
- DINIZ, D. M. A.; COSCARELLI, D.; VIDIGAL, T. H. D. A.; MARTINEZ, C. B.; SIMEÃO, C. M. G.; GANDOLFI, S. M. Elaboração e construção de um laboratório para criação de

Limnoperna fortunei (Bivalvia, Mytilidae). In: XVIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 18., 2009, Campo Grande. *Abstracts...*Campo Grande: ABRH, 2009b.

DINIZ, D. M. A.; SIMEÃO, C. M. G.; MAGALHÃES, V. P. F.; GANDOLFI, S. M.; RESENDE, M. F.; MARTINEZ, C. B. Estimativa da redução do potencial energético decorrente da infestação de mexilhão dourado em plantas hidrelétricas. In: VII CONGRESSO LATINO-AMERICANO EM GERAÇÃO E TRANSMISSÃO DE ENERGIA ELÉTRICA, 8., 2009, Ubatuba. *Proceedings...*Guaratinguetá: FDCT, 2009a.

DINIZ, Denise Maciel de Almeida. *Avaliação da influência hidráulica da infestação do mexilhão dourado nas grades de tomadas d'água de usinas hidrelétricas*. 2010. 166 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. 2 ed. São Carlos: RIMA, 2008. p. 153 – 184.

DUKES, J. S.; MOONEY, H. A. Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology & Evolution*, v. 14, n., 4, p. 135 – 139, 1999.

ELLIOTT, P.; ALDRIDGE, D. C.; MOGGRIDGE, G. D.; CHIPPS, M. The increasing effects of zebra mussels on water installations in England. *Water and Environment Journal*, v. 19, p. 367 – 375, 2005.

FARIA, E. A.; BRANCO, J. R. T.; CAMPOS, M. C. S.; OLIVEIRA, M. D. ROLLA, M. E. Estudo das características antiincrustantes de materiais. *R. Esc. Minas, Ouro Preto*, v. 59, n. 2, p. 233 – 238, 2006.

FARNSWORTH, N. R.; HENDERSON, T. O.; SOEJARTO, D. D. Plants with potential molluscicidal activity. In: MOTT, K. E. *Plant Molluscides*. New York: UNDP/World Bank/WHO, 1987. p. 131 – 204.

FONSECA, Ana Lúcia. *A biologia das espécies Daphnia laevis, Ceriodaphnia dubia silvestris (Crustacea, Cladocera) e Poecilia reticulata (Pisces, Poeciliidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais*. 1991. 210 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1991.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. *Diretrizes para projetos físicos de unidades de controle de zoonoses e fatores biológicos de risco*. Brasília: FUNASA, 2003. 44 p.

FUSARI, L. M.; ROQUE, F. O.; HAMADA, N. Sponge-Dwelling Chironomids in the Upper Paraná River (Brazil): Little Known but Potentially Threatened Species. *Neotropical Entomology*, v. 37, n. 5, p. 522 – 527, 2008.

GARCÍA, M. L.; PROTOGINO, L. C. Invasive freshwater molluscs are consumed by native fishes in South America. *Journal of Applied Ichthyology*, v. 21, p. 34 – 38, 2005.

GREENBERG M. J.; SUBHEDAR N. K. Osmotic and ionic regulation in *Limnoperna fortunei*, a genuinely fresh-water mytilid bivalve from Southeast-Asia. *American Zoologist*, v. 22, n. 4, p. 979-979, 1982.

- HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Eficiência de desinfetantes na erradicação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos à superfície de bananas. *Fitopatologia brasileira*, v. 29, n. 1. p. 94 – 94, 2004.
- HARRINGTON, D. K.; BENSCHOTEN, J. E. V.; JENSEN, JAMES, N.; LEWIS, D. P.; NEUHAUSER, E. F. Combined use of heat and oxidants for controlling adult zebra mussels. *Wat. Res.*, v. 31, n. 11, p. 2783 – 2791, 1997.
- HENLEY, W. F.; ZIMMERMAN, L. L.; NEVES, R. J. Design and evaluation of recirculating water systems for maintenance and propagation of freshwater mussels. *North American Journal of Aquaculture*, v. 63, p. 144 – 155, 2001.
- HOLLANDER, M.; WOLFE, D. A. *Nonparametric Statistical Methods*. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1999. 787 p.
- HUBEL, I.; STAHNKE, L. F.; DEMENIGHI, J. S.; SILVA, J. A.; AMARAL, R. M. G. Primeiro registro do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Mytilidae) para a Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 10, n. 1, p. 77-79, 2008.
- IWASAKI, K.; URYU, Y. Life cycle of a freshwater mytilid mussel, *Limnoperna fortunei*, in Uji River, Kyoto. *Venus*, v. 57, n. 2, p. 105 – 113, 1998.
- JACONETTI, Patrícia Castilho Mamono. *Validação de ensaios ecotoxicológicos com organismos autóctones Daphnia laevis e Ceriodaphnia silvestrii*. 2005. 206 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear– Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- JAENISCH, F. R.; KUCHIISHI, S. S.; COLDEBELLA, A. Atividade antibacteriana de desinfetantes para uso na produção orgânica de aves. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 2, n. 2, p. 945 – 948, 2007.
- JØRGENSEN, C. B. Comparative studies on the function of gills in suspension feeding bivalves, with special reference to effects of serotonin. *Biol. Bull.*, v. 151, p. 331 – 343, 1976.
- JURBERG, P.; CABRAL-NETO, J. B.; SCHALL, V. T. Molluscicide activity of the “avelós” plant (*Euphorbia tirucalli* L.) on *Biomphalaria glabrata*, the mollusk vector of schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 80, p. 423 – 427, 1985.
- JURBERG, P.; VASCONCELLOS, M. C.; MENDES, N. M. Plantas empregadas como moluscidas: uma visão crítica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 84, p. 76 – 83, 1989.
- KAPLAN, E.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, v. 53, p. 457 – 481, 1958.
- KARATAYEV, A. Y.; BOLTOVSKOY, D.; PADILLA, D. K.; BURLAKOVA, L. E. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impact. *Journal of Shellfish Research*, v. 26, n. 1, p. 205 – 213, 2007.
- KOLAR, C. S.; LODGE, D. M. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 16, p. 199 – 204, 2001.
- KUO, Y. H. Plant molluscicide studies in the People’s Republic of China. In: MOTT, K. E. *Plant Molluscides*. New York: UNDP/World Bank/ WHO, 1987. p. 289 – 297.

- LEE, H. H.; LEMMA, A.; BENNETT, H. J. The use of endod (*Phytolacca dodecandra*) to control the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). In: NALEPA, T. F.; SCHLOESSER, D. W. *Zebra Mussels: Biology, Impacts, And Control*. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 643 – 655.
- LEMMA, A.; WOLDE-YOHANNES, L.; FRALEIGH, P. C.; KLERKS, P. L.; LEE, H. H. Endod is lethal to zebra mussels and inhibits their attachment. *Journal of Shellfish Research*, v. 10, p. 361 – 365, 1991.
- LIMA, MARIANA GOMES. *Análise fisiológica da ação do látex de Euphorbia splendens var. hislopii N. E. B (Euphorbiaceae) sobre Biomphalaria glabrata Say, 1818 (Pulmonata, Planorbidae) infectada por Schistosoma mansoni Sambon, 1907 (Trematoda, Scistosomatidae), associada ao tempo de degradação do látex*. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.
- LOURENÇO, S. O. Isolamento de Microalgas, Purificação e Medidas de Crescimento. In: LOURENÇO, S. O. *Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006. p. 260 – 274.
- LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. AC. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 97, p. 199 – 206, 2005.
- MACGINITIE, G. E. On the method of feeding of four pelecypods. *Biological Bulletin*, v. 80, p. 18 – 25, 1941.
- MACKIE, G. L.; CLAUDI, R. *Monitoring and control of macrofouling mollusks in fresh water systems*. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 508 p.
- MAGALHAES, Viviane Pinto Ferreira. *Metodologia para avaliação dos efeitos de pressão e turbulência em peixes*. 2009. 215 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- MAGARA, Y.; MATSUI, Y.; GOTO, Y.; YUASA, A. Invasion of the non-indigenous nuisance mussel, *Limnoperna fortunei*, into water supply facilities in Japan. *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, v. 50, n.3, p. 113 – 124, 2001.
- MANSUR, M. C. D.; FERNANDES, F. C.; COUTINHO, R.; LARSEN, K. T. S.; REBELLO, M. F. *Programa de Pesquisa para controle do mexilhão dourado (Limnoperna fortunei) na águas jurisdicionais brasileiras*. IEAPM: CNPq, 2008. 381 p. Relatório.
- MANSUR, M. C. D.; SANTOS, C. P.; DARRIGRAN, G.; HEYDRICH, I.; CALLIL, C. T.; CARDOSO, F. R. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 20, n. 1, p. 75 – 84, 2003.
- MANTEL, N. Evaluation of survival data and two new rank order statistic arising in its consideration. *Cancer Chemotherapy Reports*, v. 50, n. 3, p. 163-170, 1966.
- MCCULLAGH, P.; NELDER, J. A. *Generalized Linear Models*. 2 ed. London: Chapman and Hall, 1989. 511 p.

- McCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, PH.; DUNCAN, J.; CHRISTIE, J. D. Molluscicides in schistosomiasis control. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 5, p. 681 – 689, 1980.
- McNEELY, J. Invasive species: a costly catastrophe for native biodiversity. *Land use and water resources research*, v. 1, n. 2, p. 1 – 10, 2001.
- MELLO-SILVA, C. C.; VASCONCELLOS, M. C.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M. L. A. Physiological changes in *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (Pulmonata: Planorbidae) caused by sub-lethal concentrations of the latex of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N. E. B. (Euphorbiaceae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 1, p. 3 - 8, 2006.
- MELLO-SILVA, C. C.; VILAR, M. M.; BEZERRA, J. C. B.; VASCONCELLOS, M. C.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M. L. A. Reproductive activity alterations on the *Biomphalaria glabrata* exposed to *Euphorbia splendens* var. *hislopii* latex. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 6, p. 671 – 674, 2007.
- MELLO-SILVA, C. C.; VILAR, M. M.; VASCONCELLOS, M. C.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M. L. Carbohydrate metabolism alterations in *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni* and exposed to *Euphorbia splendens* var. *hislopii* latex. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 4, p. 000 - 000, 2010.
- MENDES, N. M.; BAPTISTA, D. F.; VASCONCELLOS, M. C.; SCHALL, V. T. Evaluation of the molluscicidal properties of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N. E. B.) (Euphorbiaceae) – 1. Experimental test in a lentic habitat. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, n. 1, p. 21 – 23, 1992.
- MEYHÖFER, E. Comparative pumping rates in suspension-feeding bivalves. *Marine Biology*, v. 85, p. 137 – 142, 1985.
- MOESER, G. M.; CARRINGTON, E. Seasonal variation in mussel byssal thread mechanics. *The Journal of Experimental Biology*, v. 209, p. 1996 – 2003, 2006.
- MOLINA, F. R.; PAGGI, J. C.; DEVERCELLI, M. Zooplanktophagy in the natural diet and selectivity of the invasive mollusk *Limnoperna fortunei*. *Biological Invasions*, v. 12, p. 1647 – 1659, 2010.
- MONTALTO, L.; de DRAGO, I. E. Tolerance to desiccation of an invasive mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae), under experimental conditions. *Hydrobiologia*, v. 498, p. 161 – 167, 2003.
- MORTON, B. Do the bivalvia demonstrate environment-specific sexual strategies – a Hong Kong model. *Journal of Zoology*, v. 223, parte 1, p. 131 – 142, 1991.
- MORTON, B. S.; AU, C. S.; LAM, W. W. The efficacy of chlorine in the control of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilidae) colonizing parts of Hong Kong's raw water supply system. *Journal of the Institution of Water Engineers and Scientists*, v. 30, p. 147 – 155, 1976.
- MORTON, B. Some aspects of the biology and functional morphology of the organs of feeding and digestion of *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Bivalvia: Mytilacea). *Malacologia*, v. 12, n. 2, p. 265 – 281, 1973.
- MOTT, K. E. *Plant Molluscides*. New York: UNDP/World Bank/ WHO, 1987. 326 p.

- NADAFFI, R.; PETTERSSON, K.; EKLOV, P. Predation and physical environment structure the density and population size structure of zebra mussels. *Journal of the North American Benthological Society*, v. 29, n. 2, p. 444 – 453, 2010.
- NAGAYA, K.; MATSUI, Y.; OHIRA, H.; YUASA, A.; YAMAMOTO, H.; OHKAWA, K.; MAGARA, Y. Attachment strenght of na adhesive nuisance mussel, *Limnoperna fortunei*, against water flow. *Biofouling*, v. 17, p. 263 – 274, 2001.
- NEWELL, R. I. E. Ecosystem influences of natural and cultivated populations of suspension-feeding bivalve molluscs: a review. *Journal of Shellfish Research*, v. 23, n. 1, p. 51 – 61, 2004.
- OKUMURA, Denise Tieme. *Estudos ecológicos e ecotoxicológicos de Melanoides tuberculata Müller, 1774 (Gastropoda, Thiaridae), espécie exótica para a região neotropical*. 2006. 159 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- OLIVEIRA, M. D. Ocorrência e impactos do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*). (Dunker, 1857) no Pantanal Mato-Grossense. *Circular Técnica 38* – Embrapa, 2003.
- OLIVEIRA, M. D.; PELLEGRIN, L. A.; BARRETO, R. R.; SANTOS, C. L.; XAVIER, I. G. Área de ocorrência do mexilhão-dourado na bacia do alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004. *Documento 64* – Embrapa, 2004.
- OLIVEIRA-FILHO, E. C.; DE-CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R. The influence of environmental factors on the molluscicidal activity of *Euphorbia milii* látex. *Journal of Environmental Science and Health*, v. B34, n. 2, p. 289 – 303, 1999.
- OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 46, p. 342 – 350, 2000.
- OPPERMANN, C. M.; PIRES, L. C. Manual de Biossegurança para Serviços de Saúde. Porto Alegre: PMPA/SMS/CGVS, 2003. 80 p.
- PASTORINO, G.; DARRIGRAN, G.; MARTIN, S.; LUNASCHI, L. *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en águas Del Rio de La Plata. *Neotropica*, v. 39, n. 101-102, p. 171 – 175, 1993.
- PATELLA, L.; BOEGER, W.; TORRES, R. A. Diferenciação das larvas de *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea* utilizando técnicas de RFLP. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, XXV, 2004, Universidade de Brasília. *Resumos...* Brasília, 2004.
- PENCHASZADEH, P. E.; DARRIGRAN, G.; ÂNGULO, C.; AVERBUJ, A.; BROGGER, M.; DOGLIOTTI, A.; PÍREZ, N. Predation of the invasive freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae) by the fish *Leporinus obtusidens* Valenciennes, 1846 (Anostomidae) in the Rio de La Plata, Argentina. *Journal of Shellfish Research*, v. 19, n. 1, p. 229 – 231, 2000.
- PESSOA, C.; LAPA, R. Bioinstalações. In: VALLE, S.; TELLES, J. L. *Bioética & Biorrisco*. Rio de Janeiro: Interciência, p. 229 – 252, 2003.

- PIMENTEL, D.; ZUNIGA, R.; MORRISON, D. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, v. 52, p. 273 – 288, 2005.
- PINHEIRO, L.; CORTEZ, A. G.; VIDOTTI, G. J.; YOUNG, M. C. M.; FERREIRA, A. G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). *Quimica Nova (Quim. Nova)*, v. 26, n. 2, p. 157 – 160, 2003.
- QUAGLIA, F; LATTUADA, L; MANTECCDA, P; BACCHETTA, R. Zebra mussels in Italy: where do they come from? *Biological Invasions*, v. 10, p. 555-560, 2008.
- R Development Core Team: software livre. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2009. ISBN: 3-900051-07-0. Disponível em <<http://www.R-project.org>>. Acesso em julho de 2010.
- RAJAGOPAL, S.; VELDE, G. van der.; GAAG, M. van der; JENNER, H. A. How effective is intermittent chlorination to control adult mussel fouling in cooling water systems? *Water Research*, v. 37, p. 329 – 338, 2003a.
- RAJAGOPAL, S.; VELDE, G. van der.; GAAG, M. van der; JENNER, H. A. Byssal detachment underestimates tolerance of mussels to toxic compounds. *Marine Pollution Bulletin*, v. 50, p. 20 – 29, p. 2005.
- RAJAGOPAL, S.; VELDE, G. van der.; JENNER, H. A. Effects of low-level chlorination on zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Water Research*, v. 36, p. 3029 – 3034, 2002.
- RAJAGOPAL, S.; VELDE, G. van der.; JENNER, H. A.; GAAG, M. van der; KEMPERS, A. J. Effects of temperature, salinity and agitation on byssus thread formation of zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Ecology*, v. 30, p. 187 – 195, 1996.
- RAJAGOPAL, S.; VENUGOPALAN, V. P.; VELDE, G. van der.; JENNER, H. A. Tolerance of five species of tropical marine mussels to continuous chlorination. *Marine Environmental Research*, v. 55, p. 277 – 291, 2003b.
- RESENDE, M. R. *Variação das características hidráulicas em condutos forçados devido à infestação pelo Limnoperna fortunei*. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- RICCIARDI, A. Global range expansion of the asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): another fouling threat to freshwater systems. *Biofouling*, v. 13, n. 2, p. 97 – 106, 1998.
- RICCIARDI, A. *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): The Next Macrofouling Mussel to Invade North America?. In: Sixth International Zebra Mussel and Other Aquatic Nuisance Species Conference – Dearborn, Michigan, 1996.
- RICCIARDI, A. Predicting the impacts of an introduced specie from its invasion history: an empirical approach applied to zebra mussel invasions. *Freshwater Biology*, v. 48, p. 972 – 981, 2003.
- RICCIARDI, A. Predicting the impacts of an introduced species from its invasion history: an empirical approach applied to zebra mussel invasions. *Freshwater Biology*, v. 48, p. 972 – 981, 2003.

- RODHOUSE, P. G. An improved method for measuring volume of bivalves. *Aquaculture*, v. 11, p. 279 – 280, 1977.
- ROLLA, M. E.; MOTA, H. R. Response of a major Brazilian utility to the golden mussel invasion. In: MACKIE, G. L.; CLAUDI, R. *Monitoring and control of macrofouling mollusks in fresh water systems*. Boca Raton: CRC Press, 2010. cap. 10, p. 396 – 403.
- SANTOS, A. F.; AZEVEDO, D. P. L.; MATA, R. C. S.; MENDONÇA, D. I. M. D.; SANT'ANA, A. E. G. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 135 – 139, 2007.
- SARQUIS, O.; PIERI, O. SANTOS, J. A. A. Effects of Bayluscide WP 70® on the survival and water leaving behaviour of *Biomphalaria straminea*, snail host of schistosomiasis in northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 5, p. 619 – 623, 1997.
- SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; VILLAÇA-COELHO, A. L.; FERREIRA-LOPES, F. E.; SILVA, I. P. Evaluation of temporal, seasonal and geographic stability of the molluscicidal property of *Euphorbia splendens* látex. *Revista do Instituto Médico Tropical de São Paulo (Ver. Inst. Med. Trop. São Paulo)*, v. 34, p. 183 – 191, 1992.
- SCHLIEPER, C. High pressure effects on marine invertebrates and fishes. *Marine Biology*, v. 2, p. 5 – 12, 1968.
- SCHREIBER, G. P. *Usinas Hidrelétricas*. São Paulo: Edgard Blucher, 1977. 238 p.
- SILVA, Débora Pestana. *Aspectos bioecológicos do mexilhão dourado Limnoperna fortunei (Bivalvia, Mytilidae) (Dunker, 1857)*. 2006. 138 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Pós Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- SILVA, J. S. V.; FERNANDES, F. C.; SOUZA, R. C. C. L.; LARSEN, K. T. S.; DANELON, O. M. Água de lastro e bioinvasão. In: SILVA, J. S. V.; SOUZA, R. C. C. L. *Água de Lastro e Bioinvasão*. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. p. 1 – 10.
- SILVA, J. S. V.; SOUZA, R. C. C. L. *Água de Lastro e Bioinvasão*. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. 224 p.
- SIMEÃO, C. M. G.; MARTINEZ, C. B.; FORMAGIO, P. S. *Limnoperna fortunei*: situação atual e perspectivas futuras. In: Simpósio Brasileiro sobre Pequenas e Médias Centrais Hidrelétricas, V, 2006, Florianópolis. *Proceedings...* Florianópolis: CBDB, 2006.
- SINGH, A.; SINGH, S. K. Molluscicidal evaluation of three common plants from India. *Fitoterapia*, v. 76, p. 747 – 751, 2005.
- SYLVESTER, F.; BOLTOVSKOY, D.; CATALDO, D. H. The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* promotes growth of benthic invertebrates in South American floodplain Rivers. *Hydrobiologia*, v. 589, p. 15 – 27, 2007.
- SYLVESTER, F.; DORADO, J.; BOLTOVSKOY, D.; JUARÉZ, A.; CATALDO, D. Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of size and temperature. *Hydrobiologia*, v. 534, p. 71 – 80, 2005.
- TAKEDA, A. M.; MANSUR, M. C. D.; FUJITA, D. S. Ocorrência de moluscos bivalves em diferentes reservatórios. In: RODRIGUES, L.; THOMAZ, S. M.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. *Biocenose em Reservatórios: padrões espaciais e temporais*. São Carlos: RiMa, 2005. cap. 13. p. 161 – 167.

- TSVETKOV, V. I.; PAVLOV, D. S.; NEZDOLIJ, V. K. Changes of hydrostatic pressure lethal to the young of some freshwater fish. *Journal of Ichthyology*, v. 12, p. 307-318, 1972.
- URYU, Y.; IWASAKI, K.; HINOUE, M. Laboratory experiments on behavior and movement of a freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker). *Journal of Molluscan Studies*, v. 62, p. 327 – 341, 1996.
- VASCONCELLOS, M. C.; AMORIM, A. Activity of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N. E. B. (Euphorbiaceae) latex against *Lymanaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae). 2. Limited field-testing. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, p. 981 – 985, 2003a.
- VASCONCELLOS, M. C.; AMORIM, A. Molluscicidal action of the latex of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N. E. B. (“Christ’s Crown”) (Euphorbiaceae) against *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematode: Fasciolidae). 1 – Test in Laboratory. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 4, p. 557 – 563, 2003b.
- VASCONCELLOS, M. C.; SCHALL, V. T. Latex of “coroa de cristo” (*Euphorbia splendens*): an effective molluscicide. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 81, n. 4, p. 475 – 476, 1986.
- VASCONCELLOS, Maurício Carvalho de. *Controle de Lymnaea columella (Say; 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae); hospedeiro intermediário de Fasciola hepatica Linnaeus; 1758 (Trematoda: Fasciolidae), com o látex de Euphorbia splendens var. hislopii N.E.B. (Euphorbiaceae) no vale do Paraíba/SP*. 2000. 171 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.
- VILLAR, C.; STRIPEIKIS, J.; D’HUICQUE, L.; TUDINO, M.; TROCCOLI, O.; BONETTO, C. Cd, Cu and Zn concentrations in sediments and invasive bivalves *Limnoperna fortunei* and *Corbicula fluminea* at the Río de la Plata basin, Argentina. *Hydrobiologia*, v. 416, p. 41 – 49, 1999.
- von RÜKERT, G.; CAMPOS, M. C. S.; ROLLA, M. E. Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 26, n. 4, p. 421 – 429, 2004.
- WALLER, D. L.; RACH, J. J.; COPE, W. G.; MARKING, L. L. Toxicity of candidate molluscicides to zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and selected nontarget organisms. *Journal of Great Lakes*, v. 19, n. 4, p. 695 – 702, 1993.
- WARD, J. E.; SANFORD, L. P.; NEWELL, R. I. E.; MACDONALD, B. A. A new explanation of particle capture in suspension-feeding bivalve molluscs. *Limnology and Oceanography*, v. 43, n. 5, 1998.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. *Bulletin of World Health Organization*, v. 33, n. 4, p. 567 – 581, 1965.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the scientific working group on plant molluscicide & guidelines for evaluation of plant molluscicides. *Geneva TDR/SC 4-SWE*, v. 4/83:3, 1983.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. 2 ed. São Carlos: RIMA, 2008. 472 p.

APÊNDICES

Apêndice I

Fotos das placas submersas.



Figura 1: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em setembro/2009. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.



Figura 2: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em outubro/2009. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

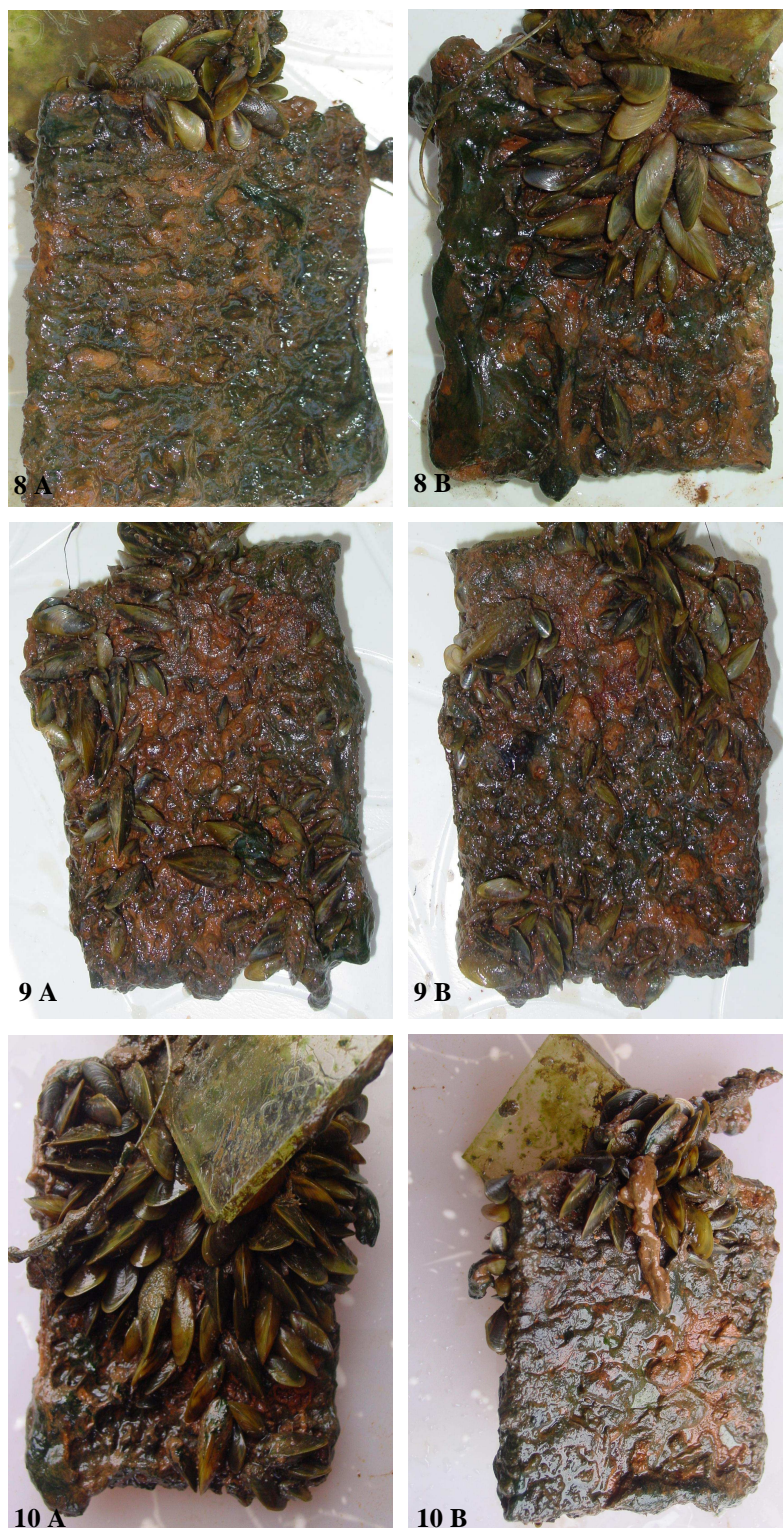


Figura 3: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em novembro/2009. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

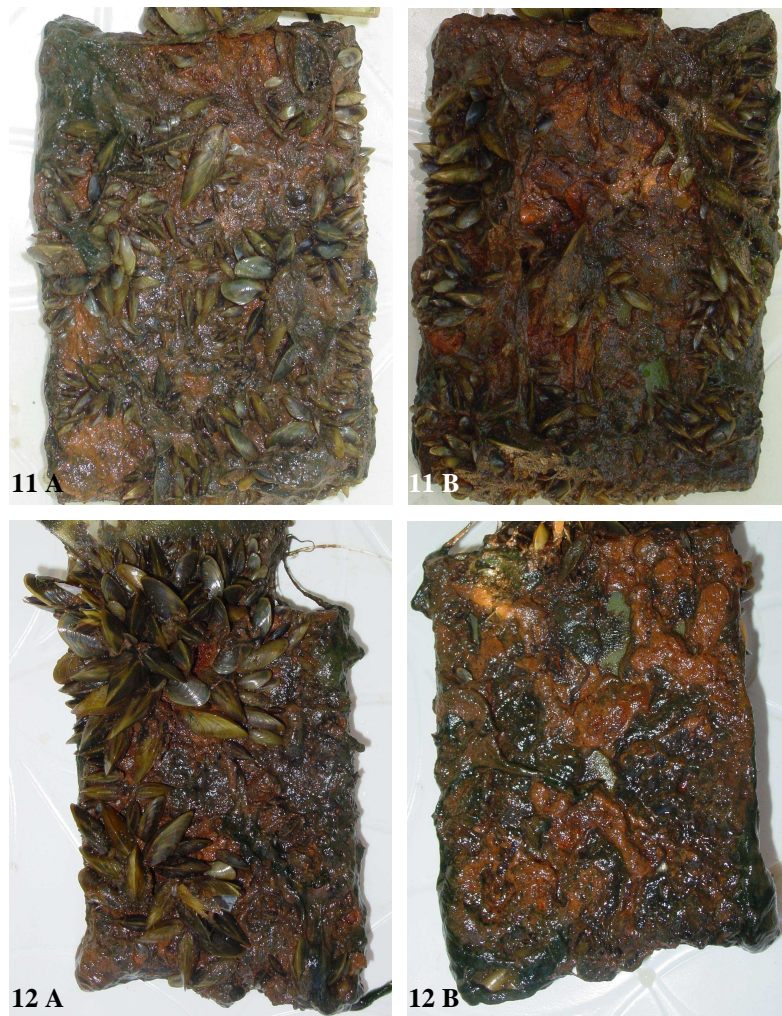


Figura 4: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em novembro/2009. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

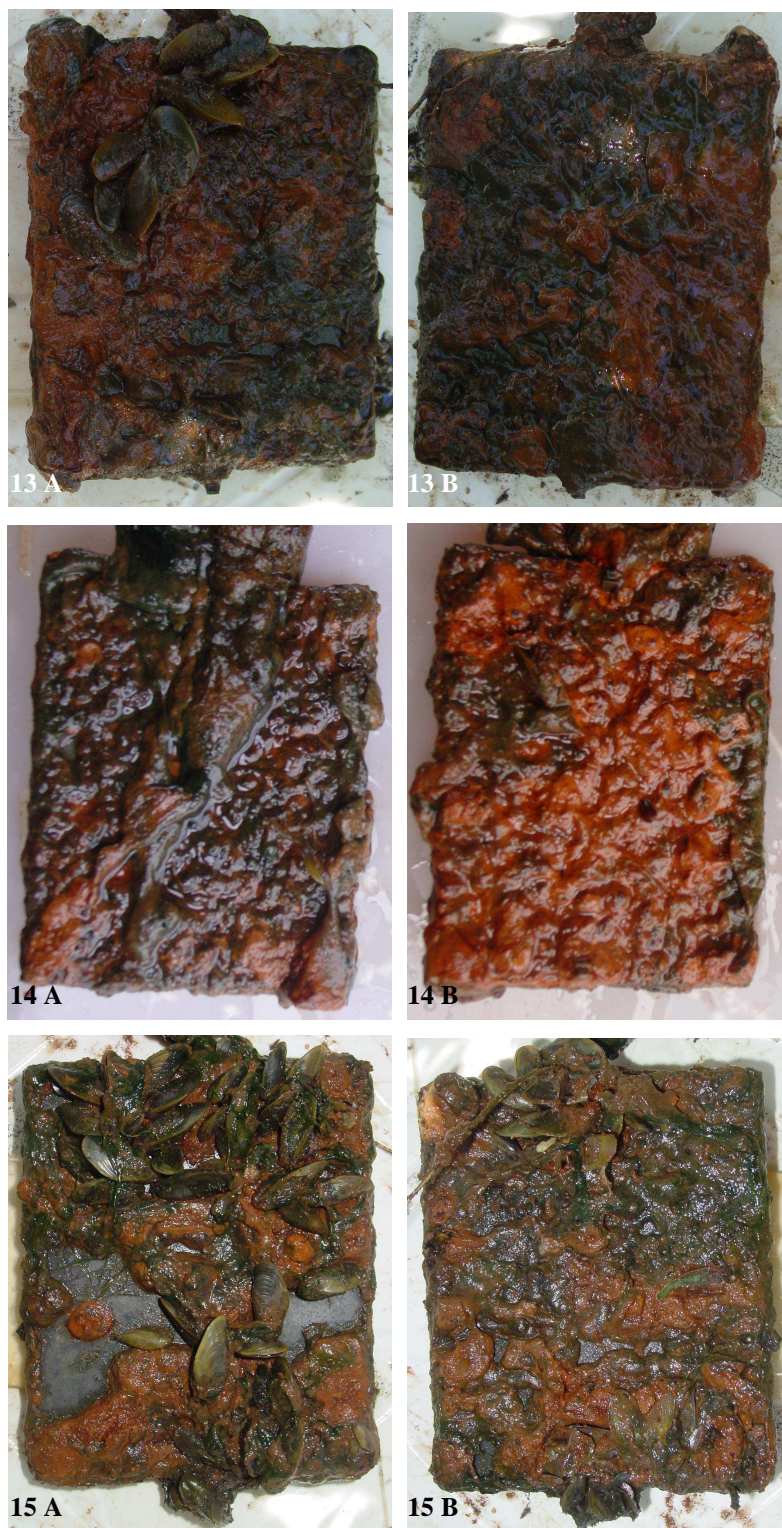


Figura 5: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em dezembro/2009. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

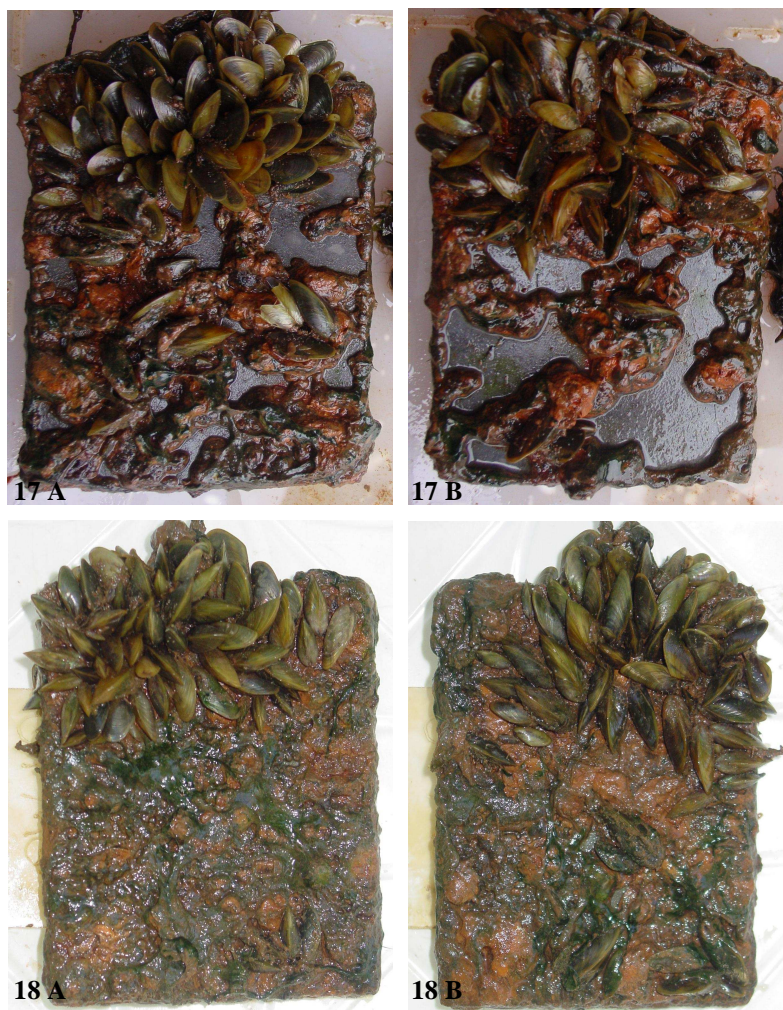


Figura 6: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em janeiro/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

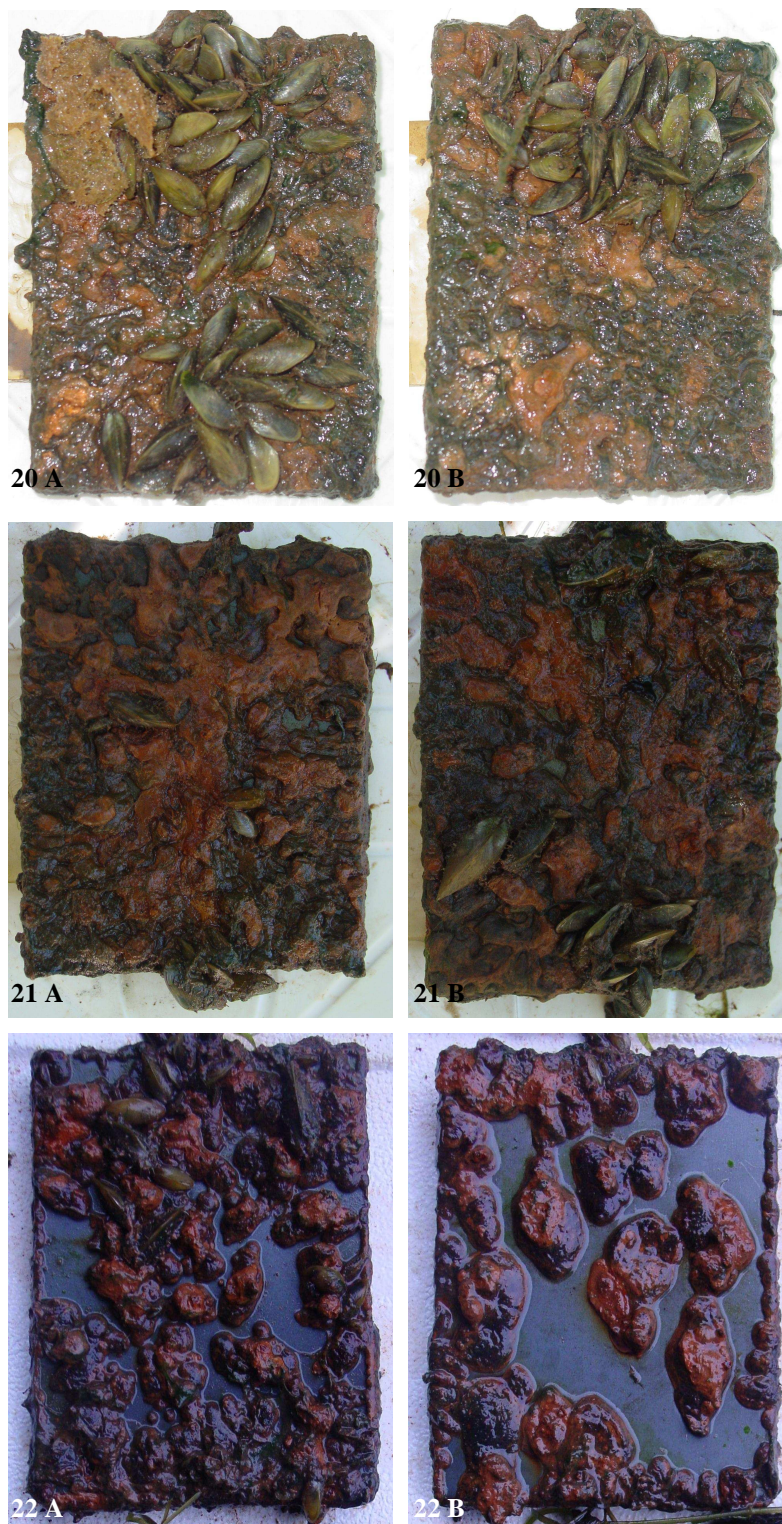


Figura 7: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em fevereiro/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.



Figura 8: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em fevereiro/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

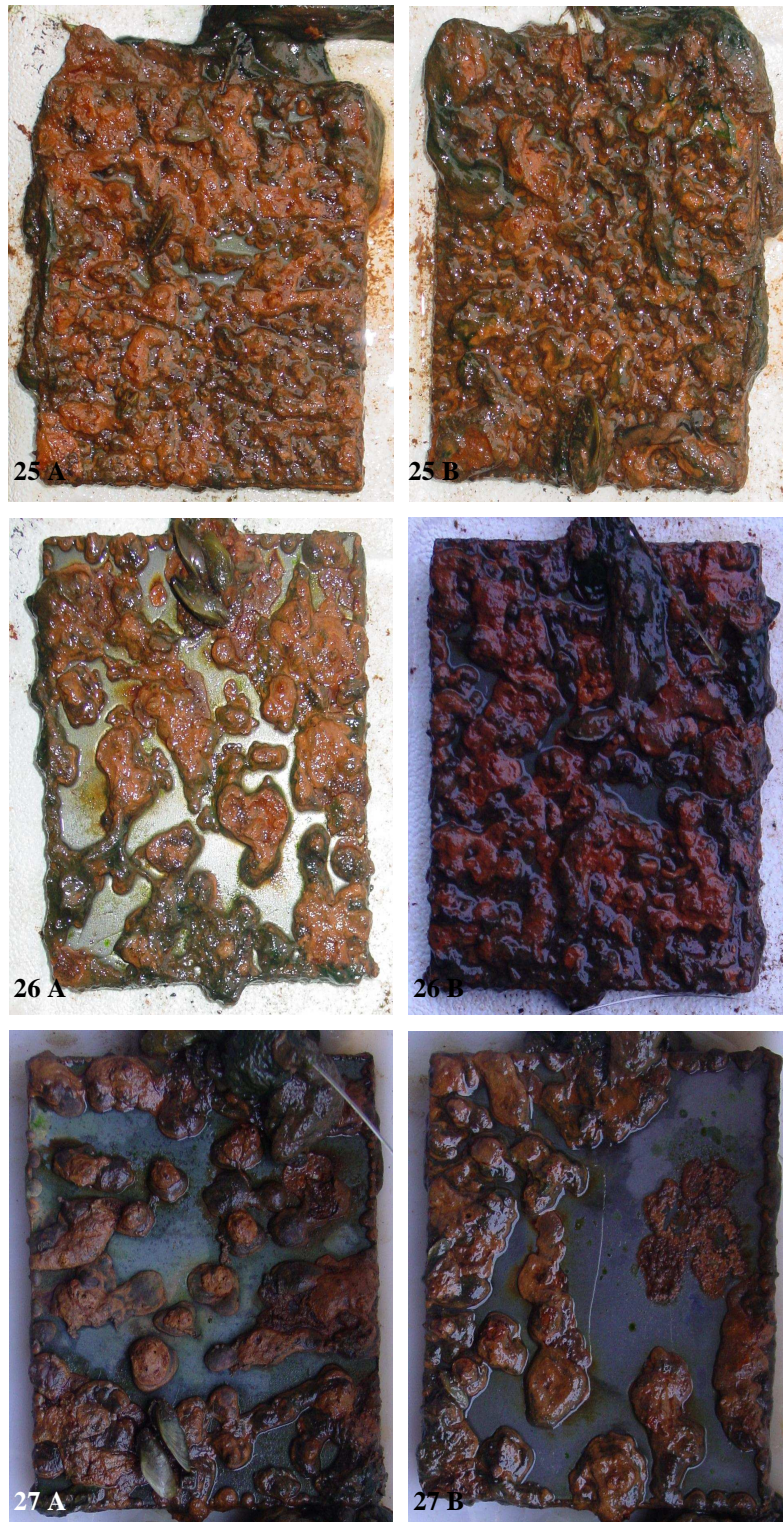


Figura 9: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em março/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

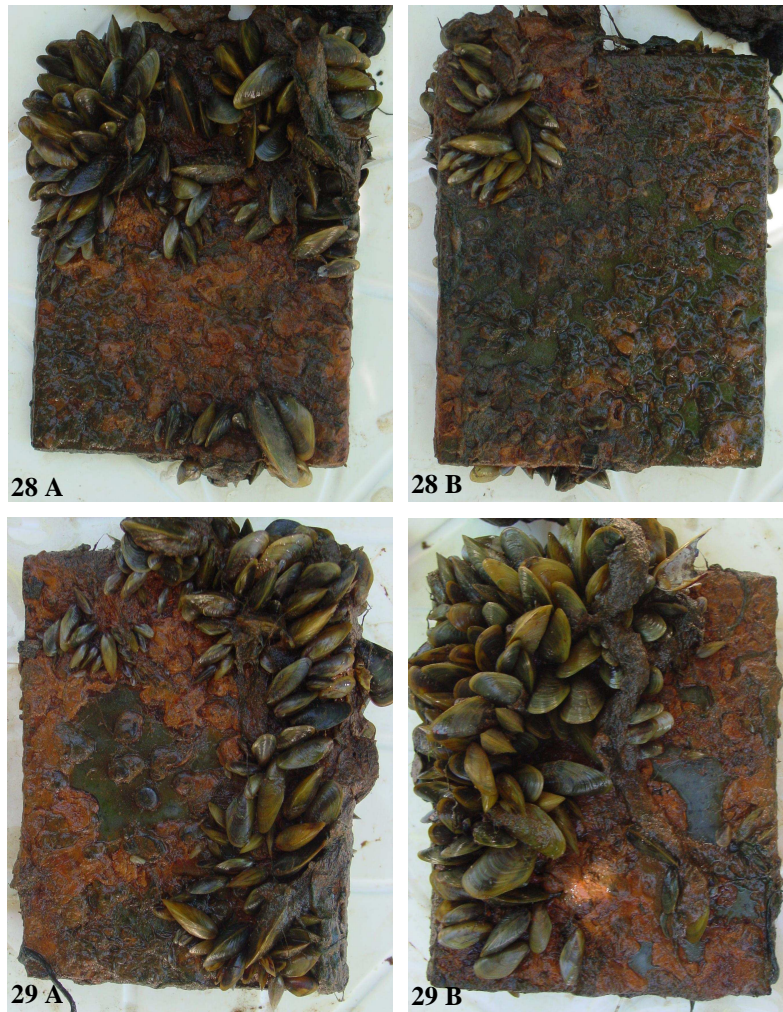


Figura 10: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em março/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

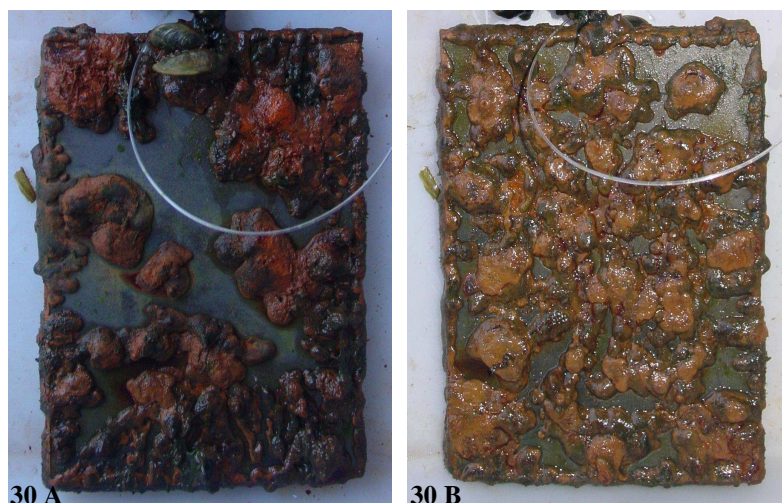


Figura 11: Fotos de placas (8 x 10 cm) ensaiadas submersas em abril/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

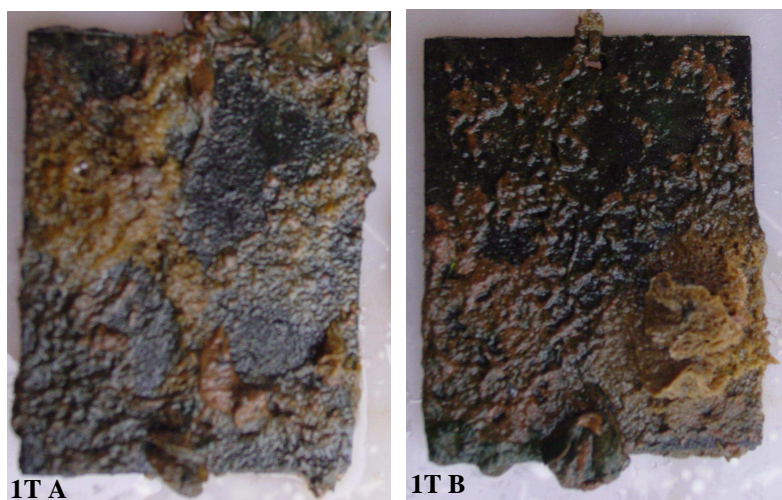


Figura 12: Fotos de placas (8 x 10 cm) pintadas ensaiadas submersas em abril/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.



Figura 13: Fotos de placas (8 x 10 cm) pintadas ensaiadas submersas em maio/2010. As letras A e B diferenciam os lados das placas.

Fotos: Daniel Coscarelli.

Apêndice II

Tabela 1: Velocidades médias empregadas e quantidade de mexilhões soltos, por grupo, em cada placa testada. G1: até 15.99 mm; G2: 16.00 a 25.99 mm; G3: acima de 26.00 mm.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Set/09	1	0,257	1	G2
		0,424	7	G1
		0,424	8	G2
		0,502	1	G1
		0,502	10	G2
		0,686	2	G2
		0,798	24	G1
		0,798	48	G2
		0,903	5	G1
		0,903	4	G2
		0,976	3	G1
		0,976	1	G2
		0,988	3	G1
		0,988	14	G2
		0,988	1	G3
		1,046	38	G1
		1,046	78	G2
		1,073	11	G1
		1,073	24	G2
1,073	58	G1		
1,073	124	G2		
Set/09	2	0,302	2	G1
		0,371	1	G1
		0,463	1	G1
		0,431	35	G1
		0,431	70	G2
		0,384	187	G1
		0,384	300	G2
Set/09	3	0,419	1	G1
		0,599	1	G1
		0,693	4	G1
		0,762	20	G1
		0,762	43	G2
		0,823	11	G1
		0,823	10	G2
		0,881	2	G1
		0,889	1	G1
		0,940	7	G1
		0,940	8	G2
1,051	1	G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Set/09	3	1,167	1	G1
		1,312	9	G1
		1,312	19	G2
		0,945	1	G1
		1,177	3	G1
		1,177	1	G2
		1,284	1	G1
		1,453	1	G2
		1,616	4	G1
		1,616	3	G2
Set/09	4	0,350	3	G1
		0,413	1	G1
		0,445	1	G1
		0,665	3	G1
		0,665	1	G2
		0,870	3	G1
		0,870	1	G2
		0,949	1	G1
		1,197	13	G1
		1,197	26	G2
		1,338	8	G1
		1,338	2	G2
		1,440	3	G1
		1,440	1	G2
		1,504	2	G1
		1,572	10	G1
		1,572	21	G2
		1,535	23	G1
1,535	46	G2		
Out/09	5	0,111	3	G1
		0,203	1	G1
		0,203	1	G2
		0,295	2	G1
		0,368	1	G1
		0,442	1	G1
		0,515	1	G1
		0,613	3	G1
		0,735	1	G1
		0,762	14	G1
		0,762	7	G2
		0,842	1	G1
		0,842	2	G2
0,912	1	G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
		0,912	2	G2
		1,018	6	G1
		1,260	2	G1
		1,260	1	G2
		1,389	11	G1
		1,389	12	G2
Out/09	5	1,450	3	G1
		1,455	1	G1
		1,455	3	G2
		1,630	5	G1
		1,630	12	G2
		1,566	3	G1
		1,566	3	G2
		1,416	85	G1
		1,416	170	G2
		0,376	2	G1
		0,477	4	G1
		0,635	1	G1
		0,692	8	G1
		0,805	2	G1
Out/09	6	0,925	8	G1
		0,925	1	G2
		1,042	4	G1
		1,143	2	G1
		1,143	9	G2
		1,194	1	G1
		1,194	2	G2
		0,325	5	G1
		0,325	9	G2
		0,437	8	G1
		0,437	17	G2
Out/09	7	0,398	112	G1
		0,398	234	G2
		0,461	56	G1
		0,461	118	G2
		0,512	8	G1
		0,512	16	G2
		0,108	3	G1
		0,204	1	G1
		0,252	1	G1
Nov/09	8	0,359	5	G1
		0,456	4	G1
		0,493	1	G1
		0,522	3	G1
		0,774	3	G1

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Nov/09	8	0,975	4	G1
		0,975	1	G2
		1,064	18	G1
		1,064	44	G2
Nov/09	9	0,210	21	G1
		0,242	1	G1
		0,270	18	G1
		0,270	1	G2
		0,338	3	G1
		0,471	23	G1
		0,471	2	G2
		0,530	1	G1
		0,583	29	G1
		0,583	1	G2
		0,643	3	G1
		0,660	6	G1
		0,660	2	G2
		0,665	7	G1
		0,722	15	G1
		0,785	3	G1
		0,841	6	G1
		0,889	1	G1
		0,889	1	G2
		0,946	9	G1
		1,046	1	G1
		1,096	4	G1
		1,096	7	G2
		1,115	1	G1
		1,169	3	G1
		1,169	2	G2
		1,315	2	G1
		0,685	16	G1
		0,685	3	G2
		0,939	12	G1
		1,156	4	G1
		1,156	1	G2
1,252	3	G1		
1,859	2	G1		
2,110	2	G1		
Nov/09	10	0,230	4	G1
		0,329	4	G1
		0,376	3	G1
		0,398	21	G1

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Nov/09	10	0,398	43	G2
		0,455	13	G1
		0,455	23	G2
Nov/09	11	0,439	3	G1
		0,439	1	G2
		0,500	3	G1
		0,626	13	G1
Nov/09	12	0,626	26	G2
		0,195	5	G1
		0,195	9	G2
		0,238	10	G1
		0,238	20	G2
		0,283	4	G1
		0,283	6	G2
		0,412	6	G1
		0,412	12	G2
		0,442	15	G1
		0,497	15	G1
		0,749	19	G1
		0,860	4	G1
		0,860	10	G2
0,615	16	G1		
0,615	1	G2		
Dez/09	13	0,678	25	G1
		0,766	2	G1
		0,292	1	G2
		0,359	1	G1
		0,359	5	G2
		0,697	2	G2
		0,870	1	G2
		1,027	3	G1
		1,027	1	G2
		1,115	3	G1
		1,156	1	G1
		1,156	1	G2
		1,196	3	G1
1,356	2	G1		
1,442	1	G1		
1,499	1	G2		
1,543	3	G2		
2,011	2	G1		
2,011	7	G2		
2,193	1	G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Dez/09	13	2,193	1	G2
		2,375	1	G2
		2,530	2	G1
		2,530	2	G2
Dez/09	14	0,847	1	G1
		0,847	1	G2
		0,509	1	G1
		0,845	1	G2
Dez/09	15	0,176	1	G2
		0,234	1	G2
		0,342	3	G1
		0,342	5	G2
		0,431	4	G1
		0,431	4	G2
		0,473	2	G1
		0,473	2	G2
		0,505	2	G1
		0,505	3	G2
		0,652	2	G1
		0,652	1	G2
		0,690	1	G1
		0,727	3	G1
		1,002	2	G2
		1,083	2	G1
		1,083	4	G2
		0,471	2	G1
0,664	3	G1		
0,664	2	G2		
0,766	1	G2		
Dez/09	16	0,344	1	G1
		0,344	1	G2
		0,790	4	G2
		1,107	3	G2
Jan/10	17	0,058	1	G2
		0,174	1	G1
		0,203	2	G1
		0,260	4	G1
		0,375	2	G1
		0,462	1	G1
		0,519	1	G1
		0,901	2	G1
		0,901	1	G2
1,996	7	G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Jan/10	17	1,996	5	G2
		2,124	1	G2
		2,159	1	G1
		2,159	4	G2
		2,530	1	G1
		2,530	1	G2
Jan/10	18	0,223	11	G1
		0,223	1	G2
		0,276	8	G1
		0,276	14	G2
		0,288	5	G1
		0,288	10	G2
		0,330	10	G1
		0,330	20	G2
		0,424	4	G1
		0,564	5	G1
		0,564	4	G2
		0,627	1	G1
		1,276	1	G1
		1,276	1	G2
		1,276	1	G1
		Jan/10	19	0,218
0,218	1			G2
0,300	1			G1
0,335	4			G1
0,335	5			G2
0,390	8			G1
0,390	14			G2
0,561	3			G1
0,561	7			G2
0,616	5			G1
0,616	9			G2
0,631	4			G1
0,400	5			G1
0,400	9			G2
0,998	2			G1
0,998	4			G2
1,095	2	G1		
1,448	1	G1		
1,616	1	G2		
Fev/10	20	0,173	1	G1
		0,288	1	G1
		0,403	1	G1
		0,517	1	G2

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Fev/10	20	0,804	2	G1
		1,090	1	G1
		1,238	4	G1
		1,299	3	G1
		1,299	1	G2
		1,329	2	G1
		0,771	1	G1
		0,942	1	G1
		1,069	2	G1
		1,282	1	G2
		1,367	1	G1
		1,452	1	G1
		1,622	1	G1
		1,792	1	G1
		1,188	1	G1
		1,522	3	G1
		2,200	1	G1
		2,535	1	G1
		2,867	1	G2
Fev/10	21	0,120	1	G1
		0,209	2	G1
		0,209	1	G2
		0,283	2	G1
		0,387	2	G1
		0,535	1	G1
		0,654	1	G1
		0,773	1	G1
		0,772	1	G1
		0,891	1	G1
		1,067	3	G1
		1,183	4	G1
		1,183	2	G2
		1,239	3	G1
		0,546	19	G1
		0,546	4	G2
		0,603	3	G1
		0,662	7	G1
		0,662	3	G2
		0,686	3	G1
0,720	8	G1		
0,720	8	G2		
0,825	2	G1		
0,825	1	G2		
0,883	1	G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo		
Fev/10	21	0,883	7	G2		
		0,920	4	G1		
		0,954	7	G1		
		1,087	2	G1		
		0,562	5	G1		
		0,562	2	G2		
		0,627	1	G1		
		0,741	1	G1		
		0,912	1	G1		
		1,178	7	G1		
		1,308	1	G1		
		1,421	2	G1		
		Fev/10	22	0,206	3	G1
0,277	5			G1		
0,277	8			G2		
0,430	2			G1		
0,430	2			G2		
0,476	6			G1		
0,476	13			G2		
0,500	1			G2		
0,535	3			G1		
0,535	4			G2		
0,594	8			G1		
0,594	2			G2		
Fev/10	23			0,287	2	G1
		0,287	1	G2		
		0,515	1	G1		
		0,629	2	G1		
		1,012	5	G1		
		1,012	1	G2		
		1,400	1	G1		
		1,400	1	G2		
		1,789	1	G1		
		2,043	2	G1		
		2,043	1	G2		
		Fev/10	24	0,430	1	G1
				0,726	2	G1
1,114	1			G1		
1,713	1			G1		
1,965	1			G1		
1,965	1			G2		
1,521	7			G1		
1,617	1			G1		
1,617	1			G2		
0,756	2			G1		

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Mar/10	25	0,129	2	G1
		0,341	2	G1
		0,596	1	G1
		0,256	1	G1
Mar/10	26	0,510	1	G1
		0,086	1	G1
		0,086	2	G2
Mar/10	27	0,655	2	G2
		1,081	2	G2
		0,171	1	G1
		0,228	1	G1
		0,210	14	G1
		0,246	1	G1
		0,274	11	G1
		0,331	17	G1
		0,331	2	G2
		0,390	13	G1
		0,390	1	G2
		0,442	1	G1
		0,442	1	G2
		0,500	4	G1
		0,694	10	G1
		Mar/10	28	0,752
0,763	1			G1
0,802	1			G1
0,860	2			G1
0,996	1			G1
1,264	17			G1
1,264	9			G2
1,319	2			G1
1,327	2			G1
1,433	2			G1
1,020	36			G1
1,020	5			G2
1,106	1			G1
1,106	1	G2		
Mar/10	29	0,121	10	G1
		0,211	4	G1
		0,211	8	G2
		0,247	4	G1
		0,247	6	G2
		0,279	17	G1
	0,279	34	G2	

Continua...

Continuação.

Mês de submersão	Identificação da placa	Velocidade média (m/s)	Quantidade de mexilhões soltos	Grupo
Mar/10	29	0,400	4	G1
		0,400	9	G2
		0,513	24	G1
Abr/10	30	0,257	1	G1
		0,766	1	G1
		0,766	1	G2
Abr/10	1T	0,115	1	G1
		0,569	1	G1
		0,569	1	G2
Abr/10	2 T	0,654	3	G1
		1,021	3	G1
		1,021	1	G2
Abr/10	3 T	1,446	2	G1
		0,171	1	G1
		0,683	1	G1
Mai/10	4 T	0,740	1	G1
		0,171	1	G1
		0,456	1	G1
		0,313	1	G2

Apêndice III

Tabela 1: Dados da função de sobrevivência empírica até que todos os mexilhões se soltem das placas à medida em que a velocidade aumenta. E. P. = erro padrão; L.I = Limite inferior do intervalo de confiança de 95%; L.S = Limite superior do intervalo de confiança de 95%.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,058	3898	1	0,9997	0,0003	0,9990	1,0000
0,086	3897	3	0,9990	0,0005	0,9980	1,0000
0,108	3894	3	0,9982	0,0007	0,9970	0,9995
0,111	3891	3	0,9974	0,0008	0,9960	0,9990
0,115	3888	1	0,9972	0,0009	0,9960	0,9988
0,12	3887	1	0,9969	0,0009	0,9950	0,9987
0,121	3886	10	0,9944	0,0012	0,9920	0,9967
0,129	3876	2	0,9938	0,0013	0,9910	0,9963
0,171	3874	3	0,9931	0,0013	0,9900	0,9957
0,173	3871	1	0,9928	0,0014	0,9900	0,9955
0,174	3870	1	0,9926	0,0014	0,9900	0,9953
0,176	3869	1	0,9923	0,0014	0,9900	0,9951
0,195	3868	14	0,9887	0,0017	0,9850	0,9920
0,203	3854	4	0,9877	0,0018	0,9840	0,9912
0,204	3850	1	0,9874	0,0018	0,9840	0,9909
0,206	3849	3	0,9867	0,0018	0,9830	0,9903
0,209	3846	3	0,9859	0,0019	0,9820	0,9896
0,21	3843	35	0,9769	0,0024	0,9720	0,9816
0,211	3808	12	0,9738	0,0026	0,9690	0,9789
0,218	3796	4	0,9728	0,0026	0,9680	0,9779
0,223	3792	12	0,9697	0,0027	0,9640	0,9751
0,228	3780	1	0,9695	0,0028	0,9640	0,9749
0,23	3779	4	0,9684	0,0028	0,9630	0,9740
0,234	3775	1	0,9682	0,0028	0,9630	0,9737
0,238	3774	30	0,9605	0,0031	0,9540	0,9666
0,242	3744	1	0,9602	0,0031	0,9540	0,9664
0,246	3743	1	0,9600	0,0031	0,9540	0,9662
0,247	3742	10	0,9574	0,0032	0,9510	0,9638
0,252	3732	1	0,9572	0,0032	0,9510	0,9635
0,256	3731	1	0,9569	0,0033	0,9510	0,9633
0,257	3730	2	0,9564	0,0033	0,9500	0,9628
0,26	3728	4	0,9554	0,0033	0,9490	0,9619

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,27	3724	19	0,9505	0,0035	0,9440	0,9573
0,274	3705	11	0,9477	0,0036	0,9410	0,9547
0,276	3694	22	0,9420	0,0037	0,9350	0,9494
0,277	3672	13	0,9387	0,0038	0,9310	0,9463
0,279	3659	51	0,9256	0,0042	0,9170	0,9339
0,283	3608	12	0,9225	0,0043	0,9140	0,9310
0,287	3596	3	0,9218	0,0043	0,9130	0,9302
0,288	3593	16	0,9177	0,0044	0,9090	0,9263
0,292	3577	1	0,9174	0,0044	0,9090	0,9261
0,295	3576	2	0,9169	0,0044	0,9080	0,9256
0,3	3574	1	0,9166	0,0044	0,9080	0,9253
0,302	3573	2	0,9161	0,0044	0,9070	0,9249
0,313	3571	1	0,9159	0,0044	0,9070	0,9246
0,325	3570	14	0,9123	0,0045	0,9030	0,9212
0,329	3556	4	0,9112	0,0046	0,9020	0,9202
0,33	3552	30	0,9035	0,0047	0,8940	0,9129
0,331	3522	19	0,8987	0,0048	0,8890	0,9082
0,335	3503	9	0,8964	0,0049	0,8870	0,9060
0,338	3494	3	0,8956	0,0049	0,8860	0,9052
0,341	3491	2	0,8951	0,0049	0,8860	0,9048
0,342	3489	8	0,8930	0,0050	0,8830	0,9028
0,344	3481	2	0,8925	0,0050	0,8830	0,9023
0,35	3479	3	0,8917	0,0050	0,8820	0,9016
0,359	3476	11	0,8889	0,0050	0,8790	0,8988
0,368	3465	1	0,8887	0,0050	0,8790	0,8986
0,371	3464	1	0,8884	0,0050	0,8790	0,8983
0,375	3463	2	0,8879	0,0051	0,8780	0,8979
0,376	3461	5	0,8866	0,0051	0,8770	0,8966
0,387	3456	2	0,8861	0,0051	0,8760	0,8961
0,39	3454	36	0,8769	0,0053	0,8670	0,8872
0,398	3418	410	0,7717	0,0067	0,7590	0,7850
0,4	3008	27	0,7648	0,0068	0,7520	0,7782
0,403	2981	1	0,7645	0,0068	0,7510	0,7779
0,412	2980	18	0,7599	0,0068	0,7470	0,7734
0,413	2962	1	0,7596	0,0068	0,7460	0,7732

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,419	2961	1	0,7594	0,0068	0,7460	0,7729
0,424	2960	19	0,7545	0,0069	0,7410	0,7681
0,43	2941	5	0,7532	0,0069	0,7400	0,7669
0,431	2936	8	0,7512	0,0069	0,7380	0,7649
0,437	2928	25	0,7447	0,0070	0,7310	0,7586
0,439	2903	4	0,7437	0,0070	0,7300	0,7576
0,442	2899	18	0,7391	0,0070	0,7250	0,7530
0,445	2881	1	0,7388	0,0070	0,7250	0,7528
0,455	2880	36	0,7296	0,0071	0,7160	0,7437
0,456	2844	5	0,7283	0,0071	0,7140	0,7424
0,461	2839	174	0,6837	0,0074	0,6690	0,6984
0,462	2665	1	0,6834	0,0075	0,6690	0,6982
0,463	2664	1	0,6832	0,0075	0,6690	0,6979
0,471	2663	132	0,6493	0,0076	0,6340	0,6645
0,473	2531	4	0,6483	0,0076	0,6330	0,6635
0,476	2527	19	0,6434	0,0077	0,6290	0,6586
0,477	2508	4	0,6424	0,0077	0,6280	0,6576
0,484	2504	487	0,5174	0,0080	0,5020	0,5334
0,493	2017	1	0,5172	0,0080	0,5020	0,5331
0,497	2016	15	0,5133	0,0080	0,4980	0,5293
0,5	2001	8	0,5113	0,0080	0,4960	0,5272
0,502	1993	11	0,5085	0,0080	0,4930	0,5244
0,505	1982	5	0,5072	0,0080	0,4920	0,5231
0,509	1977	1	0,5069	0,0080	0,4910	0,5229
0,51	1976	1	0,5067	0,0080	0,4910	0,5226
0,512	1975	24	0,5005	0,0080	0,4850	0,5165
0,513	1951	24	0,4944	0,0080	0,4790	0,5103
0,515	1927	2	0,4938	0,0080	0,4780	0,5098
0,517	1925	1	0,4936	0,0080	0,4780	0,5095
0,519	1924	1	0,4933	0,0080	0,4780	0,5093
0,522	1923	3	0,4926	0,0080	0,4770	0,5085
0,53	1920	1	0,4923	0,0080	0,4770	0,5083
0,535	1919	8	0,4903	0,0080	0,4750	0,5062
0,546	1911	23	0,4844	0,0080	0,4690	0,5003

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,561	1888	10	0,4818	0,0080	0,4660	0,4977
0,562	1878	7	0,4800	0,0080	0,4650	0,4959
0,564	1871	9	0,4777	0,0080	0,4620	0,4936
0,569	1862	2	0,4772	0,0080	0,4620	0,4931
0,583	1860	30	0,4695	0,0080	0,4540	0,4854
0,594	1830	10	0,4669	0,0080	0,4520	0,4828
0,596	1820	1	0,4667	0,0080	0,4510	0,4826
0,597	1819	1	0,4664	0,0080	0,4510	0,4823
0,599	1818	1	0,4661	0,0080	0,4510	0,4821
0,603	1817	3	0,4654	0,0080	0,4500	0,4813
0,613	1814	3	0,4646	0,0080	0,4490	0,4805
0,615	1811	17	0,4602	0,0080	0,4450	0,4762
0,616	1794	14	0,4566	0,0080	0,4410	0,4726
0,626	1780	39	0,4466	0,0080	0,4310	0,4625
0,627	1741	2	0,4461	0,0080	0,4310	0,4620
0,629	1739	2	0,4456	0,0080	0,4300	0,4615
0,631	1737	4	0,4446	0,0080	0,4290	0,4605
0,635	1733	1	0,4443	0,0080	0,4290	0,4602
0,643	1732	3	0,4436	0,0080	0,4280	0,4594
0,652	1729	3	0,4428	0,0080	0,4270	0,4587
0,654	1726	4	0,4418	0,0080	0,4260	0,4576
0,655	1722	2	0,4413	0,0080	0,4260	0,4571
0,66	1720	8	0,4392	0,0079	0,4240	0,4551
0,662	1712	10	0,4366	0,0079	0,4210	0,4525
0,664	1702	5	0,4354	0,0079	0,4200	0,4512
0,665	1697	11	0,4325	0,0079	0,4170	0,4484
0,678	1686	25	0,4261	0,0079	0,4110	0,4419
0,683	1661	1	0,4259	0,0079	0,4110	0,4417
0,685	1660	19	0,4210	0,0079	0,4060	0,4368
0,686	1641	5	0,4197	0,0079	0,4040	0,4355
0,69	1636	1	0,4194	0,0079	0,4040	0,4352
0,692	1635	8	0,4174	0,0079	0,4020	0,4332
0,693	1627	4	0,4164	0,0079	0,4010	0,4321
0,694	1623	10	0,4138	0,0079	0,3990	0,4296

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,697	1613	2	0,4133	0,0079	0,3980	0,4290
0,72	1611	16	0,4092	0,0079	0,3940	0,4249
0,722	1595	15	0,4053	0,0079	0,3900	0,4211
0,726	1580	2	0,4048	0,0079	0,3900	0,4205
0,727	1578	3	0,4041	0,0079	0,3890	0,4198
0,735	1575	1	0,4038	0,0079	0,3890	0,4195
0,74	1574	1	0,4035	0,0079	0,3880	0,4192
0,741	1573	1	0,4033	0,0079	0,3880	0,4190
0,749	1572	19	0,3984	0,0078	0,3830	0,4141
0,752	1553	1	0,3982	0,0078	0,3830	0,4138
0,756	1552	2	0,3976	0,0078	0,3830	0,4133
0,762	1550	84	0,3761	0,0078	0,3610	0,3916
0,763	1466	1	0,3758	0,0078	0,3610	0,3914
0,766	1465	5	0,3746	0,0078	0,3600	0,3901
0,771	1460	1	0,3743	0,0078	0,3590	0,3898
0,772	1459	1	0,3740	0,0078	0,3590	0,3895
0,773	1458	1	0,3738	0,0077	0,3590	0,3893
0,774	1457	3	0,3730	0,0077	0,3580	0,3885
0,785	1454	3	0,3722	0,0077	0,3570	0,3877
0,79	1451	4	0,3712	0,0077	0,3560	0,3867
0,798	1447	72	0,3527	0,0077	0,3380	0,3681
0,802	1375	1	0,3525	0,0077	0,3380	0,3678
0,804	1374	2	0,3520	0,0076	0,3370	0,3673
0,805	1372	2	0,3515	0,0076	0,3370	0,3668
0,823	1370	21	0,3461	0,0076	0,3310	0,3613
0,825	1349	3	0,3453	0,0076	0,3310	0,3606
0,841	1346	6	0,3438	0,0076	0,3290	0,3590
0,842	1340	3	0,3430	0,0076	0,3280	0,3582
0,845	1337	1	0,3427	0,0076	0,3280	0,3580
0,847	1336	2	0,3422	0,0076	0,3280	0,3575
0,86	1334	16	0,3381	0,0076	0,3240	0,3533
0,87	1318	5	0,3368	0,0076	0,3220	0,3520
0,881	1313	2	0,3363	0,0076	0,3220	0,3515
0,883	1311	8	0,3343	0,0076	0,3200	0,3494

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
0,889	1303	3	0,3335	0,0076	0,3190	0,3486
0,891	1300	1	0,3332	0,0076	0,3190	0,3484
0,901	1299	3	0,3325	0,0075	0,3180	0,3476
0,903	1296	9	0,3302	0,0075	0,3160	0,3453
0,912	1287	4	0,3291	0,0075	0,3150	0,3442
0,92	1283	4	0,3281	0,0075	0,3140	0,3432
0,925	1279	9	0,3258	0,0075	0,3110	0,3409
0,939	1270	12	0,3227	0,0075	0,3080	0,3378
0,94	1258	15	0,3189	0,0075	0,3050	0,3339
0,942	1243	1	0,3186	0,0075	0,3040	0,3336
0,945	1242	1	0,3184	0,0075	0,3040	0,3333
0,946	1241	9	0,3161	0,0074	0,3020	0,3310
0,949	1232	1	0,3158	0,0074	0,3020	0,3307
0,954	1231	7	0,3140	0,0074	0,3000	0,3289
0,975	1224	5	0,3127	0,0074	0,2990	0,3276
0,976	1219	4	0,3117	0,0074	0,2970	0,3266
0,988	1215	18	0,3071	0,0074	0,2930	0,3219
0,996	1197	1	0,3068	0,0074	0,2930	0,3217
0,998	1196	6	0,3053	0,0074	0,2910	0,3201
1,002	1190	2	0,3048	0,0074	0,2910	0,3196
1,012	1188	6	0,3032	0,0074	0,2890	0,3180
1,018	1182	6	0,3017	0,0074	0,2880	0,3165
1,02	1176	41	0,2912	0,0073	0,2770	0,3058
1,021	1135	4	0,2901	0,0073	0,2760	0,3048
1,027	1131	4	0,2891	0,0073	0,2750	0,3037
1,042	1127	4	0,2881	0,0073	0,2740	0,3027
1,046	1123	117	0,2581	0,0070	0,2450	0,2722
1,051	1006	1	0,2578	0,0070	0,2440	0,2719
1,064	1005	62	0,2419	0,0069	0,2290	0,2557
1,067	943	3	0,2411	0,0069	0,2280	0,2550
1,069	940	2	0,2406	0,0068	0,2280	0,2544
1,073	938	217	0,1850	0,0062	0,1730	0,1976
1,081	721	2	0,1845	0,0062	0,1730	0,1970
1,083	719	6	0,1829	0,0062	0,1710	0,1955
1,087	713	2	0,1824	0,0062	0,1710	0,1949

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
1,09	711	1	0,1821	0,0062	0,1700	0,1947
1,095	710	2	0,1816	0,0062	0,1700	0,1942
1,096	708	11	0,1788	0,0061	0,1670	0,1913
1,106	697	2	0,1783	0,0061	0,1670	0,1907
1,107	695	3	0,1775	0,0061	0,1660	0,1899
1,114	692	1	0,1773	0,0061	0,1660	0,1897
1,115	691	4	0,1762	0,0061	0,1650	0,1886
1,143	687	11	0,1734	0,0061	0,1620	0,1857
1,156	676	7	0,1716	0,0060	0,1600	0,1839
1,167	669	1	0,1714	0,0060	0,1600	0,1836
1,169	668	5	0,1701	0,0060	0,1590	0,1823
1,177	663	4	0,1691	0,0060	0,1580	0,1813
1,178	659	7	0,1673	0,0060	0,1560	0,1794
1,183	652	6	0,1657	0,0060	0,1540	0,1778
1,188	646	1	0,1655	0,0060	0,1540	0,1776
1,194	645	3	0,1647	0,0059	0,1530	0,1768
1,196	642	3	0,1639	0,0059	0,1530	0,1760
1,197	639	39	0,1539	0,0058	0,1430	0,1657
1,238	600	4	0,1529	0,0058	0,1420	0,1646
1,239	596	3	0,1521	0,0058	0,1410	0,1638
1,252	593	3	0,1514	0,0057	0,1410	0,1630
1,26	590	3	0,1506	0,0057	0,1400	0,1623
1,264	587	26	0,1439	0,0056	0,1330	0,1554
1,276	561	3	0,1432	0,0056	0,1330	0,1546
1,282	558	1	0,1429	0,0056	0,1320	0,1543
1,284	557	1	0,1426	0,0056	0,1320	0,1541
1,299	556	4	0,1416	0,0056	0,1310	0,1530
1,308	552	1	0,1414	0,0056	0,1310	0,1527
1,312	551	28	0,1342	0,0055	0,1240	0,1453
1,315	523	2	0,1337	0,0055	0,1230	0,1448
1,319	521	2	0,1331	0,0054	0,1230	0,1443
1,327	519	2	0,1326	0,0054	0,1220	0,1437
1,329	517	2	0,1321	0,0054	0,1220	0,1432
1,338	515	10	0,1296	0,0054	0,1190	0,1405
1,356	505	2	0,1290	0,0054	0,1190	0,1400

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
1,367	503	1	0,1288	0,0054	0,1190	0,1397
1,389	502	23	0,1229	0,0053	0,1130	0,1336
1,4	479	2	0,1224	0,0052	0,1130	0,1331
1,416	477	255	0,0570	0,0037	0,0501	0,0647
1,421	222	2	0,0564	0,0037	0,0496	0,0642
1,433	220	2	0,0559	0,0037	0,0492	0,0636
1,44	218	4	0,0549	0,0036	0,0482	0,0625
1,442	214	1	0,0546	0,0036	0,0480	0,0623
1,446	213	2	0,0541	0,0036	0,0475	0,0617
1,448	211	1	0,0539	0,0036	0,0472	0,0615
1,45	210	3	0,0531	0,0036	0,0465	0,0606
1,452	207	1	0,0528	0,0036	0,0463	0,0604
1,453	206	1	0,0526	0,0036	0,0460	0,0601
1,455	205	4	0,0516	0,0035	0,0451	0,0590
1,499	201	1	0,0513	0,0035	0,0448	0,0587
1,504	200	2	0,0508	0,0035	0,0443	0,0582
1,521	198	7	0,0490	0,0035	0,0427	0,0563
1,522	191	3	0,0482	0,0034	0,0420	0,0555
1,535	188	69	0,0305	0,0028	0,0256	0,0364
1,543	119	3	0,0298	0,0027	0,0249	0,0356
1,566	116	6	0,0282	0,0027	0,0235	0,0339
1,572	110	31	0,0203	0,0023	0,0163	0,0252
1,616	79	8	0,0182	0,0021	0,0145	0,0229
1,617	71	2	0,0177	0,0021	0,0140	0,0224
1,622	69	1	0,0174	0,0021	0,0138	0,0221
1,63	68	17	0,0131	0,0018	0,0100	0,0172
1,713	51	1	0,0128	0,0018	0,0097	0,0169
1,789	50	1	0,0126	0,0018	0,0095	0,0166
1,792	49	1	0,0123	0,0018	0,0093	0,0163
1,859	48	2	0,0118	0,0017	0,0089	0,0157
1,965	46	2	0,0113	0,0017	0,0084	0,0151
1,996	44	12	0,0082	0,0014	0,0058	0,0116
2,011	32	9	0,0059	0,0012	0,0039	0,0089
2,043	23	3	0,0051	0,0011	0,0033	0,0079
2,11	20	2	0,0046	0,0011	0,0029	0,0073

Continua...

Continuação.

Velocidade (m/s)	Mexilhões incrustados	Mexilhões soltos	Sobrevivência empírica	E.P	L.I	L.S
2,124	18	1	0,0044	0,0011	0,0027	0,0070
2,159	17	5	0,0031	0,0009	0,0018	0,0054
2,193	12	2	0,0026	0,0008	0,0014	0,0048
2,2	10	1	0,0023	0,0008	0,0012	0,0044
2,375	9	1	0,0021	0,0007	0,0010	0,0041
2,53	8	6	0,0005	0,0004	0,0001	0,0021
2,535	2	1	0,0003	0,0003	0,0000	0,0018
2,867	1	1	0,0000	-	-	-

ANEXOS

