

Manual de Campo
para a
Investigação de Morte de Peixes



Field Manual for the **Investigation of Fish Kills**

edited by

Fred P. Meyer
U.S. Fish and Wildlife Service
National Fisheries Research Center
P. O. Box 818
La Crosse, Wisconsin 54602

and

Lee A. Barclay
U.S. Fish and Wildlife Service
Division of Environmental Contaminants
18 th and C Streets, N. W.
330 Arlington Square Building
Washington, D.C. 20240

1990

Manual de Campo para a Investigação de Morte de Peixes

Traduzido por:

*Maria Edith Rolla
Carlos Bernardo Mascarenhas
Norma Dulce de Campos Barbosa*

2009

ISBN: 9788587929440

Copyright: Companhia Energética de Minas Gerais

COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS

Presidência: Djalma Bastos de Moraes

Diretoria de Geração e Transmissão: Luiz Henrique de Castro Carvalho

Superintendência de Gestão Ambiental da Geração e Transmissão: Enio Marcus Brandão Fonseca

Gerência de Estudos e Manejo da Iciofauna e Programas Especiais: Newton José Schmidt Prado

Autores:

Fred P Meyer

Lee A Barclay

Tradução:

Maria Edith Rolla

Carlos Bernardo Mascarenhas Alves

Norma Dulce de Campos Barbosa

Colaboradores:

Andréa Cássia Pinto Pires de Almeida

Hélen Regina Mota

Raoni Rosa Rodrigues

Flávio Wolf Durão

Editora:

Editora e Gráfica Sigma

Editoração:

Kleber de Andrade Ribeiro

Ilustração:

U.S. Fish And Wildlife Service

Revisão Ortográfica:

Suzana Pereira Santiago Gattás

Normalização:

Maria Izabel Moreira Couto

COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS - CEMIG .Manual de campo para investigação de morte de peixes. Tradução de Maria Edith Rolla, Carlos Bernardo Mascarenhas Alves, Norma Dulce de Campos Barbosa. Belo Horizonte: Cemig , 2009.

130 p.

1. Ictiologia 2. Peixe 3. Qualidade da água 4. Limnologia I. Título II Meyer, Fred P III .Barclay, Lee A

CDU 597.08

597

628.1.03

556.551

Cópias desta publicação podem ser feitas no Serviço de Informação Técnica Nacional (NTIS), 5285 PORT. Royal Road, Springfield, VA 22161, ou da Superintendência de Documentação, U.S. Government Printing Office, Washington, DC 20401, stock number 024-010-00685-4.

Conteúdo

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Contribuintes..... | ix |
| Prefácio | x |
| Capítulo 1. Introdução. <i>Fred P. Meyer</i> | 01 |
| Capítulo 2. Planejamento. <i>Joseph B. Hunn</i> | 06 |
| Introdução | 06 |
| Primeiros Preparativos | 06 |
| Publicidade e Contatos com a Imprensa | 08 |
| Espécies Ameaçadas de Extinção..... | 08 |
| Capítulo 3. Interpretando a Cena. <i>Fred P. Meyer e Roger L. Herman</i> | 10 |
| Introdução | 10 |
| O que Procurar | 10 |
| Investigação Local | 14 |
| Chave Dicotômica para Investigação de Mortandade de Peixes..... | 17 |
| Capítulo 4 – Substâncias Tóxicas. <i>Joseph B. Hunn e Rosalie Schnick</i> | 20 |
| Introdução | 20 |
| Respostas Biológicas às Substâncias Tóxicas..... | 20 |
| Variações Químicas Relacionadas às Substâncias Tóxicas..... | 22 |
| Diagnósticos dos Efeitos Tóxicos | 24 |
| Fatores que Modificam a Toxicidade | 27 |
| Informações de Fontes de Toxidez..... | 29 |
| Sinais Clínicos de Intoxicação | 29 |
| Coletas de Amostras das Substâncias Suspeitas..... | 31 |
| Capítulo 5. Morte de Peixes Devido a Causas Naturais. <i>Roger L. Herman e Fred P. Meyer</i> | 41 |
| Introdução | 41 |
| Depleção de Oxigênio | 41 |
| Blooms de Algas Tóxicas..... | 42 |
| Isotermia..... | 43 |
| Envenenamento por Gás Sulfídrico | 43 |
| Substâncias Naturalmente Tóxicas | 43 |
| Supersaturação de Gás | 43 |
| Outros Fatores Ambientais de Estresse | 45 |

CONTEÚDO

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Capítulo 6. O Papel de Agentes Infecciosos na Mortandade de Peixes. <i>Roger L. Herman</i> | 46 |
| Introdução | 46 |
| Agentes Viróticos | 47 |
| Agentes Bacterianos..... | 48 |
| Agentes Fúngicos..... | 50 |
| Agentes Parasitários | 52 |
| Estudo Histológico..... | 55 |
| Fazendo um Diagnóstico..... | 55 |
| Capítulo 7. Garantia de Qualidade e Normas de Evidência. <i>Rosalie A. Schnick</i> | 60 |
| Introdução | 60 |
| Diretrizes para Documentação | 60 |
| História do Local e Informações | 60 |
| Coleta e Identificação de Amostras..... | 64 |
| Exigências Legais..... | 65 |
| Capítulo 8. Para Onde Enviar Amostra para Análise. <i>Rosalie Schnick</i> | 67 |
| Destinação de Amostras | 67 |
| Custo e Tempo Exigidos | 71 |
| Capítulo 9. Acondicionamento e Transporte de Amostras. <i>Lee A. Barclay</i> | 76 |
| Introdução | 76 |
| Cadeia de Custódia e Outras Considerações Legais | 76 |
| Manuseio de Amostras | 76 |
| Transporte de Amostras..... | 78 |
| Acompanhamento | 79 |
| Considerações Sobre Segurança | 79 |
| Capítulo 10. Elaboração de Relatório. <i>Fred P. Meyer e Bernard L. Berger</i> | 80 |
| Introdução | 80 |
| Conteúdo | 80 |
| Disposição do Relatório..... | 81 |
| Capítulo 11. Preparação para Prestar Depoimento. <i>Lee A. Barclay</i> | 88 |
| Introdução | 88 |
| Coleta de Informações para Subsidiar o Depoimento..... | 89 |
| Preparação de Material para Sùmulas ou Para Inclusão no Autos..... | 89 |
| Depoimento Oral..... | 89 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Capítulo 12. Equipamentos Necessários para Avaliações de Campo. <i>Georgia R. Ardinger</i> | 92 |
| Capítulo 13. Teste sua habilidade. <i>Fred P. Meyer</i> | 95 |
| Introdução | 95 |
| O Caso de Botched Batch | 95 |
| O Caso da Clear Creek Caper | 96 |
| O Caso do Black Lagoon | 97 |
| O Caso do "One Too Many for the Road" | 98 |
| O Caso do Almoço Letal | 100 |
| O Caso da Caprichosa Fábrica de Algodão | 101 |
| O Caso da Chuva Ácida | 102 |
| Bibliografia | 105 |
| Leitura Adicional Sugerida | 108 |
| Apêndice A. Conversões do Sistema Métrico para o Inglês | 109 |
| Apêndice B. Tabela de Padrões de Qualidade de Água | 110 |
| Apêndice E. Fórmulas para Soluções Usadas na Investigação em Morte de Peixes | 113 |
| Apêndice F. Formulário de Avaliação de Habitat | 114 |
| Apêndice G. Sinopses das Espécies e Catálogo das Amostras | 115 |
| Apêndice H. Órgãos Oficiais | 117 |
| Apêndice K. Como Selecionar e Enviar Amostras de Peixe de Piscicultura | 119 |
| Tabelas | |
| Tabela 3.1. Classificação para mortalidade de peixes | 12 |
| Tabela 3.1.1. Sinais físicos associados com mortalidade de peixes causados por depleção de oxigênio dissolvido, Bloom de algas e pesticidas | 13 |
| Tabela 4.1. Algumas observações de comportamento de peixes e características químicas da água associadas à mortalidade de peixes | 21 |
| Tabela 4.2. Comportamentos de peixes associados com inseticidas venenosos | 22 |
| Tabela 4.3. Influência da adição de materiais alcalinos ou ácidos no pH das águas receptoras de vários graus de dureza | 28 |
| Tabela 4.4. Sinais clínicos associados com toxicidade de peixes | 29 |
| Tabela 4.5. Resumo das exigências requeridas para as amostras de água | 34 |
| Tabela 4.6. Quantidades recomendadas, frascos, técnicas de preservação e tempo de estocagem para amostras de sedimento a serem analisados para parâmetros selecionados | 38 |
| Tabela 8.1. Custos aproximados para análises orgânicas por procedimento em 1989 | 72 |
| Tabela 8.2. Custos aproximados para análises inorgânicas por procedimento em 1989 | 73 |

CONTEÚDO

Figuras

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1.1. Número de peixes mortos e número de mortes em Missouri. | 03 |
| Figura 2.1. Gráfico de vazão por coordenadas e desempenho da investigação de uma mortandade de peixes. | 09 |
| Figura 3.1. Curva de mortalidade de peixes associada a causas maiores. | 12 |
| Figura 4.1. Locais sugeridos para coleta de amostras relacionados à morte de peixes em que apenas uma fonte é suspeita. | 36 |
| Figura 4.2. Locais sugeridos para coleta de amostras relacionados à morte de peixes em que múltiplas fontes podem ser envolvidas. | 36 |
| Figura 6.1. Exemplo de um relatório de necropsia de peixe. | 58 |
| Figura 10.1. Exemplo de um consultivo de saúde. | 82 |
| Figura 10.2. Relatório da Agência USEP para morte de peixes causada por poluição. | 86 |

Contribuintes

Georgina R. Ardinger, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Fisheries Research Center P.O. Box 818, La Crosse, Wisconsin 54602

Lee A. Barclay, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife Enhancement, P.O. Box 845, Cookeville, Tennessee 38503 (present address)

Bernard L. Berger, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Office of Research Support, Region 8, 18th and C Streets, N.W., Arlington Square Building, Washington, D.C. 20240

Susan D. Haseltine, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Northern Prairie Wildlife Research Center, Jamestown, North Dakota 58402

Roger L. Herman, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Fish Health Research Laboratory, P.O. Box 700, Kearneysville, West Virginia 25430

Joseph B. Hunn, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Fisheries Contaminant Research Center, 4200 New Haven Road, Columbia, Missouri 65201

Fred P. Meyer, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Fisheries Research Center, P.O. Box 818, La Crosse, Wisconsin 54602

Rosalie A. Schnick, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Fisheries Research Center, P.O. Box 818, La Crosse, Wisconsin 54602

Prefácio

Morte de peixes são evidências de problemas sérios em lagos ou rios. Se a morte é relacionada à presença de substâncias químicas tóxicas, é um problema que diz respeito à saúde humana, seguida dos danos óbvios ao ecossistema e aos recursos pesqueiros. Dependendo da causa das mortes dos peixes, ramificações legais e econômicas podem estar envolvidas. Se a morte é causada por atividades humanas e corporativas, seguem-se litígios legais provavelmente, com possíveis danos na justiça e custos de avaliação para limpeza e restauração.

Agências federais e estaduais têm expressado a necessidade para um compêndio de métodos e técnicas conhecidos e aceitos, que deve ser seguida em qualquer investigação de morte de peixes. Este manual é uma tentativa de preencher esta necessidade. Ela endereça as muitas facetas que envolvem uma investigação de morte de peixe e fornece instruções, guias, exemplos e formas de amostras que podem ser usadas.

A U.S. Fish and Wildlife Services tem o prazer de patrocinar este manual para ajudar biólogos a preparar as investigações de morte de peixes. Pesquisa e desenvolvimento (Região 8) tem cooperado com a Divisão de Contaminantes do Meio Ambiente e Monitoramento da Vida Selvagem para prover fundos e experts. Nós esperamos que o manual venha ser útil para interpretar evidências no local da morte de peixes, no recolhimento de dados, fazendo uma determinação final da causa e da remediação e correção das ações, e preparação das testemunhas.

John D. Buffington

Regional Director
for
Research and Development
Washington, D.C.

Fish and Wildlife Enhancement
Division of Environmental Contaminants
Washington, D.C.

John A. Blankenship

Prefácio Cemig

Este livro tem sido de extrema utilidade para nós na Cemig em todas as ocasiões que tivemos morte de peixes. Ajudou avaliar, coletar e escrever relatórios e o mais importante nos ensinou a discutir com os órgãos ambientais e instituições protetoras do direito difuso e com a comunidade. Por isto, fui traduzindo pouco a pouco com a ajuda dos colegas à medida que ia descobrindo os tesouros nele escondidos. Agora, graças à “minha empresa” tenho a oportunidade de editá-lo. Espero que seja de grande ajuda para todos os meus colegas de Cemig e de profissão.

Maria Edith Rolla
Bióloga

CAPÍTULO 1

Introdução

Fred P. Meyer

Pescaria é a recreação predileta dos americanos. Existem mais ou menos 38 milhões de pescadores de águas doces e 12 milhões de mar, e o número de pessoas que vai pescar aumenta a cada ano. Eles gastam mais de US\$ 315 milhões por ano com este esporte. As Federações e Cooperativas de Pesca tentam manter os estoques de peixes adequados nos lagos e rios do país para atender o aumento da demanda do público.

Aos olhos do público, qualquer diminuição de peixes, mesmo que resultante de causas naturais significa que menos peixes estarão disponíveis para a pesca esportiva. Alguns olham o peixe como espécie indicadora, e interpretam a morte de peixes como um perigo potencial de um problema ambiental. Consequentemente, morte de peixes sempre recebe a atenção da mídia. Se as mortes são devidas às subs-

tâncias tóxicas, o público usualmente relaciona a um potencial de contaminação do reservatório de água, a resíduos tóxicos na carne dos peixes ou danos ao ecossistema. Por estas razões, é importante que todos os recursos técnicos sejam utilizados para investigar a morte de peixes e interpretar as observações de campo e de laboratório. Toda morte de peixe tem um motivo, e a causa pode ser determinada, e uma ação corretiva deve ser tomada para prevenir futuras perdas. Entretanto, determinar a causa é sempre difícil e requer observação cuidadosa, levantamento acurado de dados e usos apropriados para o procedimento de amostragem. Muitas mortes de peixes podem levar a litígio ou à justiça. A investigação deve entender as regras da evidência, custódia de amostras e dados, tomada de dados corretamente, e outros fatores que podem afetar a aceitação das evidências.



Ambientes livres de poluição ou de substâncias tóxicas, saudável, e convidando a todas as formas de vida.



Trinta e oito milhões de americanos vão pescar cada ano. A competição por lugares está começando a se tornar muito grande, sendo vital sejam protegidas de contaminantes.

Como a morte de peixes pode ser causada por uma enorme variedade de fatores, deve-se ter cuidado para não tirar conclusões prematuras. Embora muitas pessoas acreditem que substâncias tóxicas são as únicas causas de morte de peixes, muitas causas naturais, inclusive doenças infecciosas, podem levar, às vezes, a perdas de larga escala. Depleção de oxigênio, aumento de temperatura da água, blooms de algas tóxicas, infecções bacterianas, viróticas e infestações parasitárias, todas tem o potencial de induzir grandes mortalidades de peixes num ecossistema. Entretanto, cada causa é usualmente acompanhada por uma lista de características, que podem ser a causa da morte de peixes. É responsabilidade do investigador fazer uma completa avaliação da situação associada à coleta apropriada de amostras, cujo papel é identificar ou eliminar fatores prováveis de serem a causa da morte de peixes.

Em um período de 10 anos 1970-79, no estado de Missouri (Czarnezki, 1983), estima-se que 3,6 mi-

lhões de peixes morreram conforme está documentado em 409 relatórios. A incidência dos tipos de causas é característica em muitos estados, e os dados do Missouri contém informações úteis da maioria das fontes prováveis de morte de peixes (Fig.1.1). No Missouri, fontes municipais foram as mais comuns (26,4%) de peixes mortos, seguidos por agricultura (17,4%) e indústria (10,8%). Fontes menos importantes de morte de peixes foram de acidentes de transporte (7,6%), depleção de oxigênio (7,3%), outras operações não industriais (6,8%), mineração (6,6%), doenças (3,7%) e outros (2,7%), causas não determinadas para 10,7% de mortes. Embora causas relacionadas a efluente foram mais comuns e mataram a maioria dos peixes, mineração, controle de pestes, e operações de reservatório também causam grande parte das mortes. Entre as causas naturais, depleção de oxigênio durante o inverno ou verão foi a mais frequente.

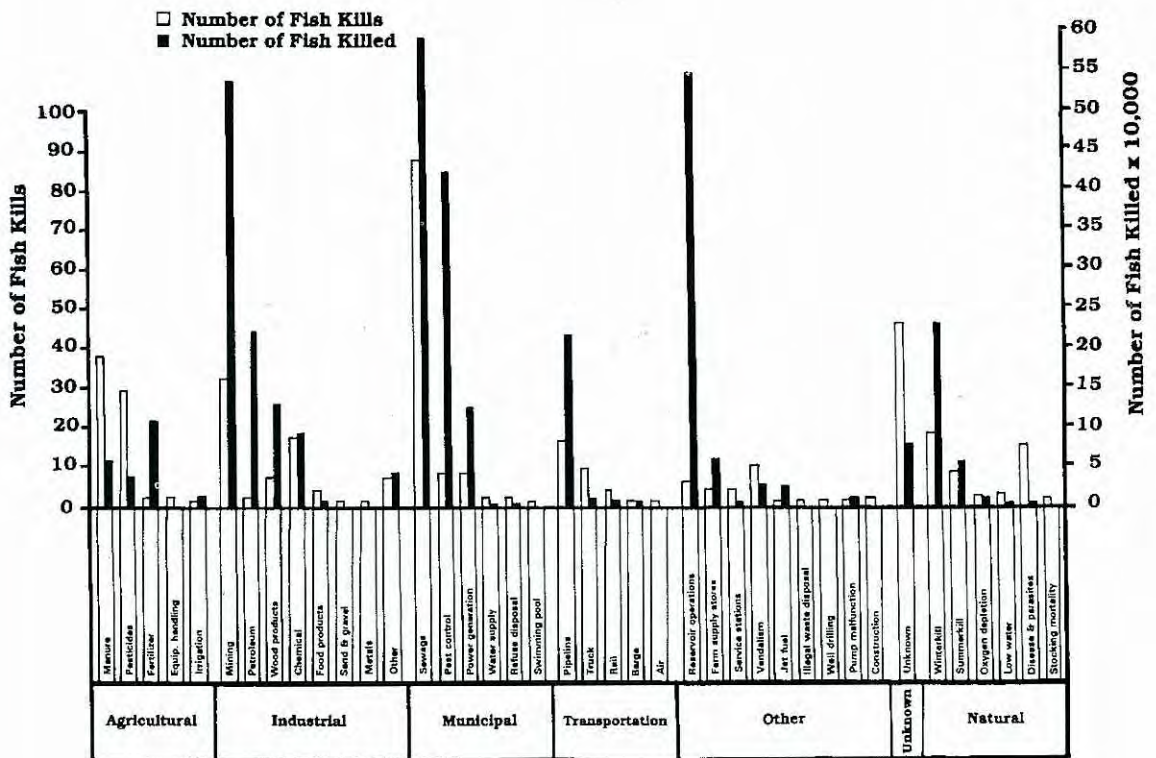


Fig. 1.1. Número de peixes mortos e número de mortes de peixe, de acordo com as causas, no Missouri, 1970-1979 (modificada de Czarneski, 1983).

Infelizmente, definir o que pode ser informação relevante é frequentemente difícil. A evidência pode pontuar muitas possíveis causas, porque os sinais observados, normalmente, indicam mais de uma. Procurar a causa da morte de peixes pode ser similar à investigação de Sherlock Holmes. Somente observações cuidadosas, com dados de campo bem anotados e análises completas de laboratórios poderão chegar a um bom diagnóstico.

No passado, era difícil provar a causa da morte de peixes na corte, porque havia falta de cuidado, falta de informações e uma série de falhas: falta para a anotação de observações de campo, coleta de amostras e testes apropriados, procedimentos importantes para manter uma série de provas ou evidências documentais. A evidência vital, na qual uma decisão definitiva deve ser baseada, pode ser de pouca duração, especialmente em rios ou áreas de influência de maré. É crítico que o investigador saiba e entenda a necessidade para uma ação rápida e precisa, para anotar ou preservar a evidência relevante.

A qualidade da avaliação, para manter a validade dos dados, amostras e outras evidências, é crítica para qualquer investigação de morte de peixe. Antes de iniciar um trabalho de morte de peixes, todo o investigador deve estar familiarizado com as exigências requeridas e as regras de evidência.

Antes de tentar explicar a causa da morte de peixes, um investigador deve estudar cuidadosamente o quadro por inteiro do meio ambiente. Fatores que parecem insignificantes de tempo, como vazão da água, vegetação, bloom de algas, poluição química da água e outras atividades fazem papéis importantes na área. O investigador deve tentar determinar que fatores no meio ambiente, subitamente, mudaram e o porquê. Nenhuma evidência deve ser superestimada.

Frequentemente, a primeira indicação de que alguma coisa está errada é a presença de peixes mortos. Após o acontecimento, o investigador deve reconstruir mentalmente a situação ambiental. Infe-

lizmente, peixes mortos sempre parecem como se tivessem sido mortos por uma substância tóxica ou por falta de oxigênio. Entretanto, o local da morte de peixes, usualmente, indica a natureza da causa. É responsabilidade do investigador olhar e reconhecer estas evidências.

Este manual de investigação de morte de peixes pretende ser um guia para ictiólogos, para ajudá-los durante todo o processo investigativo. Começa com a primeira notificação da morte dos peixes e continua nos vários estágios; discute os tipos de causas e evidências associadas com eles, dá um guia para os tomadores de decisão e culmina na preparação de relatório completo.¹

Informações adicionais das exigências fisiológicas dos peixes, como foram as mudanças no ambiente e porque as mortes de peixes ocorreram são dadas por Wedemeyer et.al (1976) no seu livro Environmental Stress and Fish Disaeses. Esta referência discute as causas e os efeitos da maioria das mudanças ambientais, dá os limites ótimos e de estresse das variáveis ambientais para um número de espécies de peixes, discute a atividade e os efeitos de um número de substâncias tóxicas. Outras referências úteis foram publicadas pelo Aquatic- Life Advisory Committee (1956); U.S. Environmental Protection Agency (EPA;1071, 1972); Bouwkamp (1980); American Fishery Society (1982); Tracy and Kittle (1982).

Nos capítulos seguintes, cada um dos muitos tipos de morte de peixes é discutido em detalhes. Informações são concedidas sobre dados de campo, dados de coleta, análises, equipamentos necessários, tipos de amostras para coletar, como coletar as amostras de forma correta, aonde analisar as amostras e como analisá-las, quando os resultados forem recebidos. Todas as unidades de medidas listadas neste manual estão apresentadas em unidades métricas. Equivalentes numéricos da sua conversão para o sistema inglês são apresentadas no Apêndice A. Para informações mais detalhadas, veja Moore and Mitchell (1987).

¹ As principais publicações de interesse sobre investigação de morte de peixes que se referem esse manual estão listadas em ordem alfabética nas referências ao final do Capítulo 13. No texto, o nome do autor e ano de publicação (ex. Hill, 1983) identifica a referida publicação também.



A perda de peixes do tamanho de peixes esportivos frequentemente atrai e gera alarme de público. Perdas de peixes são ocorrências naturais que não trazem problemas.



Águas limpas fornecem pesca recreacional para pessoas de todas as idades.

CAPÍTULO 2

Planejamento

Joseph B. Hunn

Introdução

Investigar uma mortandade de peixes é como fazer o trabalho de um detetive. Requer a mesma perspicácia, observações e uma mente inquisitiva. E ainda, uma familiaridade com a literatura de investigações de mortandade de peixes, e o conhecimento dos procedimentos envolvidos. Além disso, deve-se estar por dentro das questões operativas e administrativas ligadas aos órgãos ambientais envolvidos. A investigação de uma mortandade de peixes leva os investigadores a entrarem em contacto com pessoas de outras organizações, como laboratórios de análise de água e de peixes, consultores, e ainda, a fazerem as mais diversas coletas de campo. É importante conhecer os laboratórios a serem contatados para as análises, seus telefones, endereços, etc, e essas informações devem ser mantidas à mão.

A possibilidade de que questões de ordem legal sejam levantadas, a partir de uma morte de peixes, é grande, e a justiça pode querer saber o que de fato aconteceu, o que foi feito, e como as investigações foram feitas. Daí, a necessidade de que a investigação seja cuidadosamente planejada, conduzida e legalmente defensável.

Primeiros Preparativos

Qualquer investigação de mortandade de peixes envolve o preenchimento de diversos formulários. O investigador deve estar familiarizado com os formulários e com o tipo de informações solicitadas. Antes de se levar a termo a investigação, deve-se informar das providências legais a serem tomadas, fazer as coletas adequadamente, dando suporte legal, para descobrir o motivo da mortandade. Além das informações de campo, todas as informações

possíveis sobre a mortandade devem ser levantadas. Uma ficha completa, contendo datas, local e extensão da mortandade, deve ser preenchida. O relatório final deve incluir fotos, número de amostras, tipo e locais de amostragem e outras informações pertinentes. Assim, a cronologia das investigações pode ser documentada e reconstruída.

Uma lista do material a ser utilizado deve ser feita antes de ir para o campo. Os itens devem incluir:

- 1 – preenchimento dos formulários;
- 2 – nomes e telefones das pessoas a serem contatadas no campo;
- 3 – nomes e telefones dos laboratórios;
- 4 – mapas da área do acidente;
- 5 – aparelhos de amostragem necessários;
- 6 – vidraria necessária para a amostragem;
- 7 – gelo;
- 8 – diário de bordo;
- 9 – máquina fotográfica e filme;
- 10 – equipamentos de emergência.

Uma rotina é requerida para manter os equipamentos e suprimentos em boas condições de uso. Uma lista de equipamentos deve ser mantida, e uma checagem periódica deve ser feita, de acordo com as recomendações dos fabricantes. Isto é especialmente importante, quando equipamentos operados por bateria são utilizados. Se possível, tenha um sistema de backup de análises, que não requeiram baterias. Soluções e meios de cultura devem ser regularmente trocados, para tê-los sempre frescos para uso. Um diário de manutenção deve ser mantido. Aparelhos especiais e produtos químicos podem requerer uma estocagem especial, para prevenir deterioração ou contaminação.

Se os peixes morrerem em locais que não sejam públicos, talvez seja necessária permissão ou uma autorização judicial para entrar na propriedade, a



Dados relacionados à morte de peixes devem ser colecionados apuradamente e autenticadas em um arquivo.

fim de se fazer observações e coletar amostras. A não ser que se tenha uma autorização ou permissão para entrar na área, as amostras coletadas podem não ser aceitas como evidências na justiça. É prudente tratar cada investigação, como se fosse terminar na justiça.

No caso de morte de peixes, a coleta deve ser feita. Entretanto, a segurança dos participantes da coleta deve ter prioridade, principalmente se a morte ocorreu por motivos desconhecidos. Assim, equipamentos de segurança devem ser utilizados. Segundo a Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos Estados Unidos (EPA), a classificação para os danos à saúde humana é dividida em quatro níveis, que são descritos, no quadro a seguir, com os equipamentos que devem ser utilizados.

| Nível | Condições ambientais | Equipamentos de proteção requeridos |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| D | Baixa probabilidade de risco – nenhum suspeito conhecido de veiculação hídrica. | Corpo e pés protegidos contra riscos não corrosivos. |
| C | Possíveis riscos de veiculação hídrica, que podem ser identificados. | Corpo e pés protegidos, e ainda, máscara de gás apropriada. |
| B | Possível faixa de riscos desconhecidos. | Corpo e pés protegidos. |
| A | Probabilidade alta de doença desconhecida de veiculação hídrica de contactos com doenças ou materiais corrosivos. | Roupa especial “roupa da lua”, para impedir a penetração no corpo e nos pés. |

Não entre em local onde exista derramamento de substância tóxica, a menos que se saiba, com clareza, de que substância se trata. A segurança do coletor é prioridade. As agências ambientais americanas não permitem que os seus empregados entrem em locais classificados com níveis A ou B. A saúde humana é muito mais importante que documentar o número de peixes mortos.

A coordenação da investigação de uma mortalidade de peixes começa muito antes de se ir para o campo. Um número específico deve ser dado para cada caso investigado e usado nas fichas de campo e laboratório, nas etiquetas, fotografias e outras coisas relacionadas ao incidente. Devem-se contatar os órgãos oficiais a serem notificados, e para quem os relatórios devem ser mandados. Estas são informações que devem ser levantadas. Se mais de um órgão estiver envolvido, mantenha todos os participantes da investigação bem informados sobre tudo o que acontecer. Desta forma, as investigações podem ser feitas com segurança e eficiência. Entretanto, é importante que somente uma única pessoa seja designada para responder às perguntas da imprensa.

É imperativo que um sistema de identificação de amostra seja montado, antes que as amostras sejam coletadas no campo. O mesmo sistema de numeração para cada amostra ou subamostra deve ser usado por todas as partes que trabalham com a coleta e o processamento das análises. É importante que o investigador comunique com os laboratórios de análise antes de se proceder as amostragens, e que os métodos seguidos na preparação das amostras e análises sejam, anteriormente, acordados. Discussões entre os analistas e os investigadores ajudarão a determinar tipo, número e tamanho das análises necessárias; sistema de identificação de amostras; protocolo de

coletas; métodos de preservação; exigências legais; análises a serem feitas; quando os resultados poderão ficar prontos; formato do relatório; como e por quem os resultados serão usados. A seleção dos métodos analíticos apropriados influencia na confiança e nos custos das análises.

Publicidade e Contatos com a Imprensa

Em uma investigação de mortalidade de peixe, uma só pessoa deve ser designada pela empresa ou órgãos ambientais para ser o contato com a imprensa. Esta restrição ajuda a evitar contradições e embaraços para os investigadores e suas empresas. A publicidade durante o período da investigação deve ser limitada a fatos reais das condições observadas. Conjecturas, quanto à provável mortalidade de peixe, devem ser evitadas por pessoas ou companhias responsáveis. As informações liberadas devem incluir uma descrição da morte dos peixes, sua extensão, quando foi observada pela primeira vez, sua duração, o nome dos órgãos e das pessoas envolvidas na investigação. A pessoa designada para o contato deve, posteriormente, dar outras entrevistas.

Espécies Ameaçadas de Extinção

Se ocorrer morte de peixe, cuja espécie está em perigo de extinção, ou se a mortalidade ocorrer em um local onde se sabe que existem espécies em perigo de extinção, deve-se observar a legislação vigente para tal.

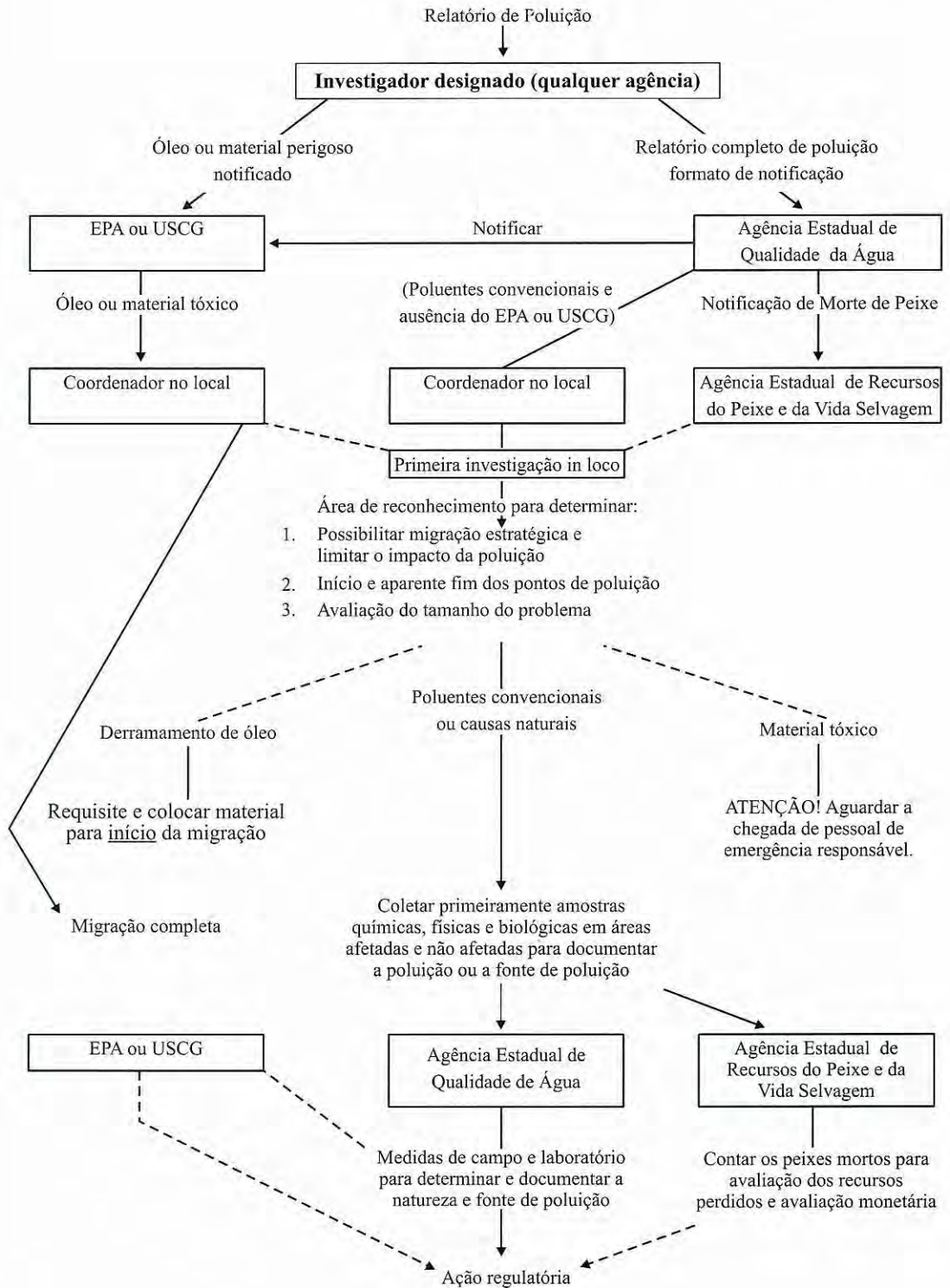


Fig. 2.1. Fluxograma para coordenação e desempenho de uma morte de peixe (modificado por Hill 1983). (Abreviações: EPA = Environmental Protection Agency, USCG = U.S. Coast Guard)

CAPÍTULO 3

Interpretando a Cena

Fred P. Meyer e Roger L. Herman

Introdução

Em alguns casos, a causa da morte dos peixes é clara. Exemplo: uma descarga de substância tóxica. O maior problema é descrever, documentar a situação, desdobrar a evidência e fazer a acusação formal, porque a maioria dos peixes mortos é observada depois do fato, e usualmente, faz-se necessário conduzir o tipo de investigação, conforme descrita neste capítulo.

O que Procurar

A primeira hora após a chegada ao local de uma mortandade de peixes pode ser crítica para o investigador. É extremamente importante que as informações sejam coletadas o mais rápido possível. Frequentemente, o investigador está trabalhando sozinho. É vital que o tempo seja usado efetivamente para reunir as informações e coletar as amostras da causa mais provável. Imediatamente após a chegada, os investigadores devem rapidamente pesquisar a cena e recolher as seguintes informações:



A presença de peixes mortos é frequentemente a primeira indicação de problema sério no meio ambiente. (Foto cortesia do Missouri Department of Conservation.)

- 1- Data e hora.
- 2- Localização: rio, extensão em km do rio; lago e área afetada, município, estradas próximas ou outros marcos da paisagem.
- 3- Testemunhas: nome, endereço e telefone das primeiras pessoas que observaram o acidente.
- 4- Nome das pessoas que podem dar informações da cena.
- 5- Quando os peixes foram vistos mortos pela primeira vez.
- 6- Estimativa do tempo que os peixes começaram a morrer.
- 7- Qualidade da água: OD; pH; condutividade; cor; odor; temperatura da água.
- 8- Condição observada de cada espécie de peixe: vivo, moribundo, morto ou apodrecendo.
- 9- Condição dos outros organismos do ecossistema: vivos, moribundos, mortos ou morrendo.
- 10- Condições do tempo no dia atual e no anterior ao acidente: temperatura, nuvens, chuvas, direção e velocidade do vento.
- 11- Aparência dos peixes coletados mortos: brânquias brilhantes, boquiabertos, curvatura espinhal, muco excessivo, lesões, áreas de necrose perto das brânquias.
- 12- Qualquer característica diferente, comportamento, ou outras observações de peixes e/ou outros organismos, tais como: cor muito escura, posição muito inclinada das nadadeiras, nadando na superfície, perda de equilíbrio, peixes ou crustáceos tentando sair da água, muco excessivo, caramujos tentando sair da água na vegetação, girinos tentando chegar à superfície, vegetação descolorida.



Peixes afetados por doses de toxinas subletais, baixo oxigênio dissolvido, muitos parasitas, ou uma epizootica bacteriana leva os peixes a mover-se para águas rasas, vegetação ou sombreadas. Eles usualmente ignoram a aproximação de humanos.

Veja no Capítulo 7 as instruções de quais dados adicionais serão necessários e como as informações devem ser documentadas. Uma análise destas informações sempre abre várias possibilidades para distinguir entre as possíveis causas da mortandade. Quando o tempo é crítico, isso reduz o número e o tipo de amostras que serão necessárias, o pessoal, os equipamentos e o trabalho de laboratório.

Ao se fazer relatórios de mortandade de peixes são importantes avaliar a quantidade de peixes mortos para se estabelecer a sua magnitude. O significado da morte de peixes está diretamente relacionado com o local, com fatores econômicos, geográficos, políticos e ambientais. A perda de 100 indivíduos em um riacho de águas limpas ou qualquer perda devido à possibilidade de intoxicação são sempre importantes. Em outras situações, a perda de centenas de milhares de peixes pode ser de pequena repercussão pública. A Associação Americana de Saúde Pública (APHA) sugere uma quantidade de peixes para classificação

de uma mortandade (Quadro 3.1).

A taxa ou modelo de mortalidade é também um indicador (Fig. 3.1) útil para se estabelecer os prováveis motivos pelos quais os peixes morreram: abruptamente ou em menos de 24 horas, isso indica que a morte foi causada por um evento súbito que intoxicou o peixe; se a morte começou lenta e se estendeu pelos 5 a 7 dias seguintes, a maioria das vezes ocorre um vagaroso lançamento de um veneno ou um forte agente virulento; morte que se estende por um período mais longo pode ser devida a um problema ambiental marginal, a um agente virótico de baixa virulência, a uma exposição crônica e à concentração subletal de substâncias tóxicas.

Outras informações importantes são os tamanhos e as espécies de peixes afetadas (Tabela 3.1). Em mortes causadas por substâncias tóxicas, peixes pequenos, usualmente, morrem antes que os maiores, quando considerada a mesma espécie. Em casos de depleção de oxigênio, o inverso é verdadeiro.

TABELA 3.1. CLASSIFICAÇÃO PARA MORTANDADE DE PEIXES (APHA et al.1985)(NT*)

| | |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Mortandade pequena | Menos de 100 peixes |
| Mortandade moderada | Entre 100 e 1000 peixes em uma extensão de 1,6km de rio ou equivalente área de lago |
| Mortandade grande | Mais de 1000 peixes em uma área de 1,6 km de rio ou equivalente em área de lago |

* Nota do Tradutor

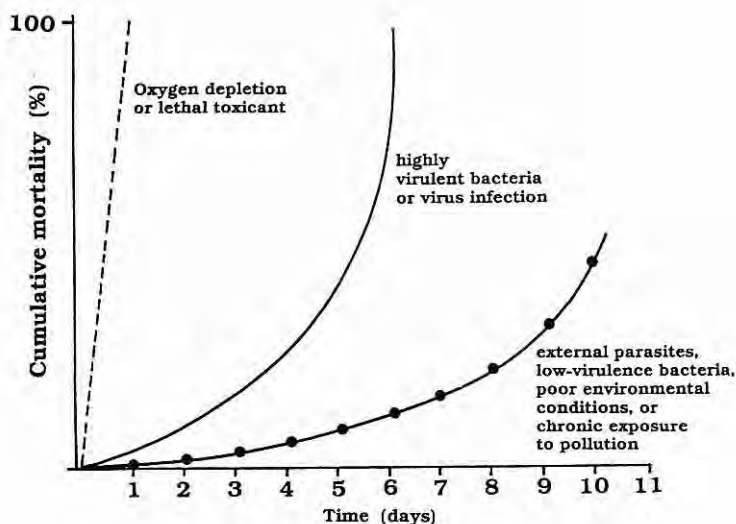


Fig. 3.1. Curvas (mortalidade versus tempo) associada com três maiores categorias de morte de peixe (Wedemeyer ET AL. 1976).

Tabela 3.1.1 *Sinais físicos associados com mortalidade de peixes causados por depleção de oxigênio dissolvido, bloom de algas e pesticidas*

| Sinais físicos associados à mortandade de peixes | Causas da Mortalidade | | |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Oxigênio dissolvido | Bloom de algas | Agrotóxico |
| Comportamento. | Arfando e nadando na superfície. | Convulsivo, nadando irregularmente, letárgico. | Convulsivo, nadando irregularmente, letárgico; se organofosforado, nadadeira peitoral se estende anteriormente. |
| Seletividade de espécies de peixes mortas. | Nenhuma, se a depleção é total; algumas espécies resistem se é parcial. | Nenhuma; todas as espécies são afetadas. | Usualmente, algumas espécies morrem antes das outras, dependendo da sensibilidade do peixe e dos níveis de agrotóxico encontrados. |
| Tamanho do peixe. | Peixes grandes morrem primeiro; normalmente, morrem de todas as espécies. | Peixes pequenos morrem primeiro; normalmente, morrem de todos os tamanhos. | Peixes pequenos morrem primeiro; normalmente, morrem de todos os tamanhos. |
| Hora da morte. | À noite e primeiras horas da manhã. | Somente durante as horas de sol brilhando (das 9 às 17 horas). | Qualquer hora do dia ou da noite. |
| Superpopulação de plâncton. | Plâncton morre; baixa população de zooplâncton. | Abundância de uma espécie de algas; população de zooplâncton pequena. | Se inseticida, ausência de zooplâncton, mas fitoplâncton normal. Se herbicida, algas podem estar ausentes. |
| Oxigênio dissolvido. | < 2 mg/L, usualmente < 1 mg/L. | Muito alto; normalmente saturado ou supersaturado. | Faixa normal 7,5 – 9,0 |
| pH | 6,0 – 7,5 | 9,5 e acima | Cor normal e pouco ou nenhum odor. |
| Cor | Marrom, cinzenta ou preta. | Verde escuro, marrom, ou dourada, algumas vezes com cheiro de mofo. | |
| Bloom de algas | Muitas células de algas mortas ou morrendo. | Algas abundantes, predomínio de uma espécie. | Bloom normal de espécies variadas, a não ser que herbicidas estejam envolvidos; então, número reduzido de algas. |

O estabelecimento de quando uma mortandade de peixes começa e por quanto tempo ela continua é também um fato importante. É útil saber se a morte começa à noite, por quanto tempo ela continua se foi interrompida por um tempo e se inicia novamente.

Mortes causadas por substâncias tóxicas são usualmente abruptas. A mortalidade pode começar a qualquer hora e continuar até que todos os peixes tenham morrido, ou até que a substância tenha sido degradada, neutralizada ou diluída. Peixes pequenos,

usualmente, morrem primeiro, e os peixes afetados têm, freqüentemente, convulsões, perda de equilíbrio ou outros sinais de intoxicação (ver Capítulo 4).

Uma checagem rápida das características limnológicas ou da qualidade da água trará informações úteis. Se as algas estão vivas e florescem, mas o zooplâncton e os insetos estão mortos ou ausentes, deve-se suspeitar de inseticida como uma causa potencial. Por outro lado, a presença de algas mortas ou morrendo, mas o zooplâncton vivo, sugeriria que

a substância pudesse ser um herbicida. Se ambos os tipos de plâncton estão mortos, morrendo, ou ausentes, um ácido, um álcali forte, metais pesados, ou outro tipo de substância altamente tóxica deve ser suspeito.

Uma revisão das informações acima deve permitir ao investigador alcançar um julgamento da possível causa da morte de peixes, a guia de decisões apropriadas para o curso de ações a serem seguidas e os tipos de amostras a serem feitas. Detalhes específicos, olhando procedimentos a seguir, são dados nos capítulos seguintes, relacionados a cada tipo de causa.

Investigação Local

A investigação de uma mortandade de peixes deve ser conduzida como se fosse uma investigação forense. Os dados coletados devem ser adequados

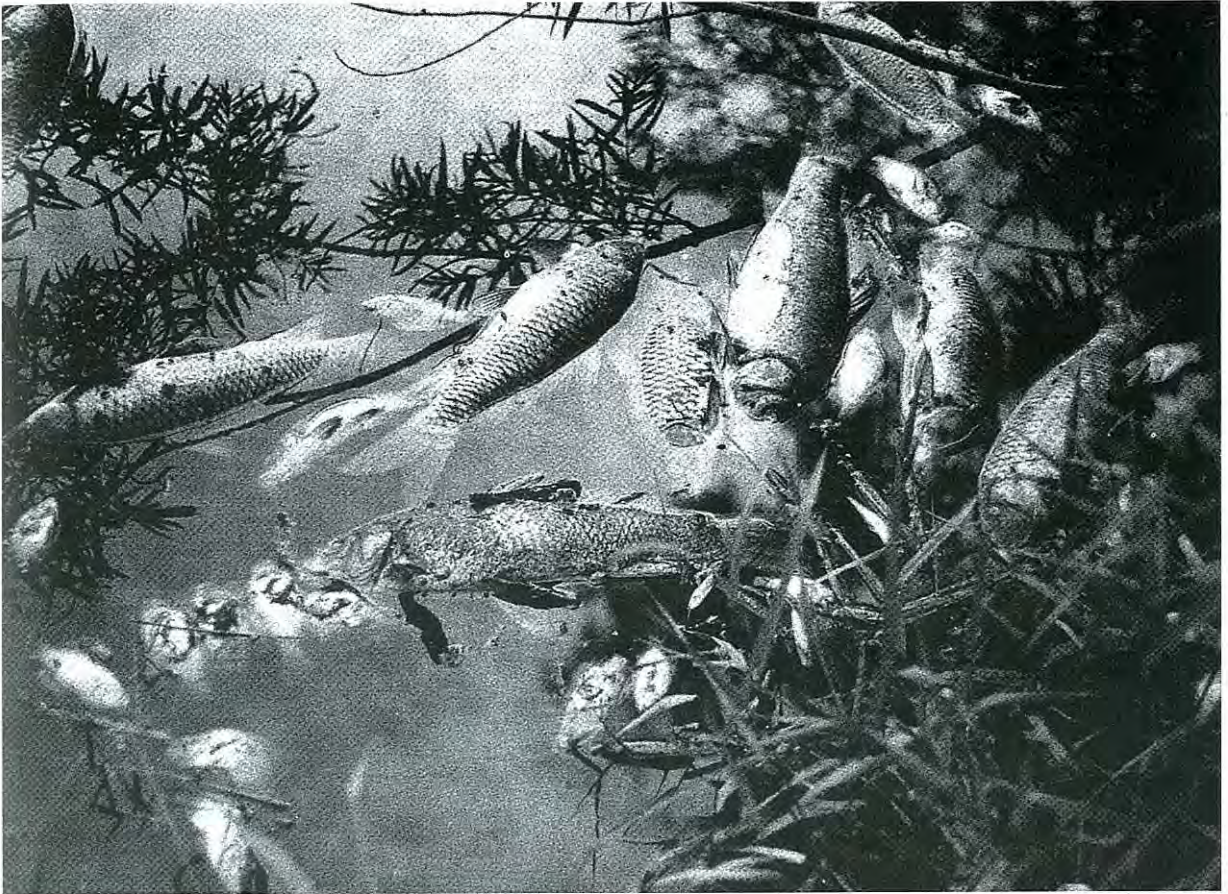
para responder três questões básicas:

- Qual é a maneira da morte - natural ou induzida?
- Qual foi o mecanismo da morte – intoxicação, asfixia ou septicemia?
- O que causou a morte - como começou a sequência de eventos que levou à morte?

Coletas de peixes que foram afetados, mas que ainda não estão mortos, são importantes para a investigação da mortandade, mas às vezes elas nem sempre são possíveis. O tipo de análise a ser feita no peixe depende da observação e do relatório das circunstâncias da morte. Independente da suspeita da causa deve ser pesquisada, de preferência no local da coleta, a presença de parasitas. Se poluição industrial ou de agricultura forem suspeitas, análises químicas são necessárias, e amostras devem ser coletadas e preservadas.



Dados de qualidade física – química da água devem ser coletados tão logo seja possível após a chegada dos investigadores no local da morte de peixes.



Substâncias altamente tóxicas ou altas concentrações de contaminantes menos tóxicos comumente matam peixes de todas as espécies e tamanhos.

Quando a suspeita é de uma descarga de esgoto industrial ou municipal, amostras de água devem ser coletadas acima e abaixo do ponto do acidente, como descrito no Capítulo 4. Os gerentes das indústrias ou outros responsáveis devem ser contatados imediatamente para informá-los do problema, para se obter informação sobre os possíveis conteúdos do efluente e detalhes de operação da indústria (particularmente logo antes da morte), e para solicitar o acesso à propriedade. Isto dá à indústria a oportunidade de parar ou corrigir a descarga, caso seja responsável. Acidentes com transporte devem ser tratados da mesma forma, começando com o contato com o transportador, remetente ou expedidor, para determinar quais produtos químicos estão envolvidos, e quais doenças em potencial estão associadas.

As mortes devido ao uso de produtos químicos na agricultura ou em áreas de reflorestamento são difíceis de diagnosticar. O escoamento superficial dos campos agricultáveis e das aplicações dos pivôs centrais pode alcançar os corpos d'água pelas valas ou por outros caminhos. Este tipo de mortalidade é raramente associado com descargas poluentes óbvias. A checagem de informações, observando as práticas agrícolas e de reflorestamento na área, pode sugerir substâncias tóxicas a serem analisadas. As amostras de água tomadas devem incluir os sistemas de drenagem que alimentam a área da mortalidade.

Observações e amostras não devem se limitar ao peixe e à água. Muitas substâncias tóxicas afetam também outras formas de vida. Algas, zooplâncton, organismos bentônicos, outros vertebrados aquá-

tos, e mesmo raízes devem ser examinados para identificar sinais de intoxicação e efeitos letais.

Os mecanismos de morte natural podem ser facilmente determinados, mas as causas fundamentais podem não ser imediatamente descobertas. A investigação das mortandades por não poluentes não deve parar com a identificação de um agente infeccioso ou uma determinação de depleção de oxigênio. Por exemplo, baixos níveis de vazão de uma represa de acumulação podem ser a causa de um aumento de temperatura de água em rios a jusante da barragem, e assim, ser a causa primeira de morte de peixes. A identificação destas situações pode levar a modificações da vazão da água, por meio de alterações do manejo da indústria, para prevenir perdas futuras.

A documentação deve sempre ser precisa e consistente. Os locais devem ser claramente identificados. Desta forma, podem ser visitados para se obter amostras adicionais, caso seja necessário checar qualquer condição física ou realizar testes toxicológicos. Todas as amostras devem ser claramente marcadas, para não haver nenhuma confusão quanto ao local onde foi coletada, quando, como, quem coletou e para quem elas foram coletadas. A cadeia de vigilância para todos os dados e amostras começa com o investigador no local, e deve continuar em todos os testes ou exames que podem ser conduzidos, até que o caso seja resolvido.

Cada agência deve fazer uma estimativa do número de peixes perdidos, independente da causa da morte. Mas, se houver razão para acreditar que



Alguns peixes mortos, foram afetadas somente uma ou duas espécies. Neste incidente, somente peixes da espécie "Sunfishes" morreram.

uma compensação ambiental deve ser pensada, ou se houver uma possibilidade de processo, uma estimativa válida da magnitude da mortandade deve ser feita. Um guia recomendado para este propósito é Special Publication no. 13 of American Fishery Society (1982).

Chave Dicotômica para Investigação de Mortandade de Peixes

Depois da inspeção visual inicial da cena, um investigador pode, às vezes, levantar algumas hipóteses sobre a causa da mortandade. Usando um processo de eliminação baseado nas evidências à mão, certos tipos de causas podem ser altamente improváveis. Uma chave dicotômica é apresentada abaixo como exemplo de como se deve proceder. Esta chave é oferecida como uma ferramenta, não como uma referência definitiva para avaliação da mortandade. As oportunidades para usar a chave e se chegar a uma conclusão presumível, levando-se em consideração as causas das mortandades de peixe estão descritas no Capítulo 13. Nele são descritas sete histórias como ajuda para os investigadores testarem as suas habilidades em avaliar as informações disponíveis no local das investigações. Embora o processo possa ser o mesmo para lagos, reservatórios, rios e estuários, a maioria dos dados utilizados é de mortandade de peixes em reservatórios. Em rios, onde evidências locais podem ser transitórias por causa da vazão, o investigador deve fazer uma checagem a jusante, para reconstruir a cena.

Escolha uma opção em cada alternativa e siga a sua orientação.

1. a) A mortandade ocorreu em menos de 24 horas. (passe para o nº 2)
b) Não conhecida a hora da ocorrência, ou a morte continua após as 24 horas. (vá para o nº 16)
2. a) Morte ocorreu entre meia noite e o amanhecer. (passe para o nº 3)
b) Morte ocorreu em outras horas diferentes da noite e amanhecer. (vá para o nº 8)
3. a) Água com cor escura e cheiro de mofo ou odor de couve podre. (vá para o nº 4)
b) Água com cor e odor normais. (vá para o nº 6)
4. a) Alguns peixes vivos. (vá para o nº 5)
b) Todos os peixes mortos. (vá para o nº 16)
5. a) Peixes grandes mortos, alguns peixes pequenos mortos. (vá para o nº 6)
b) Peixes pequenos mortos, alguns peixes grandes vivos. (vá para o nº 18)
6. a) Oxigênio dissolvido < 2mg/L. (vá para o nº 7)
b) Oxigênio dissolvido > 2mg/L. (vá para o nº 9)
7. a) Células de algas ausentes ou mortas se presentes. (vá para o nº 8)
b) Presença de algas vivas. (vá para o nº 10)
8. a) Células de algas mortas em abundância, depleção de oxigênio devido à superpopulação.
b) Células de algas ausentes, depleção de oxigênio devido à substâncias algicidas.
9. a) A morte ocorreu entre às 9 e 17 horas (vá para o nº 10)
b) A morte ocorreu em horários diferentes dos anteriores (vá para o nº 23)
10. a) pH > 9 (vá para o nº 11)
b) pH < 9 (vá para o nº 14)
11. a) Oxigênio dissolvido alto, frequentemente saturado ou próximo do saturado. (vá para o nº 12)
b) Oxigênio dissolvido baixo ou próximo do normal para temperaturas muito altas. (vá para o nº 13)
12. a) Bloom de algas azuis muito grande de uma ou mais espécies = bloom de algas tóxicas.
b) Bloom de algas dinoflageladas = bloom de algas tóxicas.
13. a) Vegetação morta, parecendo queimada. (vá para o nº 14)
b) Vegetação normal. (vá para o nº 15)
14. a) Níveis de amônia não muito altos, próximo do zero. (vá para o nº 15)
b) Níveis altos de amônia = derramamento de amônia anidro.
15. a) pH 6,0 a 7,0 = depleção de oxigênio.
b) pH abaixo de 6,0 = possivelmente, morte causada por pH baixo ou envenenamento por

metal pesado, drenagem de minas.

16. a) Alguns peixes ainda vivos. (vá para o nº 17)
 b) Todos os peixes mortos. (vá para o nº 23)
17. a) Peixes mortos seletivamente por tamanho. (vá para o nº 18)
 b) Peixes mortos não seletivamente por tamanho. (vá para o nº 25)
18. a) Pequenos peixes vivos e grandes, mortos. (volte para o nº 6)
 b) Pequenos peixes mortos e grandes, vivos. (vá para o nº 19)
19. a) Zooplâncton e insetos vivos. (volte para o nº 7)
 b) Zooplâncton e insetos mortos. (vá para o nº 20)
20. a) Algas vivas. (vá para o nº 21)
 b) Algas mortas ou ausentes = substância herbicida tóxica.
21. a) Peixe apresentando comportamento convulsivo ou aberrante. (vá para o nº 22)
 b) Peixe com aparência normal. (vá para o nº 24)
22. a) Nadadeiras em posição normal. (vá para o nº 23)
 b) Nadadeiras peitorais pressionadas para posições extremas para frente = pesticidas organofosforado.
23. a) Morte ocorrendo durante todo o dia = intoxicação por veneno.
 b) Mortes ocorreram entre 9 e 17 horas = bloom de algas tóxicas. (ver também o nº 11)
24. a) Aumento brusco de temperatura = morte por altas temperaturas (excedem o ΔT nas descargas, por exemplo, usinas açucareiras e usinas térmicas).
 b) Variações sazonais normais de temperaturas da água = temperaturas caem repentinamente, excedendo a tolerância térmica, por exemplo, perdendo as escamas na estação fria, morte geralmente restrita a uma espécie.
25. a) Seletividade de espécies, evidente. (vá para o nº 26)
 b) Sem seletividade de espécies = altos níveis de substâncias tóxicas.
26. a) Lesões evidentes no peixe. (vá para o nº 27)
 b) Nenhuma lesão no peixe = baixos níveis de substâncias tóxicas (volte para o nº 23).
27. a) Organismos com lesões a olho nu (vá para o nº 28).
 b) Nenhum organismo com lesão visível (vá para o nº 29).
28. a) Organismos tipo vermes, presos na superfície externa do peixe = sanguessugas (não causam mortes).
 b) Organismos semelhantes a copépodos presos a partes dos corpos = parasitas copépodos ou isópodos (conhecidos como matadores de peixes).
29. Lesões hemorrágicas = infecções bacterianas ou viróticas.
30. a) Lesões pequenas discretas no corpo ou aglomerados em tecidos. (vá para o nº 31)
 b) Lesões cinza, amarelas, ou brancas na área do corpo = infecções bacterianas ou viróticas.
31. a) Lesões ou músculo cheio com material celular = cistos causados por esporozoários, protozoários ou helmintos.
 b) Lesão ou músculo com gás. (vá para o nº 32)
32. a) Bolhas de gás presentes em guelras, nadadeiras e atrás dos olhos = bolhas devido à supersaturação com gás.
 b) Bolhas grandes com mau cheiro em lesões necrosadas = doenças bacterianas causadas por *Edwardsiella tarda*.



Exposição crônica a níveis subletais de contaminantes pode levar a formação de tumores ou outros efeitos adversos em peixes sobreviventes. A preocupação é maior quando melanomas, papilomas e outras anomalias, como deste “Black Bullhead” são vistos no peixe.

CAPÍTULO 4

Substâncias Tóxicas

Joseph B. Hunn e Rosalie A. Schnick

Introdução

Peixes mortos intoxicados por substâncias químicas enquadram-se em muitas categorias, cada uma acompanhada de uma evidência ambiental. Substâncias altamente tóxicas agem rapidamente e causam mortandades abruptas e extensas. Alguns produtos químicos matam plantas e animais causando efeitos dramáticos sobre o meio ambiente. Alguns compostos podem afetar somente plantas, animais, certas espécies ou tamanhos de peixes. Mortes associadas com estas substâncias podem ser abruptas, progressivas ou prolongadas, e podem disparar uma cadeia de mudanças ambientais. Se a substância tóxica entra progressivamente no ecossistema em níveis subletais, por um longo tempo, os efeitos no meio ambiente são mais sutis. Mortes de peixes associadas a essas mudanças podem aparecer em épocas do ano, inesperadamente, ou um tempo após as descargas terem terminado.

Respostas Biológicas às Substâncias Tóxicas

As diferentes espécies de peixes variam em sua suscetibilidade a substâncias tóxicas. A menos que a substância seja altamente tóxica ou a concentração seja tão alta que virtualmente todos os peixes sejam mortos logo após o contacto, uma progressão de seletividade entre os peixes é usualmente evidente. Como as substâncias tóxicas podem matar toda a biota, é importante checar também se outros organismos como algas, zooplâncton, caramujos, vermes de areia, insetos, caranguejos, camarões, sapos, tartarugas ou cobras estão ainda vivos. Frequentemente, algumas espécies são menos sensíveis a tóxicos que outras, pelo menos, no primeiro estágio da mortandade.



Um peixe morto é algumas vezes o resultado de introdução de muito tempo, crônico de material tóxico. O tambore de 55 galões mostra aqui o conteúdo de material tóxico que foi jogado fora por muitos anos.

A menos que a substância seja um herbicida ou algicida, o OD, pH, e outras características químicas da água vão parecer normais. Se a substância mata plantas também, o quadro pode se tornar complicado por indicações confusas, como baixa de oxigênio, baixo pH, alto CO₂ e algas morrendo. O observador deve estar alerta e considerar todas as evidências, para determinar a causa real da morte de peixes.

Uma rede de informações é necessária, antes que o investigador possa determinar se a substância foi

ou não responsável pela morte dos peixes. Evidência usada para fazer esta determinação deve vir de investigações locais e análises de amostras feitas em laboratório. As informações coletadas em observações preliminares devem incluir os seguintes itens:

Peixes

- Taxa de mortalidade abrupta e a maioria dos peixes foi morta em 24 horas.
- Peixes pequenos morreram primeiro.
- Algumas espécies foram afetadas mais rapidamente que outras, embora todos os peixes tenham morrido.
- Mudanças no comportamento foram indicativas de intoxicação por veneno (Tabelas 4.1 e 4.2).

Invertebrados

- Zooplâncton morto, morrendo ou ausente (suspeita de envenenamento por inseticida).
- Número de organismos bentônicos bem reduzido com uma marcada mudança em composição de espécies.
- Caranguejos, camarões e vermes mortos, morrendo ou ausentes.

Outros animais

- Sinais de envenenamento observados entre outros vertebrados (exemplo, sapos, tartarugas, cobras).
- Invertebrados (exemplo, caramujos) mostram sinais de envenenamento.

Algas

- Algas vivas e normais.
- Algas ausentes ou mortas, suspeita de envenenamento por herbicidas.

Tabela 4.1 - Algumas observações de comportamento de peixes e características químicas da água associadas à mortandade de peixes (modificada de Davis, 1986)

| OBSERVAÇÕES DA QUÍMICA DA ÁGUA | POSSÍVEIS CAUSAS |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Peixes grandes vindos à superfície e inspirando ar; baixo oxigênio dissolvido. Peixes pequenos vivos e normais. | Depleção de oxigênio dissolvido causado por excesso de matéria orgânica, por esgoto, pecuária, irrigação, vazamento de fábrica, morte de algas após muitos dias de calor, calma e tempo nublado. |
| Peixes grandes vindos à superfície e inspirando ar na presença de oxigênio dissolvido normal. | Pode ser o mesmo que acima, mas, houve tempo suficiente para reoxigenar a água. Amônia também pode provocar essas características; procure por drenagem de pecuária. |
| Peixe nadando irregularmente e nadando no sentido dos tributários para evitar a poluição. | Normalmente, descargas de esgoto com metais pesados e químicos ou efluentes de estações de tratamento. |
| Peixes morrendo após fortes chuvas. | Podem ser pesticidas ou herbicidas, agrotóxicos que foram lavados de campos agrícolas adjacentes; um derramamento descarregado de equipamentos de spray ou químicos de uma operação aérea. |
| Óleo na água. | Perfuração e operações de refinarias; rompimento de oleodutos na área; descarga de lavagem de barcos. |
| Margem e fundo cobertos com substâncias alaranjadas; altas condutividades. | Perfuração de poços de petróleo; procure por água salobra no córrego. |
| Baixo pH, água cor laranja desmaiado, mas boa transparência da água. | Descarga de ácido de operações de minas. |
| Peixe superexcitado, movimentos rápidos seguidos de morte; peixe tentado nadar para a margem. | Altos níveis de amônia ou pH baixo. |
| Altos níveis de cloro, alta condutividade, altas salinidades e alta osmose em águas não salinas. | Possível retorno de águas de irrigação que são hiperosmóticas para o peixe. |

Tabela 4.2. *Comportamento de peixes associados com o envenenamento de inseticidas (modificado pela Dpto. De Controle de Meio Ambiente e Saúde da Carolina do Sul, 1979).*

| Organoclorado | Organofosforado |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sistema nervoso central desordenado. | Letargia. |
| Aumento da taxa de oxigenação. | Perda do equilíbrio. |
| Movimentos, rápidos irregulares das nadadeiras e do corpo. | Escuro, frequentemente avermelhado, descolorida, hemorragias nos músculos e abaixo da nadadeira dorsal. |
| Movimentos irregulares, nadando descoordenadamente com movimentos espasmódicos, convulsões e rápidos. | Hipersensibilidade – o peixe assustado começa a nadar rapidamente em círculos. |
| Aumenta a sensibilidade a estímulos externos. | Tremores e convulsão. |
| Muito excitados. | Extensão involuntária das nadadeiras peitorais e do opérculo para uma posição o mais para frente possível. |
| Perda de equilíbrio com períodos sucessivamente maiores de imobilidade, até que os movimentos da respiração cessem. | Anormalidades na espinha vertebral. |

Variações Químicas Relacionadas às Substâncias Tóxicas

A toxicidade de uma substância se refere ao seu potencial de causar um efeito nocivo em um organismo vivo. A toxicidade se manifesta de acordo com a concentração e duração de exposição. Efeitos agudos ocorrem, rapidamente, como o resultado de uma exposição rápida a uma relativa alta concentração de uma substância tóxica. Geralmente, efeitos agudos são muito severos, e usualmente incluem mortalidade (Rand e Petrocelli, 1985). Entretanto, a morte de peixes pode ser também induzida pela entrada de



A Foto superior. Cladocerans como *Bosmina longirostris* são altamente sensíveis a substâncias tóxicas. Sua presença ou ausência fora da área afetada na zona de mortalidade é uma pista valiosa das possíveis causas da morte. *Foto inferior.* Rede de plânctons é usada para a coleta de zooplâncton para checar efeitos tóxicos.

níveis subletais de substâncias tóxicas, através da cadeia trófica. Essas mortes não são agudas, e não ocorrem em uma época específica do ano ou afetam um estágio de vida particular.

Frequentemente, a introdução de substâncias tóxicas não causa mudanças na química da água, mas pode deixar resíduos na água, no sedimento ou nos tecidos animais. Esses materiais devem ser checados, porque os resultados darão informações significativas, e podem prover a primeira evidência de que uma substância tóxica está envolvida. Preliminarmente as análises devem atender as seguintes informações:

Água

- A química da água é normal para a estação e região
- Alguns constituintes da água estão anormais e em uma faixa considerada tóxica
- Uma substância tóxica foi detectada em quantidades conhecidas como tóxicas
- Diferenças significativas existem na composição química da água entre o local da morte e o local de referência (controle)
- Testes de toxicidade local indicam que a água do local da morte está tóxica, diferente do local de referência

Sedimento

- Uma suspeita de intoxicação esta presente em sedimentos do local da morte
- A suspeita de intoxicação não foi encontrada em sedimentos do local de referência ou esta presente em iguais ou menores quantidades no local de referência

- Níveis de toxicidade química no local da morte estão maiores que aqueles da amostras anteriores da área (Kelly e Hite 1984)

Tecidos

- Atividade de enzimas (e.g. acetilcolinesterase no cérebro, ATPase em guelras) está reduzida em peixes da área de morte de peixes
- Concentrações de metais tóxicos (e.g cádmio, cobre, mercúrio, zinco) em guelras estão maiores do que em peixes do local de morte do que nos locais de referências
- Concentrações da substância tóxica nos tecidos dos peixes são conhecidas como tóxicas

Investigação de morte de peixes suspeita de ter originado de substâncias tóxicas devem prosseguir como de causa desconhecida. Todos os fatores devem ser checados ou eliminados exceto que haja uma evidência de certas causas não estão envolvidas. As investigações devem proceder por um processo de eliminação.



O uso de sondas dá determinações rápidas e sensíveis da química da água.

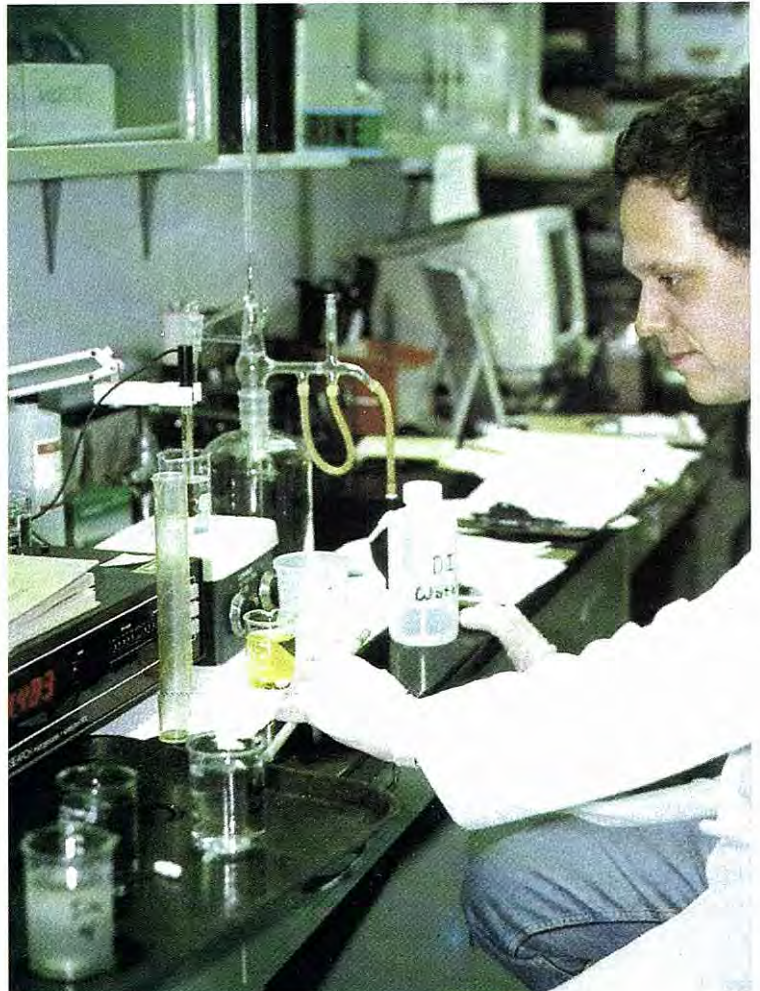
Diagnósticos dos Efeitos Tóxicos

Quando as inspeções preliminares de campo estiverem completas, e a suspeita é de ser uma substância ou substâncias tóxicas, o próximo passo é estabelecer se o material suspeito estava presente em quantidade suficiente para ser tóxico para o peixe. Uma análise completa da química da água deve ajudar a excluir outras possíveis causas, e identificar os possíveis fatores contribuintes dos agentes químicos suspeitos. Análises que sempre devem ser feitas, tão logo as possíveis causas forem listadas, estão relacionadas, a seguir, em ordem de importância como Prioridade I. Outros desejáveis, que podem também ser feitos, são listados como Prioridade II.

Análises de Rotina da Química da Água

| Prioridade I | Prioridade II |
|--------------------------|--------------------------------------|
| Oxigênio dissolvido (OD) | Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) |
| pH | Cálcio |
| Temperatura | Carbono Orgânico Total |
| Amônia, Nitrogênio | Cloreto |
| Alcalinidade | Demanda Química de Oxigênio |
| Cor | Dureza |
| Condutividade | Ferro total |
| Nitrito | Magnésio |
| Nitrato | Manganês |
| Sólidos suspensos totais | Fosfato total |
| Salinidade | |
| Sulfato | |
| Turbidez | |

Variações de pH causadas pela descarga de contaminantes podem drasticamente alterar a disponibilidade ou atividade de substâncias tóxicas. Equipamentos padrão, como este phmetro digital, produzem dados acurados.



Os resultados das análises das amostras feitas para a Prioridade I podem ser usados para determinar se a química da água está dentro dos padrões normais. Por exemplo: baixo oxigênio e altos níveis de amônia. Se todas as características estão dentro das faixas normais, será necessário fazer as análises de Prioridade II. Se os valores resultantes das análises das amostras forem normais para as duas listas, é uma indicação forte de que a morte foi causada por substâncias tóxicas, não usualmente encontradas nas águas pesquisadas.

Mortandade de peixes pode ocorrer em locais onde os fatores ambientais parecem estar normais: como as condições químicas da água são favoráveis, oxigênio dissolvido apresenta e altas concentrações indicando boa qualidade de água; os peixes estão normais em cor e condições físicas e sem lesões. A taxa de mortalidade pode ser baixa, mas contínua. Geralmente, espécies predatórias ou onívoras com mais de 2 anos são os únicos peixes afetados, e peixes pequenos de espécies forrageiras podem continuar vivos e bem.

Esta mortandade misteriosa é mais comumente vista no final do outono ou início do inverno. Dependendo da latitude, no nosso caso (Brasil), no início do verão.

Esta mortandade sazonal frequentemente ocorre em águas adjacentes a locais onde produtos químicos são estocados ou aplicados. Derramamentos, pulverizações acidentais ou a enxurrada podem introduzir níveis subletais de agrotóxicos no ambiente, que, então, penetram na cadeia trófica por biomagnificação. Em mortandades desse tipo, a chave indicadora é que somente peixes predadores são afetados, ao passo que os mais jovens e os forrageiros desenvolvem-se bem. As condições da água se apresentam excelentes.

As causas mais comuns dessa morte inexplicável é uma exposição crônica a níveis subletais de agrotóxico. Embora a exposição diária seja muito baixa, os peixes acumulam agrotóxicos nas gorduras a níveis muito mais altos que uma única dose aguda. Assim que a entrada de alimentos é igual ou excede a quantidade de energia requerida, o peixe continuará a



As perdas de grandes predadores podem indicar uma morte de peixes causada por bioamplificação através da cadeia alimentar. Nestas mortes, os peixes jovens de cada espécie podem sobreviver. (Foto Cortesia do Departamento de Conservação do Missouri)

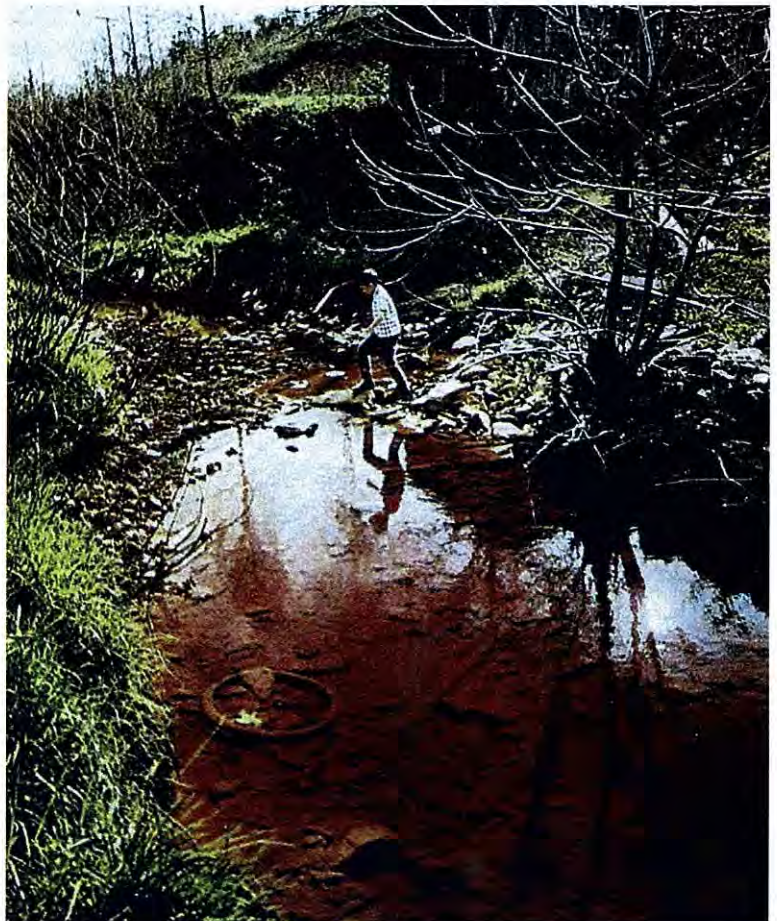
funcionar normalmente, utilizando suas reservas para manter-se. Quando as temperaturas caem no início do inverno, o peixe necessita de mais energia para sobreviver. Se os peixes possuírem altos níveis de resíduos de agrotóxicos na gordura, durante o processo de mobilização da reserva de energia, índices letais de agrotóxicos podem ser liberados para a corrente sanguínea. Embora os sinais de intoxicação sejam muitas vezes visíveis, o peixe parece fraco, letárgico, ou inconsciente. O diagnóstico da causa da morte requer a análise de amostra de sangue e de tecidos do cérebro, para detectar resíduos de agrotóxicos. Embora a análise da gordura ajude, os resultados podem estar enganados, porque os resíduos estocados podem não estar relacionados à morte.

Sob certas circunstâncias, o selênio, elemento

químico requerido na dieta normal, entra na cadeia trófica em quantidades excessivas. Concentrações em águas com $3 \mu\text{g/L}$ de selênio têm sido detectadas em sistemas lênticos. Por exemplo: em reservatórios de resfriamento de usinas termelétricas e na drenagem de águas de certos produtos agrícolas. Embora um ovário intoxicado com selênio possa ser fertilizado, o peixe jovem não consegue sobreviver, levando a um eventual colapso da população (LemLy, 1985; Baumann e Gillespie, 1986).

O EPA (1986) publicou rápidos sumários de toxicidade aguda e crônica para águas doces e salgadas para todos os contaminantes para os quais a agência desenvolveu critérios e recomendações. Esses critérios, que estão resumidos no Apêndice B, são os que se espera que protejam a vida aquática.

Enxurradas de efluente de mineração de carvão podem causar morte de peixes. O pH baixo em drenagem de minas ácidas é usualmente agente causador de morte de peixes. Note o precipitado avermelhado e a ausência de vida aquática na água.



Fatores que Modificam a Toxicidade

Estudos de laboratório e de campo têm mostrado que muitos fatores influenciam a toxidez de substâncias químicas em peixes. A origem dos fatores pode ser biótica e abiótica (Sprague, 1985; Mayer e Ethersieck, 1986). Fatores bióticos incluem espécie, estágio de desenvolvimento e tamanho, estado de nutrição, saúde geral e parasitismo. Fatores abióticos incluem características da água (exemplos: temperatura, pH, dureza, alcalinidade, osmolaridade, oxigênio dissolvido, salinidade e carbono orgânico dissolvido), possivelmente ligadas a materiais em suspensão ou dissolvidos, e formulação de agrotóxicos.

A dureza da água tem pouco efeito na toxidez de compostos orgânicos. Entretanto, o aumento da dureza da água (Ca e Mg) pode reduzir a disponibilidade de metais, como Al, Cd, Hg, e Pb (Hunn 1985; Mance, 1987). Parâmetros como dureza, alcalinidade e pH influenciam na disponibilidade de metais como o Cu (Sprague, 1985). Concentração de íons de hidrogênio (pH) influencia a toxidez de substâncias químicas que ionizam. Por exemplo: a toxidez da amônia, cianeto e sulfeto de hidrogênio são influenciadas pelo pH da água. Moléculas não ionizáveis, usualmente, são mais lipossolúveis que formas ionizáveis, e assim penetram na membrana mais facilmente (Hunn e Allen, 1974; Spacie e Hamelink, 1985). Como observado por Mayer e Ethersieck, 1986 em um estudo de 410 substâncias químicas, o pH afetou a toxidez de apenas 20% dos testados, mas causou maiores mudanças do DL50 de 96 horas do que os outros fatores químicos examinados.

Os resultados das análises das amostras de água testadas para uma substância química suspeita devem dar positivo se a substância está presente. As análises químicas devem incluir as concentrações encontradas, limites de detecção e de confiança, e as informações do controle de qualidade, que ajudarão a determinar se as análises são acuradas ou não. Comparando os resultados do controle ou referência com os do local do acidente, deve haver uma diferença significativa nas concentrações das substâncias. Se não existe diferença, muitas possibilidades devem ser considera-

das: 1 – o local de referência não é um bom controle; 2 – as substâncias químicas estão se movendo para jusante (em águas correntes); 3 – os compostos foram removidos por se sedimentar; 4 – a substância foi biotransformada, degradada ou volatilizada; ou 5 – uma combinação dessas possibilidades.

Keup (1974) listou oito fatores para o investigador considerar e ficar atento para interpretar uma evidência no local: 1 – velocidade da água do rio; 2 – diluição; 3 – mistura lateral; 4 – estação do ano e temperatura; 5 – características do habitat; 6 – reações lentas em peixes e invertebrados; 7 – sinergismos e antagonismos; 8 – material em suspensão. O tempo de diluição e a velocidade de dispersão das substâncias químicas podem ser estimados depois do acontecimento, jogando-se tinta para medir. Mas, só se as condições forem similares aos do dia da mortandade. Para outras informações, de como conduzir este estudo, ver Slifer (1970).

Os dados de toxidez de testes agudos são usualmente anotados como DL50 em mg/L. Um DL50 é a concentração estimada de uma substância na água, que é letal a 50% dos organismos testes após exposição de um período definido de tempo (exemplo, 24; 48; 96 horas). Assim, quanto maior o valor do DL50, menor a toxidez da substância para o peixe; e quanto menor o valor, maior a toxidez da substância para o peixe (96 horas DL50). Pode-se categorizar da seguinte forma:

| <u>Taxa de toxidez</u> | <u>DL50 96 horas</u> |
|-------------------------|----------------------|
| Praticamente não tóxico | 100 – 1.000 mg/L |
| Levemente tóxico | 10 - 100 mg/L |
| Moderadamente tóxico | 1 – 10 mg/L |
| Altamente tóxico | 0,1 – 1,0 mg/L |
| Extremamente tóxico | Menos que 0,1 mg/L |

É importante estabelecer algumas medidas de toxidez de um local. Uma medida de pH válida pode ser suficiente para estabelecer se a concentração íons de hidrogênio era letal (Tabela 4.3). Em águas extremamente leves, as determinações de pH devem ser feitas com um eletrodo especial, desenhado para águas de faixas iônicas baixas. A maioria das substâncias é tóxica para os organismos se a concentração é alta o bastante e o tempo de exposição também.

Tabela 4.3. *Influência da adição de materiais alcalinos ou ácidos no pH de águas receptoras de vários graus de dureza*

| Dureza total da água | pH Resultante | | | | |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| | 3,0 – 5,0 | 5,0 – 6,0 | 6,0 – 9,0 | 9,0 – 11,0 | >11,0 |
| Extremamente leve 0-9 mg/L | pH < 5,0 pode ser tóxico dependendo da espécie. | Alumínio é muito tóxico para peixes; outros metais como Cádmio, Cobre, e Zinco também são tóxicos. | pH 8 ou maior: sugere bloom de algas ou entrada de substâncias alcalinas. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. |
| Muito leve. 10-39 mg/L | Indica entrada de substâncias ácidas. | Normal ou entrada não muito grande de substâncias ácidas. | pH normal. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. |
| Leve. 40-150 mg/L | Indica entrada de substâncias ácidas e possibilidade de toxidez de CO ₂ . | Indica entrada de substâncias ácidas. | pH normal. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. |
| Duro. ^a 160 – 279 mg/L | Indica entrada de substâncias ácidas e possibilidade de toxidez de CO ₂ . | Indica entrada de substâncias ácidas. | pH normal. | Indica entrada de substâncias alcalinas. | Indica entrada forte de substâncias alcalinas. |
| Muito duro. ^a 280-399 mg/L | Indica entrada forte de substâncias ácidas. | Indica entrada de substâncias ácidas. | pH normal. | Indica entrada de substâncias alcalinas. | Indica entrada de uma grande quantidade de substâncias alcalinas. |
| Extremamente duro. ^a > 400 mg/L | Indica entrada de substâncias ácidas. | Indica entrada de substâncias ácidas. | pH normal. | Normal em águas alcalinas. | Indica entrada de substâncias alcalinas. |

^aNa medida que a dureza aumenta, a toxidez dos metais decresce.

Morte de peixes devido a inseticidas pode destruir toda a ictiofauna e invertebrados, mas não tem efeito nas plantas (como mostrado aqui pela *Lemna* entre os peixes mortos)



Embora os dados obtidos na exposição de 24 horas sejam mais adequados para uso de avaliação de situação de morte aguda, dados de testes de 24; 48 e 96 horas podem também ser usados para estimar a toxidez de uma substância suspeita de causar morte. O intervalo de confiança estabelece uma faixa para o DL50 e é útil em determinar se as concentrações químicas encontradas no campo são altas o suficiente para causar toxidez aguda (Mayer e Ellersieck, 1986).

Informação de Fontes de Toxidez

Uma das melhores fontes de informação em toxidez foi desenvolvida desde 1970 e é base de dados AQUIRE do EPA. Ela inclui informação de toxidez aguda e crônica, bioacumulação, efeitos subletais, informação química da substância, detalhes de teste no organismo, estudo de protocolos, detalhes dos desenhos experimentais, e resultados. Referências bibliográficas de fontes originais estão incluídas. AQUIRE é um dos Sistemas de Informações Químicas patrocinados pelo Escritório de Substâncias Tóxicas do EPA. Os dados focam nos efeitos tóxicos de substâncias químicas em organismos de água doce, como mamíferos, aves, e bactérias. Em julho de 1988, mais ou menos 68.000 registros estavam disponíveis em mais que 4.000 químicos.

As seguintes fontes de Referência para informação sobre toxicidade: McKee and Wolf (1963); EPA (1973, 1977, 1980-1989, 1983-1989, 1986); Thurston ET AL. (1979); Alabaster and Lloyd (1982); Rand and Petrocelli (1985); U.S. Department of the Interior (1985-1989) Mayer and Ellersieck (1986); Mance (1987); Mayer (1987); and Weed Science Society of America (1989).

Sinais Clínicos de Intoxicação

Poucos sinais relacionados ao envenenamento de peixes são específicos para cada composto ou grupo de composto. Por exemplo, se uma quantidade adequada de oxigênio está disponível na água na hora da exposição, o envenenamento por cianeto resulta em

brânquias brilhantes, vermelhas e ensanguentadas, porque o oxigênio disponível não pode ser usado à nível dos tecidos. Essa condição pode levar um investigador a assumir que as condições da água eram normais. Entretanto, haverá hemorragias e coágulos de sangue no fígado e nas vísceras.

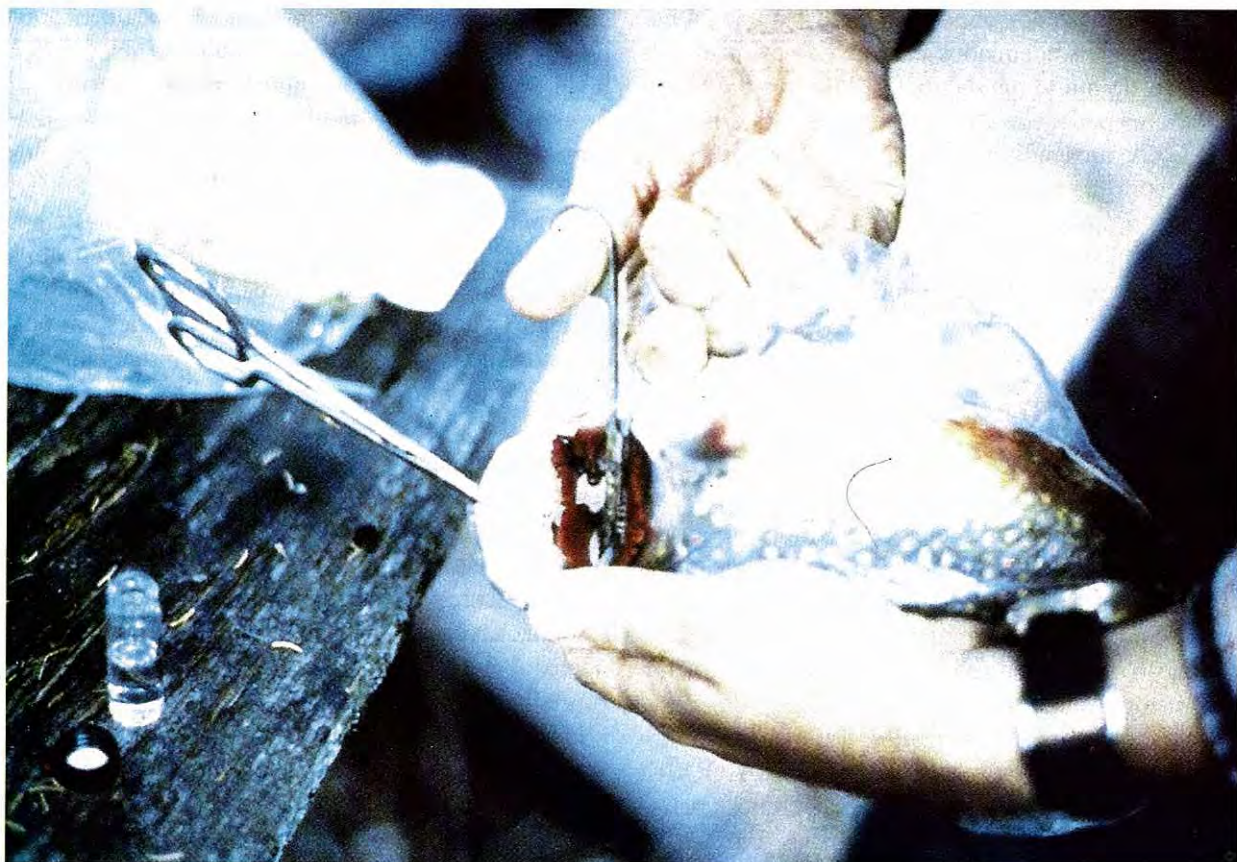
Compostos inibidores de acetilcolinesterase (exemplo: organofosforado e carbamatos) reduzem a atividade de colinesterase no cérebro, induzem uma posição frontal para as nadadeiras peitorais em peixes moribundos e podem induzir a anormalidades da espinha vertebral.

Altas concentrações de nitrito podem induzir a metahemoglobinemia, uma condição que é caracterizada pelo sangue marrom. Entretanto, sulfeto de hidrogênio pode também levar a hemoglobina a produzir a sulfohemoglobina, que pode resultar em sangue escuro, cor de chocolate. Exposição a sulfeto reduz níveis de oxidase citocroma em tecidos de peixes e aumenta os níveis de tiosulfato no sangue, rins e baço.

Os sinais clínicos listados são observados em peixes moribundos ou logo após a morte, pois eles desaparecem rapidamente. Outros sinais, que tem sido observados em peixes mortos por intoxicação, estão listados na Tabela 4.4. Deve ser observado que os sinais listados e as respostas de comportamento (Tabelas 4.1 e 4.2) não são o diagnóstico estrito da causa da morte, mas elas dão informações úteis no desenvolvimento das evidências.

Tabela 4.4. Sinais clínicos associados com toxicidade em peixes. (Modificado pelo Departamento do Interior dos EUA, 1970.)

| Descrição dos Sinais | Causa possível da morte |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Película fina e branca nas brânquias, pele, e boca. | Ácidos, metais pesados, trinitrofenol. |
| Epitélio das brânquias enlameadas. | Cobre, zinco, amônia, detergentes, chumbo e plantas tóxicas. |
| Entupimento das brânquias. | Turbidez e hidróxido férrico. |
| Brânquias vermelhas brilhantes. | Cianeto. |
| Brânquias escuras. | Fenol, nitrito, sulfeto de hidrogênio, baixa de oxigênio. |
| Hemorragia nas brânquias. | Detergentes. |
| Estômago azul. | Molibdênio. |
| Nadadeira peitoral virada para uma posição para frente. | Organofosforados, carbamatos. |
| Bolhas de gás (nadadeira, olhos, pele etc). | Supersaturação de gases. |



As guelras são delicadas, tecidos altamente sensíveis. Ferimentos ou outros danos causados pela corrosão ou tóxicos químicos são facilmente observáveis. Parasitas, bactérias, ou fungos podem também causar ferimentos nas guelras.

Coletas de Amostras das Substâncias Suspeitas

É um velho axioma que diz que o resultado da análise depende da amostragem feita (APHA et al. 1985). Quando uma substância tóxica é suspeita de causar morte de peixes, é importante que os coletores façam uma coleta correta, usando frascos apropriados, seguindo métodos de preservação e estocagem que são consistentes com as metodologias aceitas, e que envie as amostras de forma apropriada e prontamente. As seguintes seções discutem os procedimentos corretos para coleta, manipulação, estocagem e envio de amostras de peixes, água, sedimento, invertebrado e plantas para análise.

Um elemento essencial é um diário de campo no qual deve haver um para cada amostra coletada para análise, com seu número de identificação, local onde foi coletada, data e nome ou iniciais do coletor. Estes registros servirão de cópia para a identificação se as etiquetas das amostras ficarem danificadas ou se perderem, ou se alguma confusão houver sobre quando ou onde as amostras foram feitas.

Amostras de Peixes

Uma boa quantidade de peixes mortos há pouco tempo ou moribundos, de cada uma das espécies afetadas, deve ser coletada. Se possível, peixes saudáveis de mesma espécie e tamanho de áreas não afetadas devem ser coletados, para dar consistência aos dados. Os métodos que são usados para preservar as amostras devem ser sempre anotados na etiqueta. Para análise de agrotóxico ou outras substâncias tóxicas, o peixe deve ser lavado em água limpa, embrulhado em papel alumínio (com o lado fosco virado para dentro) e congelado o mais rápido possível. Para análise de metais e outros elementos, as amostras devem ser coletadas separadamente, colocadas em sacos plásticos e congeladas. Subamostra de tecidos (como cérebro, brânquias ou sangue), que são necessários para análises especiais, devem ser tomadas imediatamente após a amostragem, e congeladas em separado em frascos de vidro limpos. Análises especiais podem incluir medidas de atividades enzimáticas (exemplo: acetilcolinesterase em cérebro ou Na, K - ATPase em

tecidos de brânquias) ou metais em tecidos de brânquias (exemplo: cádmio, mercúrio, zinco ou cobre).

Tecidos para exames histológicos devem ser retirados de peixes moribundos, nunca de peixes mortos, nos quais mudanças já podem ter ocorrido. Amostras de peixes que tenham morrido há mais que 10 a 15 minutos não são consideradas adequadas. Amostras de tecidos para exames histológicos não podem ser congeladas. É imperativo que esses tecidos sejam fixados o mais rápido possível. Preferencialmente, colocar uma parte de tecido para cada 10 partes de solução fixadora. Uma solução de formol a 10% é fácil de ser conseguida, e é um bom fixador. Cheque com o histopatologista para saber qual a solução mais adequada e outras instruções e técnicas de fixação. Tecidos de peixe que foram preservados e fixados para exame histológico podem ser transferidos para estocagem em etanol 70%. Esse material pode ser mantido por um ano ou mais, caso a solução seja renovada periodicamente. Para maiores informações, consultar Morrison & Smith (1981) ou Yasutake (1987).

Para objetivos analíticos, é melhor coletar pequenas amostras do que uma grande amostra de peixe de cada espécie afetada. Os números coletados, a quantidade de tecido necessária e as técnicas de preservação dependem do tipo de análise a ser feita. As linhas gerais a serem seguidas são:

Análises inorgânicas

Por amostra: um mínimo de 3 peixes ou quantos forem necessários para completar 100 g de tecido do corpo, quantidade mínima para uma amostra; coletar 3 amostras de cada espécie em cada local.

Análises orgânicas

Por amostra: pelo menos três peixes ou o mínimo necessário para se ter 250 g de tecido do corpo; coletar três amostras de cada local.

Se a suspeita da morte é causada por um agente volátil, mais ou menos 100 g de tecido devem ser coletados, colocados em recipientes, selados e enviados congelados para análise.

Amostras compostas de três ou mais peixes devem ser embrulhadas separadamente em papel fino de alumínio e colocado em saco plástico, adequadamente etiquetado e congelado. Todo tipo de amostra deve ser congelado o mais rápido possível e mantido a - 20 °C ou menos, até ser analisado. Para uma

Amostras de sangue tomada dos peixes sobreviventes sempre dão idéias da natureza e identidade das substâncias tóxicas associadas com a morte de peixes.



O fígado é o local de maior desintoxicação ou biotransformação de substâncias tóxicas em peixes. Conseqüentemente é sempre analisado para resíduos de contaminantes suspeitos ou seus metabolitos.

mortandade grande com muitas espécies diferentes, o investigador deve selecionar as espécies a serem coletadas. As amostras devem incluir representantes de toda a cadeia trófica afetada. Por exemplo: herbívoros, onívoros, peixes forrageiros e predadores. É crítico que a mesma espécie de peixe (de preferência da mesma espécie e tamanho) seja amostrada da área controle ou referência da área da mortandade. O número e o tipo de amostras coletadas dependerão da extensão da mortandade, do número de espécies envolvidas, da multa, das instruções para as análises e do custo estimado para análise.

Coleta de Água

Após a análise dos parâmetros básicos como OD, temperatura, pH e condutividade, outras amostras de água devem ser feitas. No mínimo, devem ser feitas amostras na área e acima da área da mortandade. O tipo específico de análises e de coletas a serem feitas deve ser determinado, caso a caso, pelo investigador no campo. Antes de encher os frascos de amostragem, cada um deles deve ser lavado 2 ou 3 vezes com água a ser amostrada, a menos que o frasco contenha um agente preservativo ou de clorinante. Amostras de

água devem ser mantidas refrigeradas a 4 °C em frasco âmbar e estocadas no escuro. O número de amostras a serem feitas e os métodos a serem utilizados devem ser determinados de acordo com o laboratório que vai fazer as análises. Se não existe guia disponível, tantas amostras quanto necessárias devem ser feitas. Embora possa não ser necessário ter todas as amostras analisadas, talvez não seja possível coletar amostras viáveis em outra oportunidade. Antes de iniciar as coletas, as fichas devem estar preparadas e em mãos.

O volume mínimo necessário de água para as amostras varia de acordo com o tipo de análise a ser feita. Em geral, 1 litro de amostra é suficiente. É importante que estejam bem limpos, preparados para serem usados, para coletar e estocar as amostras. Em geral, amostras, para serem analisadas para compostos inorgânicos, podem ser feitas com garrafas de plásticos (polietileno ou equivalente) que tenham sido lavadas com ácido e enxaguadas com água destilada. Para preservação, as amostras feitas para análise de metal devem ser acidificadas para o pH 2 com ácido nítrico bidestilado. As amostras com suspeita de contaminação por agrotóxico ou outras substâncias orgânicas requererão frascos de vidro



Pequenas armadilhas podem ser usadas para coletar peixes sobreviventes do local da morte ou da área controle.

com tampas de teflon. Os frascos de vidro devem ter sido lavados com hexano e secados antes de serem usados. Se existe suspeita de contaminação com substâncias orgânicas voláteis, os frascos devem ser cheios até a boca e tampados, não deixando ar. Métodos recomendados de preservação e tempo de estocagem são mostrados na Tabela 4.5. As amostras propriamente estocadas, limpas e preservadas devem fazer parte da investigação da mortandade de peixes. Ampolas contendo quantidades conhecidas de ácido, para preservação de amostras de água, são encontradas no comércio.

A situação do local deve indicar, onde e quantas amostras devem ser coletadas. Um mínimo de amos-

tra deve ser feita dentro e fora da área investigada. O controle ou local de referência (fora do local de mortandade) deve ser sempre livre da influência da água suspeita de estar intoxicada. Em um riacho, uma amostra deve ser feita acima da área da mortandade, ou acima de qualquer local associado à mortandade. Se existir uma descarga de efluente suspeita, uma amostra do efluente deve ser coletada, tanto quanto amostras à jusante da desembocadura, para delinear a zona contaminada. Em rios mais largos do que 60 m, as amostras devem ser coletadas em dois ou mais pontos ao longo do rio, em um transecto. Em rios grandes, pode ser necessário coletar amostras a várias profundidades.

Tabela 4.5. *Resumo das exigências requeridas para as amostras de água^a (modificada e permissão para uso pela American Public Health Association et al. 1985).*

| Parâmetro | Frasco | Tamanho mínimo da amostra (mL) | Preservação | Tempo máximo de estocagem (d = dia, h = hora, m = mês) | |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------|
| | | | | Recomendado | Regulatório ^b |
| Acidez | P, V(B) | 100 | Refrigerada | 24 h | 14 d |
| Alcalinidade | P, V | 200 | Refrigerada | 24 h | 14 d |
| DBO | P,V | 1.000 | Refrigerada | 6 h | 48 h |
| Boro | P | 100 | não exigida | 28 d | 28 d |
| Bromato | P,V | | não exigida | 28 d | 28 d |
| Carbono orgânico | V | 100 | Analisar imediatamente; ou refrigerar e adicionar H ₂ SO ₄ pH<2 | 7 d | 28 d |
| Dióxido de Carbono | P, V | 100 | Analisar imediatamente | | |
| DQO | P, V | 100 | Analisar o mais rápido possível, ou adicionar H ₂ SO ₄ pH<2 | 7 d | 28 d |
| Cloro residual | P, V | 500 | Analisar imediatamente | 0,5 h | 2 h |
| Dióxido de cloro | P, V | 500 | Analisar imediatamente | 0,5 h | 2 h |
| Clorofila | P, V | 500 | 30 dias no escuro | 30 d | |
| Cor | P, V | 500 | Refrigerada | 48 h | 48 h |
| Condutividade | P, V | 500 | Refrigerada | 28 d | 28 d |
| Cianeto total | P, V | 500 | Adicionar NaOH para pH>12, refrigerar no escuro | 24 h | 14 d |
| Fluoreto | P | 300 | Sem exigências | 28 d | 28 d |
| Óleos e graxas | V, boca larga calibrado | 1.000 | Adicionar H ₂ SO ₄ pH<2, refrigerar | 28 d | 28 d |
| Dureza | P,V | 100 | Adicionar HNO ₃ para pH<2 | 6 m | 6 m |
| Iodo | P,V | 500 | Analisar imediatamente | 0,5 h | |
| Metais | P (A), V (a) | - | Para metais dissolvidos, filtrar imediatamente, adicionar HNO ₃ para pH<2 | 6 m | 6 m |
| Cromo 6 + | P (A), V (a) | 300 | Refrigerar | 24 h | 48 h |
| Cobre por colorimetria ^b | | | | | |

Continuação

| Parâmetro | Frasco | Tamanho mínimo da amostra (mL) | Preservação | Tempo máximo de estocagem (d = dia, h = hora, m = mês) | |
|---------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------|
| | | | | Recomendado | Regulatório ^b |
| Mercúrio | P (A), V (a) | 500 | Adicionar HNO ₃ para pH<2, 4 °C | 28 d | 28 d |
| Amônia | P, V | 500 | Analisar o mais rápido possível, ou adicionar H ₂ SO ₄ pH<2, refrigerar | 7 d | 28 d |
| Nitrato | P | 100 | Analisar o mais rápido possível, ou adicionar H ₂ SO ₄ pH<2, refrigerar | 48 h | 48 h |
| Nitrato e nitrito | P, V | 200 | Analisar o mais rápido possível, ou refrigerar, ou congelar a - 20° | 0 | 28 d |
| Nitrito | P, V | 100 | Analisar o mais rápido possível, ou refrigerar, ou congelar a - 20° | 0 | 48 h |
| Odor | V | 500 | Analisar o mais rápido possível, ou refrigerar. | 6 h | - |
| Agrotóxico | V (S), TFS- | | Refrigerar; adicionar 100 mg de Na ₂ S ₂ O ₃ /L se existir resíduo de cloro | 7 d | 7 d |
| Fenol | P, V | 500 | Adicionar H ₂ SO ₄ pH<2, refrigerar | a | 28 d |
| Oxigênio dissolvido | V, frasco de DBO | 300 | Analisar imediatamente, titulação pode ser adiada após acidificação. | 8h | 8h |
| Ozônio | G | 1.000 | Análise imediata | 0,5h | - |
| pH | P, V | | Analisar imediatamente | 2 h | 2h |
| Fosfato | V(A) | 100 | Para fosfato dissolvido, filtrar imediatamente; refrigerar; congelar a -10°C | 48 h | 48h |
| Salinidade | V, lacre | 240 | Analisar ou lacrar imediatamente | 6 m | |
| Sílica | P | - | Refrigerar, não congelar | 28 d | 28 d |
| Digestor de biogás | G, garrafa de gás | - | - | - | - |
| Sólidos | P, V | - | Refrigerar | 7 d | 7-14 d |
| Sulfato | P, V | - | Refrigerar | 28 d | 28 d |
| Sulfito | P, V | 100 | Refrigerar, adicionar 4 gotas de acetato de zinco 2 N/100mL | 28 d | 28 d |
| Sabor | V | 500 | Analisar o mais rápido possível; refrigerar | 24 h | - |
| Temperatura | P, V | - | Analisar imediatamente | - | - |
| Turbidez | P, V | - | Analisar imediatamente; estocar no escuro acima de 24 h | 24 h | 48h |

^a ver texto para detalhes. Para determinações não listadas, usar vidro ou plástico; de preferência refrigerar durante a estocagem e analisar o mais rápido possível. Refrigerar= estocar a 4°C, no escuro. P= plástico (polietileno ou equivalente); V= vidro; V (A) ou P (A)= lavado com 1 +1 HNO₃; V (B)= vidro, borossilicado; V (S)= vidro, lavado com solventes orgânicos; TFE = teflon.

^b U.S. Environmental Protection Agency, Proposed Rules, Federal Register o. 244, 18 dez 1979.

FONTE DE POLUIÇÃO SUSPEITA

Fig.4.1

Sugere locais para coleta de amostras relacionadas à morte de peixes nos quais somente uma fonte é suspeita. Os números nos círculos indicam aonde as amostras devem ser feitas para pesquisa de substâncias tóxicas. O local R é uma referência à montante da área afetada

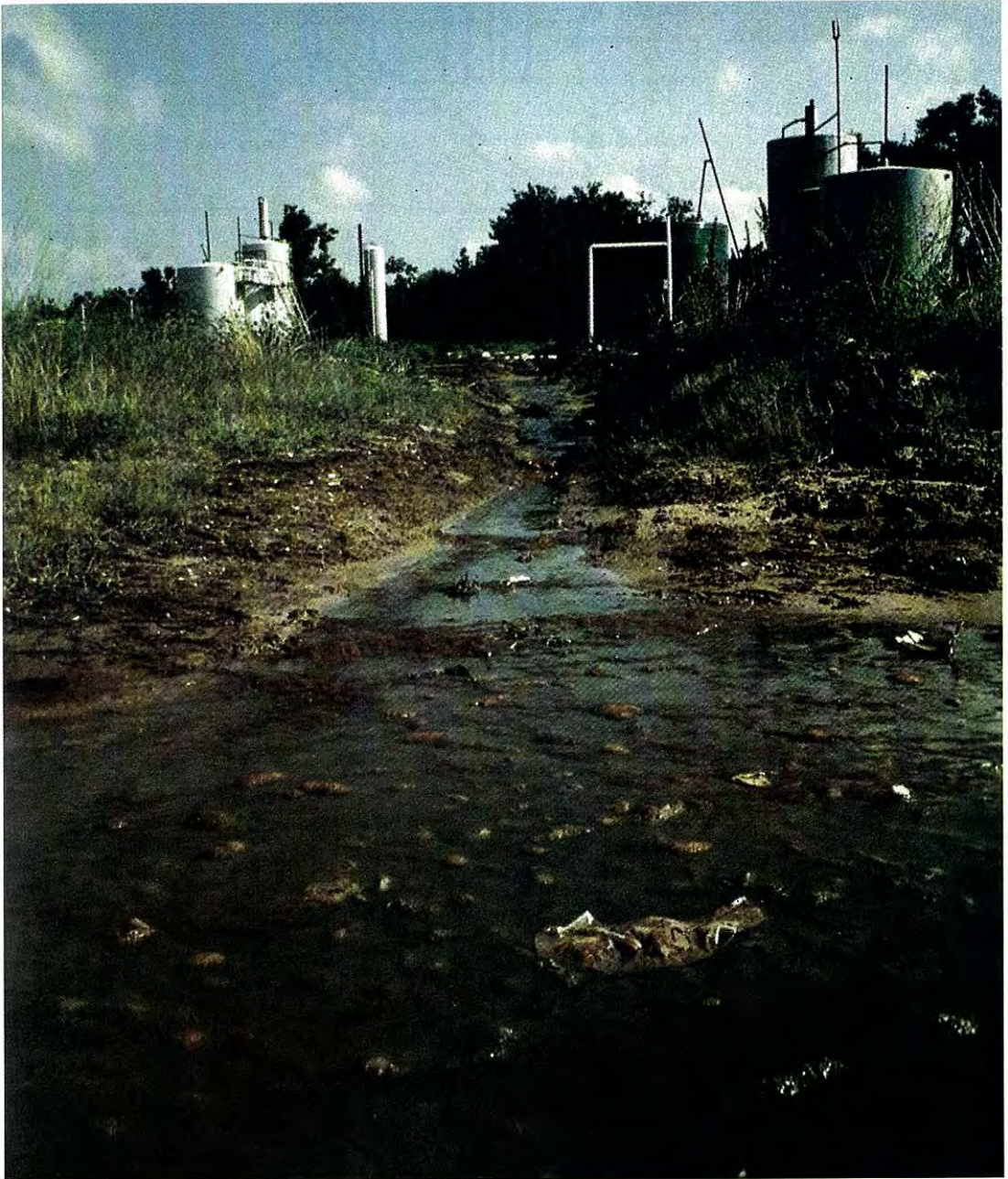


DESCARGAS DE FONTES RELATIVAMENTE PRÓXIMAS MAS SUSPEITA



Fig.4.2

Sugere locais para coleta de amostras relacionadas à mortadade de peixes no qual múltiplas fontes estão envolvidas. Os números nos círculos indicam os locais, aonde as amostras devem ser feitas para pesquisa locais de lançamento de substâncias tóxicas. O local R é o ponto de referência à montante.



Durante uma investigação de morte de peixe, é importante checar todos os pontos de descarga na área. O fluxo mostrado nesta foto é relativamente baixo, os contaminantes liberados estão provocando um efeito adverso no rio.

Amostras de Sedimento

Pode não ser necessário coletar sedimento em todas as mortandades de peixe. As amostras de sedimento e de água devem ser feitas nos mesmos locais. Locais especiais de coletas, como os localizados acima da descarga, podem ser interessantes e devem sempre ser cuidadosamente documentados. A forma de manusear as amostras, após as coletas e antes da análise, é determinada pelo tipo de análise a ser feita.

As amostras devem sempre ser mantidas frias (4 °C) ou congeladas e estocadas a menos 20°C ou abaixo. Se as amostras forem ser usadas em testes de toxidez devem ser mantidas frias, mas nunca congeladas.

As amostras são usualmente feitas utilizando colher ou draga, e a forma de armazenamento é em um frasco de boca larga com tampa, tipo snap-cap . A quantidade de amostra necessária é no mínimo 50 g (Tabela 4.6).

Tabela 4.6. *Quantidades recomendadas, frascos, técnicas de preservação e tempo de estocagem para amostras de sedimento a serem analisadas para parâmetros selecionados (modificada por Tetra Tech 1986).*

| Variável | Tamanho da amostra (g) ^a | Frasco ^b | Preservação | Tempo máximo de estocagem (d= dia; m= mês) |
|--------------------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------------|--------------------------------------------|
| Tamanho da partícula | 100-150 ^c | P,V | Frio, 4°C | 6 m ^d |
| Sólidos totais | 50 | P,V | Congelado | 6 m ^d |
| Sólidos totais voláteis | 50 | P,V | Congelado | 6 m ^d |
| Carbono orgânico total | 25 | P,V | Congelado | 6 m ^d |
| Óleos e graxas | 100 | V | Frio, 4°C, HCl, Congelado | 28 d ^d |
| Sulfetos totais | 50 | P,V | Frio, 4°C | 6 m ^d |
| Nitrogênio total | 25 | P,V | Acetato de zinco 1N | 7 d ^d |
| Demanda bioquímica de oxigênio | 50 | P,V | Congelado | 7 d ^d |
| Demanda química de oxigênio | 50 | P,V | Frio, 4°C | 7 d ^d |

^aTamanho das análises recomendadas para amostras de campo. Se análises de laboratório são necessárias (ex. réplicas), a amostra deve ser ajustada para tal.

^bP= polietileno; V= vidro.

^cAmostras de sedimento maiores para areia do que de lama são exigidas.

^dEste é o tempo de estocagem. Nenhum critério existe para a preservação de amostras ou quantidades definidas para determinação desta variável.

Para determinar se os organismos bentônicos foram mortos, amostras de material do fundo deve ser coletado com equipamento como a draga de Ponar.





Os invertebrados sobreviventes ou mortos, como lagostins, são uma pista valiosa da morte dos peixes.



Algumas vezes a morte dos peixes afeta grandes áreas. Muitos milhares de peixes são mortos por centenas de milhas do rio Mississippi e em grandes áreas do Golf do México por liberação de grandes quantidades de pesticida.

As tampas devem ser revestidas com teflon (análise de metal) ou alumínio (parâmetros orgânicos). Primeiramente, todos os frascos devem ser lavados com um detergente de laboratório não fosforado seguido de três vezes com água de torneira. Eles devem ser lavados com reagentes de ácido nítrico (1:1) e água de torneira, seguida de um enxague com ácido clorídrico (P.A) e três vezes com água destilada. Os frascos e os equipamentos devem, então, ser lavados com acetona, seguido por pesticida grade hexano, e secos em área livre de contaminação. Existem frascos preparados comercialmente. Os frascos limpos devem ser estocados em um kit de amostras, já fechados com as tampas.

Quando é usado um frasco de boca larga, a amostra deve preencher até o topo com o sedimento, fechado com água do local e selado com uma tampa de teflon ou uma folha de alumínio abaixo da tampa. Após etiquetar corretamente, as amostras devem ser estocadas a 4 °C. Se as amostras ficarem estocadas por muito tempo, os frascos devem ser preenchidos somente até dois terços, incluindo a cobertura de água. As amostras devem ser imediatamente congeladas e estocadas com gelo seco para transporte. Para uma estocagem de pouco tempo (menos de 7 dias), elas devem ser refrigeradas a 4 °C; para uma de longa duração, elas devem ser congeladas e mantidas congeladas até a análise.

Amostras de Invertebrados

As amostras de invertebrados bentônicas podem ser usadas para determinar a extensão da mortandade e documentar a recuperação. As amostras devem ser feitas na mesma área, aonde a água e o sedimento foram tomadas. Se existirem invertebrados suficientes, especialmente se moluscos estiverem disponíveis, o tecido pode ser usado para análise. As amostras de tecidos devem ser congeladas em locais apropriados e limpos, e adequadamente fechados e etiquetados.

Na maioria das investigações, amostras de invertebrados bentônicos não são necessárias para investigação de toxidez. Se forem necessárias investigações de toxidez, pelo menos 100 g de amostra é requerida. Geralmente, grandes invertebrados, caranguejos ou moluscos bastam como amostras para análise. As amostras devem ser congeladas nos mesmos tipos

de frascos que os usados para o sedimento, e estocadas a -20° até elas serem analisadas.

É, normalmente, muito difícil coletar zooplâncton suficiente para análise de resíduos. Geralmente, um registro deles, ou a presença ou ausência, e se estão vivos ou mortos é o suficiente.

As amostras de zooplâncton podem também ser usadas para documentar a natureza da causa e extensão da mortandade. A presença ou ausência de animais vivos podem ser informações úteis para determinar a causa da mortandade. A escolha do método usado para coletar zooplâncton depende do tipo de organismo presente e corpo d'água a ser investigado. Para a coleta de zooplâncton, 30 L de água são filtrados com uma rede de malha de 80 µ. Mais informações de como coletar, ver APHA et al.(1985) ou Weber (1983). Para preservar o zooplâncton, use álcool a 70% ou formol a 5%. Não estoque a amostra mais que 48 horas antes de transferir para álcool 70%.

Amostras de plantas

Fitoplâncton e macrófitos não são, normalmente, usados para análise de resíduos. Embora, em certas situações (por exemplo: contaminação por petróleo) resíduos podem ser lavados da superfície de plantas e usados para documentar a presença de hidrocarbonetos.

Fitoplâncton

Amostras de fitoplâncton devem ser examinadas para a presença e abundância de algas vivas. Amostras fechadas, bombas, filtros ou redes com malhas finas podem ser usadas para coletar amostras. Para análises quantitativas, o volume de água filtrado deve ser anotado. Se forem necessárias amostras vivas, elas devem ser refrigeradas após a coleta ou mantida resfriada a 4 °C. Para preservar e fixar as amostras, uma solução de Lugol é recomendada (ver a fórmula da solução de Lugol no Apêndice E).

Macrófitas

Se há uma suspeita de que as plantas estão causando um decréscimo da quantidade de oxigênio dissolvido, especialmente nas primeiras horas da manhã, a distribuição, a abundância e as condições físicas das macrófitas devem ser anotadas.

CAPÍTULO 5

Morte de Peixes Devido a Causas Naturais

Roger L. Herman e Fred P. Meyer

Introdução

A mortalidade devida a causas naturais é a maior causa de morte de indivíduos em uma população. Embora peixes sejam mortos por distúrbios ocorridos no meio ambiente, pela pesca ou por outra intervenção humana qualquer, eles são, na sua maioria, mortos por predação ou velhice. Embora fenômenos naturais possam levar à morte de peixes, a maioria dos efeitos mais comuns das mudanças do ambiente em águas naturais é o estresse imposto aos peixes. Se os níveis do estresse são altos o suficiente, uma diminuição na resposta imunológica pode afetar os peixes para doenças infecciosas. Se o peixe carrega uma grande quantidade de parasitas, abrigando infecções bacterianas ou estando fraco por má nutrição, o resultado a esse fator de estresse ambiental é a morte. A magnitude da mortalidade pode exceder as perdas que podem ser esperadas dos patógenos observados: a causa primária é, então, o estresse, não o patógeno ou o parasita.

Morte de peixe, entretanto, ocorre como um resultado direto de causas naturais. Os agentes causadores que foram identificados são: depleção de oxigênio, supersaturação de gás, bloom de algas tóxicas, isotermias, gases tóxicos, substâncias tóxicas naturais, variações bruscas de temperaturas, luminosidade, infecções bacterianas, fungos, viroses, parasitoses e outros. Usualmente, há evidência suficiente no local, para ajudar o investigador a determinar se a morte foi devido a uma causa natural. Algumas das causas naturais são discutidas aqui.

Depleção de Oxigênio

Talvez, a mais comum causa natural de morte de peixe é a depleção de oxigênio. Ocorre quando há uma total demanda de oxigênio por processos biológicos e químicos, excedendo a entrada de oxigênio por aeração e fotossíntese, ou quando a água está incapaz de manter oxigênio dissolvido para suprir as necessidades da vida aquática durante a noite. A depleção de oxigênio é usualmente associada com o crescimento abundante de plantas aquáticas, blooms de algas, ou grande concentração de matéria orgânica. As exigências de oxigênio para decomposição da matéria orgânica pela flora bacteriana, acoplada ao consumo dos peixes e da comunidade biótica, podem exceder o oxigênio disponível na água. As circunstâncias que favorecem o desenvolvimento da depleção natural de oxigênio incluem tempo calmo, nublado, quente ou o baixo nível de água, como acontece após um longo período de seca. A depleção de oxigênio é usualmente associada com o crescimento abundante de vegetação aquática, blooms de algas azuis ou altas concentrações de matéria orgânica. O oxigênio exigido durante a degradação das plantas e quebra da matéria orgânica pela flora bacteriana, associada ao consumo pelo peixe e outra biota, pode exceder o oxigênio disponível na água. As circunstâncias que provocam a depleção natural de oxigênio incluem calma, tempo nublado, altas temperaturas ou baixos níveis de água, como pode ocorrer durante o período seco ou um extenso período sem chuva. A depleção de oxigênio é caracteristicamente estacional, a menos que haja uma eutrofização extrema (uma grande liberação de nutrientes orgânicos)

como resultado de esgoto não tratado ou parcialmente tratado. A depleção de oxigênio em águas naturais é mais comum durante os meses de agosto, setembro e outubro, mas pode ocorrer em dezembro, janeiro ou fevereiro.

As evidências ambientais associadas com depleção de oxigênio podem incluir os seguintes itens:

- 1 – Morte ocorreu abruptamente nas primeiras horas da manhã, usualmente entre 2 da manhã e o nascente. Se a mortandade é incompleta, diminui rapidamente após o nascente, mas pode resumir a noite seguinte.
- 2 – Peixes grandes de uma espécie morrem primeiro; peixes pequenos podem ainda se manter vivos, tentando respirar em águas rasas.
- 3 – Seletividade de espécies é evidente; as espécies com exigências altas de oxigênio morrem primeiro.
- 4 – Concentrações de oxigênio dissolvido é baixa, usualmente entre 0 e 1 mg/L.
- 5 – O pH é entre 6,0 e 7,0.
- 6 – A concentração de dióxido de carbono livre é alta.
- 7 – A cor da água muda de verde claro para verde sopa de ervilha, marrom, cinza ou preto.
- 8 – O local e a água têm um odor de couve podre.
- 9 – A decomposição da vegetação (negra e mal cheirosa) pode ser abundante, muitas algas morrendo ou mortas podem ser detectadas no microscópio.
- 10 – Zooplâncton está morto ou morrendo.

Muito cuidado deve ser tomado para se evitar confundir uma depleção de oxigênio devido a causas naturais com uma depleção causada por agrotóxicos, que pode resultar em uma mortandade que começa em qualquer hora e que continua sem diminuir durante todo dia e noite.

Uma mortandade que resulta de causas naturais, como uma depleção de oxigênio, é usualmente precedida de indicadores que devem alertar um investigador. Antes de uma depleção letal de oxigênio ocorrer, o crescimento de vegetação aquática ou blooms de algas verdes pode estar presente por muitos dias

ou semanas. O oxigênio dissolvido pode exceder a saturação entre meio-dia e 14 horas, e se aproxima dos limites críticos máximos para a sobrevivência de peixes, logo antes da madrugada. Acompanhando este fenômeno está uma grande variação no pH, com leituras de 10 ou acima até o meio-dia, e de 6,9 ou menos ao amanhecer. Estes sinais são facilmente aparentes para um observador treinado e dá uma boa idéia do ocorrido. Em contraste, mortandades de peixes devido a substâncias tóxicas são abruptas e em grande escala, eventos catastróficos que ocorrem sem anúncio.

Blooms de Algas Tóxicas

Em situações especiais, uma única espécie de alga tóxica pode tornar-se dominante na flora. Algumas algas azuis e certos dinoflagelados liberam toxinas que matam ou inibem outras algas. Quando a competição por nutrientes torna-se intensa, os níveis de toxinas liberadas sobem. As espécies susceptíveis de algas, gradualmente, somem até as espécies dominantes permanecerem normalmente em grande abundância. Como a alga utiliza os nutrientes disponíveis, as espécies competem entre elas e os níveis de toxinas liberados continuam a crescer. Eventualmente, a água pode tornar-se tóxica para o zooplâncton, insetos, peixes e algumas vezes para os animais beberem. As marés vermelhas, que ocorrem no mar por causa de blooms de dinoflagelados, *Gymnodinium brevis*, são um exemplo comum.

A mortalidade devido a algas tóxicas são as únicas em que a produção de toxinas é fortemente relacionada à atividade fotossintética. A mortandade começa às 09 horas da manhã, continua durante o dia até às 04 horas da tarde, e diminui para repetir no dia seguinte. Apesar de alguns fatores se sucederem, o fenômeno continua até o bloom de algas terminar ou ocorrer uma depleção de oxigênio. Frequentemente, existem alguns efeitos ligados ao bloom, seguidos por sinais clássicos de depleção de oxigênio, (por exemplo: baixo O₂, baixo pH, CO₂ alto, cor escura da água, odor podre). A menos que o observador tenha informação sobre as fases iniciais da morte dos peixes, o papel das toxinas das algas pode ser negligenciado.

Em blooms de algas tóxicas, pH é muito alto (9,5 a 11,0) ao meio dia, oxigênio dissolvido é perto da saturação ou acima, as temperaturas da água são acima de 27 °C. Uma única espécie de alga está presente em grande número. As espécies de *Anabena*, *Dinobryon*, *Microsystis*, etc são anotadas como causadoras de blooms tóxicos.

Isotermia

Ocasionalmente, distúrbios relacionados ao tempo provocam morte de peixes. Em lagos rasos, ventos de alta velocidade podem quebrar a estratificação térmica e causar isotermia. Chuva fria e forte após um tempo seco e prolongado ou uma tempestade podem também causar uma isotermia ou estratificação térmica no verão, o que provoca uma anoxia na água e a decomposição de matéria orgânica em toda coluna d'água, e aumenta a demanda total de oxigênio. A depleção de oxigênio pode acontecer, apesar da aeração provocada pela ação das ondas. Os sinais típicos são baixos níveis de oxigênio, decomposição de matéria orgânica, odor forte, mudança de cor e outras, como vistas normalmente durante a depleção de oxigênio.

Envenenamento por Gás Sulfídrico

Condições de tempo rigorosas podem causar diferentes formas de mortandade de peixes. Distúrbios na estratificação térmica sempre liberam grandes quantidades de gás sulfídrico (H_2S). Altas quantidades de gás sulfídrico, mesmo em presença de quantidades adequadas de oxigênio dissolvido, podem causar uma condição de "sangue marrom" e morte de peixes. A cor marrom do sangue é causada pela formação de sulfohemoglobina, que reduz drasticamente a habilidade do sangue para transportar oxigênio. Alguns peixes podem sobreviver. Os peixes maiores são os mais severamente afetados. Sinais ambientais incluem (1) um odor de H_2S na água, especialmente abaixo do local; (2) decomposição da matéria orgânica na direção das margens; (3) peixes morrendo desorientados e (4) peixes com os filamentos das

brânquias escuros, cor de chocolate. Acidificando uma amostra do sangue com ácido clorídrico ou acético haverá a liberação de um odor típico de H_2S ou ovo podre. Os sinais de uma depleção de oxigênio podem ser observados, mas não estão sempre presentes. O oxigênio dissolvido é muitas vezes acima de 3 mg/L em casos de envenenamento de H_2S .

Substâncias Naturalmente Tóxicas

Problemas ocorrem, eventualmente, por causa de estratificação térmica. Em áreas onde o manganês é abundante nos solos da bacia de drenagem, óxido de manganês pode se acumular no hipolímnio anóxico e ácido para níveis que são tóxicos para os peixes. Geralmente, porque não existe peixe na zona anóxica, o potencial de risco, normalmente, permanece desconhecido. Entretanto, se a estratificação é perturbada, por exemplo por uma chuva fria, uma isotermia, ou uma onda interna (seiche), uma mortandade de peixes pode ocorrer. Se ocorrer uma isotermia ou ondas internas, isso pode trazer substâncias tóxicas para a superfície ou acima da entrada da tomada d'água de uma represa. Uma mortandade de peixes pode ocorrer no rio ou em uma piscicultura à jusante. Estas mortandades são particularmente difíceis de diagnosticar, porque são esporádicas, as características ambientais parecem normais e não há lesões nos peixes afetados. O diagnóstico é baseado na detecção dos níveis tóxicos de manganês na água.

Supersaturação de Gás

A solubilidade de gases em águas é inversamente relacionada à temperatura e diretamente relacionada à pressão atmosférica e a hidrostática. Como ilustrado pelas bolhas que formam em um vidro de água fria que é deixado no sol, a água quente segura menos gás que a água fria. Quando um frasco contendo bebida carbonatada é aberto, a pressão é liberada e as bolhas de gás formam. Então, a bebida torna-se efervescente. Se um mergulhador chegar à superfície muito rapidamente, bolhas se formam nos vasos sanguíneos porque a solubilidade do nitrogênio no san-

gue decresce, enquanto a pressão hidrostática é reduzida. Isto resulta em uma condição conhecida como embolia gasosa, que pode ser letal. O peixe pode sofrer o mesmo problema, e as bolhas se formam nas nadadeiras, sob a pele ou ao redor dos olhos. Com o aumento de bolhas, elas podem ser vistas nos vasos capilares das gueltras. Exoftalmia pode ocorrer sem bolhas visíveis. Uma excelente discussão do problema, causada por supersaturação de gás na água, foi publicada por Marking (1987).

A morte de peixes atribuída à embolia gasosa pode ser causada por vários fatores. Forma-se um termoclina durante a estação quente, os peixes que permanecem na água fria acima dele, algumas vezes, desenvolvem embolia gasosa, caso eles se dirijam em direção às águas superficiais. Águas de má qualidade de tomadas d'água, do fundo de represas profundas, têm sido sujeitas à pressão da coluna d'água e, usualmente, são mais frias que as águas superficiais. Quando essas águas são jogadas na superfície dos rios, a pressão hidrostática é reduzida e a temperatura

elevada reduz a solubilidade dos gases dissolvidos. Os peixes sujeitos a essas condições desenvolvem embolia gasosa. Se o rio possui corredeiras logo após a barragem, somente uma pequena superfície desses é afetada, porque a turbulência da corredeira libera o excesso de gases dissolvidos. Efluentes de águas mais quentes de usinas termoelétricas atraem peixes durante o inverno. Os movimentos dos peixes da área de água quente para a fria, algumas vezes, também induzem a embolia gasosa.

O nitrogênio é gás que provoca normalmente a embolia gasosa, mas a supersaturação de oxigênio pode também causar problemas. Se plantas aquáticas, como a *Chara* sp, ou algas são abundantes, e as condições do tempo são ideais para a fotossíntese, as plantas podem supersaturar a água com oxigênio. Se a temperatura da água sobe ou a pressão muda, os peixes da área podem ter embolia gasosa.



Supersaturação de gases dissolvidos na água pode ser letal para peixes. Esta perca amarela mostra lesões típicas associadas com doenças da bolha. Note a presença de bolhas grandes ao redor e atrás dos olhos.

Outros Fatores Ambientais de Estresse

Algumas vezes, um estresse ambiental pode não ser reconhecido, porque não é seguido de nenhuma mortandade significativa. Supersaturações de oxigênio, a fase da desova, a migração, ou temperaturas muito altas ou muito baixas podem significar estresse que reduzem a resistência de peixes a patógenos. Por exemplo: existem peixes que requerem águas quentes. Se a temperatura cai para 10 °C ou menos, o peixe ficará severamente estressado e poderá morrer; os sobreviventes podem desenvolver infecções bacterianas ou de fungos que resultam na sua morte. Os peixes, logo após a reprodução, também reduzem a resistência a patógenos; não é incomum observar significativo número de peixes mortos na primavera. Peixes que desovam no outono podem, também, ter problemas. Essas mortes são restritas a adultos de uma espécie, mas outras espécies podem ser afetadas, dependendo da cronologia de sua reprodução.

A morte de peixes pode também estar relacionada a características normais ou anormais de estrutura ou densidade da população. Ocasionalmente, em um ano, uma única classe de uma espécie pode obter tanto sucesso que se tornará dominante. Essa população pode ficar tão abundante que o seu número pode exceder a capacidade de sustentação do habitat. Quando isto ocorre, os indivíduos debilitados e em condições de alimento muito escasso ficam altamente susceptíveis ao estresse e a infecções secundárias. O colapso da classe dominante, nesse ano, pode ocorrer em grande escala, provocando morte catastrófica, parecendo associado a um patógeno particular. Embora a causa da morte de peixes possa parecer relacionada a uma doença, o fator primário é um mero ajuste na dinâmica populacional de uma única espécie.

CAPÍTULO 6

O Papel de Agentes Infeciosos na Mortandade de Peixes

Roger L. Herman

Introdução

Os surtos de doença bacteriana raramente resultam de um único fator. Em toda situação potencial de doença, três fatores estão envolvidos: hospedeiros susceptíveis, organismos patogênicos e condições ambientais propícias. É necessário que os três estejam presentes, quando ocorre uma epizootia¹. Snieszko (1964) citou, dentre os possíveis fatores de predisposição, resposta imunológica deprimida, baixa resistência genética, variações de temperatura, poluição, composição química desfavorável da água e outras condições adversas. Entre as condições adversas incluem-se o excesso de população, suprimento inadequado de alimento, atividade de desova, tempestades e variações sazonais. Embora numa situação em particular as bactérias possam ser

¹ NT: epizootia = doença contagiosa ou não, que ataca numerosos animais ao mesmo tempo e no mesmo lugar.

a causa determinante de morte, algum outro fator é, em muitos casos, mais importante. Um exemplo são as grandes perdas de tilápias, que ocorrem quando a temperatura da água se reduz para aquém da temperatura ótima para esta espécie. Uma súbita onda de frio pode resultar em extensas perdas. Muitas vezes, os sobreviventes ou os indivíduos moribundos liberam densas culturas de agentes patogênicos bacterianos e, a menos que o observador esteja alerta para as circunstâncias envolvidas, provavelmente fará um diagnóstico de epidemia bacteriana. A intrusão temporária de água salgada em ambientes de água doce (ou vice-versa) pode causar situações semelhantes.

Nos exemplos acima, o surto de doença que resulta em mortandade em massa, em águas naturais, está associado a alterações ambientais estressantes, a alta densidade populacional ou à escassez de alimento. Sempre que qualquer desses fatores compromete a capacidade de resposta imunológica do peixe, é

Infecções bacterianas são usualmente caracterizadas por lesões no peixe. Este catfish mostra o tipo de lesão associada com septicemia e hemorragia.



frequente a ocorrência de doença. É raro uma população saudável de peixe ser dizimada por agentes patogênicos. Portanto, é importante buscar fatores subjacentes, que possam ter contribuído para a ocorrência de mortandade de peixes, em águas naturais, causada por agentes patogênicos.

As infecções bacterianas nos peixes são, geralmente, caracterizadas por lesões externas ou internas.

Nos casos de mortandade de peixes causada por agentes parasitários ou infecciosos, as perdas raramente são abruptas. Ao contrário, há um crescimento gradual da taxa de perda, iniciando-se com a morte dos animais mais fracos ou mais severamente afetados. Muitas vezes, somente uma espécie é afetada. Ocasionalmente, uma população afetada é submetida a um segundo fator estressante, podendo ocorrer morte aparentemente súbita de peixes, após um período persistente de perda crônica. Em todos esses casos de doença, os peixes moribundos apresentam-se altamente infectados pelo agente patogênico ou parasita. Lesões podem estar presentes, porém, de modo geral, são necessários exames microscópicos e culturas de bactérias ou células, para identificação do agente patogênico responsável.

Em alguns casos, quando o agente patogênico é uma bactéria ou vírus altamente virulento, a taxa de mortalidade pode iniciar-se lentamente, porém, aumentar em escala logarítmica e alcançar níveis catastróficos num prazo de tempo relativamente curto. Mesmo assim, o curso da mortandade não é tão abrupto quanto em situações de ausência total de oxigênio ou relacionadas com substâncias tóxicas.

Uma grande variedade de agentes infecciosos foi identificada como causa de mortandade de peixes em águas naturais, dentre os quais destacam-se vírus, bactérias, fungos e organismos parasitários. A probabilidade de que os mesmos estejam envolvidos numa mortandade de peixes é discutida no presente capítulo.

Agentes Viróticos

Raramente foram documentados vírus como causa de grande mortandade de peixes, na natureza. No entanto, na maioria das vezes, eles infectam peixes

nos primeiros estágios de vida, podendo ocorrer grandes perdas de peixes jovens, sem qualquer evidência visível. São descritos, a seguir, exemplos de casos com envolvimento de agentes viróticos.

O vírus responsável pela necrose pancreática infecciosa já foi frequentemente isolado em peixes marinhos e de água doce, tanto na natureza quanto em cativeiro. Este vírus é mais conhecido como causador de uma doença de salmonídeos cultivados jovens, que destrói o pâncreas. É também o agente causador da doença do "giro" (spinning) nas savelhas (*Brevoortia tyrannius*) do Atlântico, designação essa que remete ao modo errático de nadar dos peixes infectados. Os surtos de necrose pancreática infecciosa em savelhas estão, geralmente, associados com baixa taxa de oxigênio dissolvido e mudanças de temperatura da água.

O vírus da necrose hematopoética infecciosa já causou a morte de salmões *kokanees* selvagens, de 2 anos de idade, e um vírus não identificado esteve implicado numa grande mortalidade de eperlanos arco-íris selvagens (família Osmeridae), no final do verão, no Canadá.

O isolamento de um vírus requer a inoculação de material infeccioso em culturas de células vivas. Nem todas as linhagens de células são capazes de manter cada vírus. Ao lidar com uma suspeita de doença virótica não conhecida, diferentes tipos de culturas de células devem ser inoculados, assim como diferentes tipos de meios bacteriológicos, quando se suspeita de doença bacteriana desconhecida.

Diferentemente dos meios bacteriológicos, que podem ser preparados e estocados durante grande período de tempo, para uso futuro, as culturas de células têm que ser mantidas frescas e ativas. Portanto, um pesquisador que não esteja associado a um laboratório que trabalhe rotineiramente com culturas de células de peixes não terá como processar amostras para ensaios virológicos, no local da mortandade. Nesse caso, ele deverá selecionar e embalar os peixes de modo apropriado, para envio a um laboratório equipado para isolar e identificar vírus de peixes. Deverão ser selecionados, para análise, animais moribundos que apresentem lesões e comportamento anormal. Os peixes em processo de morte por infecções viróticas podem desenvolver lesões hemorrágicas, porém lesões necróticas ulceradas são raras. Os

peixes deverão ser colocados em sacos plásticos ou embalados em plástico e refrigerados com gelo úmido. Não devem ser congelados. As amostras devem ser transportadas para o laboratório no menor prazo possível.

Agentes Bacterianos

As maiorias das doenças de peixes causadas por bactérias estão relacionadas com estresse. Isto significa que a mortandade de peixes relacionada com patógenos bacterianos acha-se associada com uma situação ou alteração ambiental importante. De modo geral, a situação estressante porém subletal, ocorre de 10 a 14 dias antes do início da epizootia. O pesquisador deve estar alerta para estresses sazonais relacionados com o clima ou com o tempo ou com alterações fisiológicas normais por que passam os peixes, tais como as relacionadas com a migração ou desova.

Os episódios de mortandade em massa de "gizzard shad" (*Alosa sapidissima*) no inverno e na primavera são exemplos clássicos de mortandade associada com a bactéria *Aeromonas hydrophila*. Este organismo é um patógeno facultativo sempre presente, que frequentemente causa doença quando os sistemas de defesa dos peixes acham-se comprometidos por condições ambientais estressantes, deficiências nutricionais, baixas temperaturas ou escassez de alimento no inverno. Quando, na primavera, a temperatura da água se eleva rapidamente, o patógeno responde com maior rapidez que o sistema imunológico do peixe. Em consequência dessa diferença entre respostas fisiológicas, podem ocorrer surtos de septicemia hemorrágica devido à *A. hydrophila*. O nome da doença tem a ver com o aspecto macroscópico dos peixes infectados, áreas epidêmicas (vermelhas) e de hemorragia no corpo, nadadeiras e órgãos internos. A bactéria é facilmente isolada do rim e de outros órgãos, através de cultura em meios artificiais.

A linfociste é uma doença virótica desfigurante dos "walleyes" (*Stizostedion vitreum*). No entanto, esta doença não é causa da mortandade de peixes, embora traga grande preocupação quanto ao consumo dos peixes infectados.

A *Edwardsiella tarda*, uma bactéria patogênica,

causa lesões hemorrágicas macroscópicas no corpo do peixe. À medida que a infecção avança e as lesões frequentemente tornam-se necróticas.

A *Flexibacter columnaris* também causa doença em peixes selvagens e cultivados, constituindo sério problema nos salmões migradores do Nordeste do Pacífico, particularmente nos rios onde a construção de barragens os transformou numa série de lagos, aqueceu a água e modificou o ambiente, favorecendo esta bactéria. Os peixes infectados por esta bactéria apresentam lesões acinzentadas nas nadadeiras e no corpo, as quais destroem progressivamente a pele e as brânquias. Raspagens (esfregaços) das lesões mostram bastonetes gram-negativos filamentosos característicos, com movimentos flexores, agregados em "pilhas" ou colunas, quando observados em montagens a fresco (daí o nome da espécie).

Outros patógenos bacterianos que podem estar envolvidos na mortandade de peixes são a *Pasteurella piscicida* e a *Aeromonas salmonicida*.

Ao se coletar amostras para estudo bacteriológico, dois ou mais peixes moribundos deverão ser selecionados de diferentes áreas onde os peixes estejam apresentando lesões ou comportamento anormal, bem como três ou quatro peixes aparentemente normais, para utilização como controles.

Deverá ser feito um exame visual dos peixes, buscando-se detectar lesões externas ou outras evidências de doença. Havendo lesões, para a pesquisa de bactérias é necessário fazer raspagens (esfregaços) de material colhidas das bordas das lesões e usar coloração gram ou examinar em montagens a fresco.

A presença de um grande número de bastonetes gram-negativos ou bastonetes ou cocos gram-positivos sugere que estas bactérias são responsáveis pelas lesões. Material colhido da borda da lesão deverá ser inoculado em Ágar de infusão de cérebro e coração ou Ágar sangue. Caso estejam presentes, na lesão, bastonetes gram-negativos alongados e finos, o processo de isolamento deverá prosseguir, com a inoculação dos organismos isolados em Ágar de extrato de triptona levedura. As lesões fechadas são preferíveis às lesões abertas, como locais de amostragem. A lesão (furúnculo, pústula, etc.) deverá ser desinfetada com álcool isopropílico ou outro produto e, em seguida, lancetada com escalpo esterilizado. Uma alça de platina estéril deverá ser inserida na incisão, para



Linfocistes é uma desfiguração de uma doença viral de “walleyes”. Entretanto, a doença não é a causa da morte de peixes, embora cause muita preocupação sobre a comestibilidade dos peixes infectados.



Edwardsiella tarda, uma patogénia bacteriana, causa uma forte hemorragia e lesões no corpo do peixe. Como a infecção progride, as lesões frequentemente tornam-se necrosadas.

permitir a coleta de inóculo para cultura em meios apropriados.

Todas as placas de Petri deverão ser identificadas em sua parte inferior externa. Um marcador permanente deverá ser utilizado, no qual se registrará a data, local, espécie de peixe, órgão amostrado e qualquer outra identificação que se julgue necessária.

As placas inoculadas deverão ser estocadas invertidas e protegidas contra extremos de temperatura. O transporte para o laboratório deverá ser feito no menor prazo possível, para incubação apropriada e identificação das bactérias isoladas.

As lamelas das brânquias deverão ser examinadas em montagens a fresco, com ampliação de 100 X, e comparadas com o aspecto de lamelas de brânquias de peixes sadios, observando-se a presença de anormalidades, tais como hiperplasia, hipertrofia, hemorragias ou áreas de necrose. Caso haja presença de bactérias, o material das brânquias deverá ser inoculado em meios de cultura apropriados, dependendo do tipo morfológico das bactérias detectadas.

Após um exame para se determinar a presença de lesões externas e a coleta de fragmentos das lesões observadas, toda a superfície externa do peixe deverá ser desinfetada com Roccal ou cloro. A cavidade abdominal deverá ser aberta, utilizando-se técnicas assépticas, e os órgãos internos deverão ser examinados visualmente, para a identificação de lesões macroscópicas.

Esfregaços corados de material obtido de qualquer lesão interna observada, bem como dos rins, fígado e baço, deverão ser confeccionados e examinados. Caso haja presença de bactérias, um inóculo deverá ser inoculado em Ágar sangue, a menos que as bactérias sejam bastonetes gram-negativos alongados e finos. Caso estes estejam presentes, deverá ser inoculada em Ágar de extrato de triptona de levedura. A superfície da lesão ou órgão a ser amostrado é assepticamente seccionada com uma alça de platina estéril e inoculada em placas de Ágar apropriadas.

Caso não se possa examinar os peixes *in loco*, os mesmos deverão ser colocados em sacos plásticos ou embrulhados com plástico e acondicionados em gelo úmido. Os espécimes não deverão ser congelados, pois muitas bactérias não sobrevivem ao congelamento. O uso de gelo seco para preservação poderá congelar os espécimes, inutilizando-os como amos-

tras. O exame *in loco* deverá ser feito num "trailer", num carro ou em prédio onde seja minimizada a contaminação, pelo ar, dos meios de cultura bacteriológica.

Agentes Fúngicos

Os fungos raramente causam mortandade significativa de peixes na natureza. Quando os peixes sofrem ferimentos, são acometidos de doença ou morrem por qualquer causa. Os fungos rapidamente invadem as lesões ou a carcaça, podendo levar o investigador a atribuir aos crescimentos de fungos maior importância do que eles realmente têm. Além disso, os fungos são invasores secundários, oportunistas, de lesões causadas por ferimentos, bactérias ou parasitas. Mais uma vez, em tais situações, os fungos são de pequena importância. Em alguns casos, porém, os fungos podem ser a causa primária da mortandade de peixes.

A branquiomicose, uma doença das brânquias causada por fungos do gênero *Branchiomyces*, pode, por vezes, causar a morte de grandes quantidades de peixes, geralmente de uma única espécie. A mortandade de lúcius do norte (*Exox lucius* Lin.) foi observada em Wisconsin (F. P. Meyer, National Fisheries Research Center, La Crosse, Wisconsin, comunicação pessoal) e de percas listradas (*Roccus saxatilis*) no Arkansas (Meyer e Robinson 1973). Nessa doença, os filamentos fúngicos são facilmente visíveis em exames microscópicos de montagens a fresco de tecido das brânquias. Preparações histológicas coradas, embora indispensáveis para a identificação da espécie envolvida, não são necessárias para se chegar a um diagnóstico.

A pesquisa de patógenos bacterianos envolve a utilização de meios especializados e requer conhecimentos específicos e laboratórios equipados para a execução desse trabalho.

Substâncias altamente cáusticas ou compostas, extremamente irritantes, podem causar severos danos às brânquias dos peixes. Observe as áreas necrosadas nas extremidades externas dos filamentos das guelras.

Peixes feridos, moribundos ou mortos frequentemente desenvolvem infecções secundárias macroscópicas, causadas por fungos. No entanto, os fungos,



Cheque para patógenos bacterianos envolve o uso de meios especializados e requer especialista e instalações no laboratório para que este trabalho possa ser feito.



Substâncias cáusticas ou compostos extremamente irritantes podem causar severos danos nas guelras dos peixes. Note as áreas necrosadas na parte exterior final dos fragmentos de guelras.

Peixes feridos, moribundos ou mortos frequentemente desenvolvem infecções com fungos secundárias. Entretanto, apenas fungos raramente causam mortes de peixes extensivas.



isoladamente, raramente causam grande mortandade de peixes.

O *Ichthyophonus hoferi* é um fungo responsável por mortandades esporádicas, em massa, de arenques (*Clupea harengus*), no Atlântico Norte. As infecções aquáticas causadas pelos *Saprolegnia* são infecções secundárias comuns, associadas com ferimentos externos. Os *Saprolegnia* podem invadir tecidos adjacentes e, eventualmente, causar a morte de animais infectados. Porém, não são considerados causa primária de mortandade de peixes.

De modo geral, as infecções por fungos podem ser reconhecidas como tal em montagens a fresco, utilizando-se microscópio com baixa ampliação. No entanto, a identificação da espécie de fungo é tarefa difícil e frequentemente requer o crescimento do organismo num meio de cultura artificial. Por isso, os patógenos fúngicos raramente são identificados além do nível do gênero.

Além disso, pelo fato de os fungos serem invasores secundários, oportunistas de feridas, abscessos, úlceras e lesões induzidas por parasitas, os pesquisadores deverá sempre, ao constatar crescimentos óbvios de fungos, procurarem determinar se algum outro fator poderia ser a causa primária.

Agentes Parasitários

Os parasitas, de modo geral, não são causa de grande mortandade de peixes em águas naturais. Seu efeito primário é o de agir como agentes estressantes, porém, podem tornar os peixes vulneráveis a infecções secundárias ou diminuir sua tolerância a alterações ambientais.

O *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich) é um parasita sempre presente na água doce e que, além de não apresentar especificidade de hospedeiro, é de difícil tratamento. Os parasitas são vistos como pontos brancos sob o epitélio das nadadeiras, corpo e guelras. Na natureza, a mortandade de peixes causada pelo *Ichthyophthirius* geralmente ocorre em lagoas e tanques, embora já tenham sido reportados casos de mortandade em rios. Assim como nas infecções por *Aeromonas hydrophila*, as infestações pelo *Ichthyophthirius* são mais comuns no final do inverno e princípio da primavera, quando os peixes encontram-se

ainda relativamente debilitados devido aos estresses sofridos durante o inverno. Os casos de mortandade ocasionados pela infestação por *Ichthyophthirius* são menos espécie-específica do que os causados por infecções bacterianas.

O piolho do peixe, *Argulus* sp., tem causado numerosos casos de mortandade de peixes em lagos e tanques (Huggins 1959). Esse parasita ataca muitas espécies de peixes e, pelo fato de assemelharem-se a uma escama de peixe, muitas vezes passa despercebido. Os peixes infestados por esse piolho apresentam em seu corpo áreas inflamadas, avermelhadas, causadas pela alimentação dos parasitas. Nos demais aspectos, o peixe morto pode parecer normal. O diagnóstico requer a detecção dos parasitas nos peixes moribundos, uma vez que o piolho dos peixes, assim como outros parasitas externos, abandona o peixe hospedeiro logo após a morte deste.

Qualquer investigação de causas de mortandade de peixes relacionadas com parasitas deve ser feita em espécimes moribundos, porém vivos, dos quais os parasitas ainda não se desprenderam. Parasitas pequenos como o *Ichthyobodo* (antes designado *Costia*), podem ser camuflados pela liberação de muco, ao iniciar-se a morte dos tecidos. Outras alterações *post-mortem* podem tornar o tecido inadequado para estudo, seja como montagens a fresco, seja como seções histológicas.

Um exame visual do corpo, nadadeiras e brânquias do peixe pode ser utilizado para determinar a presença de sanguessugas e copepodos parasitas. Já a detecção de protozoários e trematódeos monogênicos requer microscópio. Ampliações de 25 X e 100 X devem ser utilizadas para o exame de tecido das brânquias e nadadeiras, e raspagens (esfregaços) devem ser obtidas de lesões externas, para a pesquisa de organismos. Os trematódeos monogênicos podem ser facilmente visualizados, embora sua movimentação possa não ser observável. Os ciliados e os flagelados podem movimentar-se com rapidez, porém, as formas sésseis, tais como os *Ambiphrya* (antes designados *Scyphidia*), apresentam pouco movimento (com exceção de seus cílios). Quando presos ao epitélio, os *Ichthyobodo* flagelados podem não se movimentar. Esta falta de movimento, combinada com seu diminuto tamanho, torna difícil sua visualização em material não corado. Para a detecção

de pequenos organismos, poderá ser útil o exame de montagens a fresco por meio de microscopia de contraste de fase.

Os cistos encontrados (externa ou internamente) durante o exame podem ser abertos, para verificação da presença de larvas ou esporozoários, utilizando-se montagens a fresco. O cérebro não deve ser esquecido, como local potencial de parasitas. No exame do trato gastrointestinal, todo o trato deverá ser retirado, colocado em recipiente raso contendo água limpa e aberto em toda a sua extensão. Muitos acantocéfalos, cestóides, nematóides e trematódeos são grandes o suficiente para serem imediatamente observáveis. Já alguns trematódeos somente são identificáveis através do exame de raspagens (esfregaços) do revestimento do intestino, os quais podem também revelar esporozoários como os *Eimeria*.

O piolho do peixe, *Argulus*, é um parasita altamente destrutivo. Quando em grande número, este parasita causa, por vezes, grande mortandade de peixes envolvendo muitas espécies.

Embora possam ser óbvios e razoavelmente numerosos, os parasitas externos, a exemplo deste *Cleidodiscus* na brânquia de um bagre do canal, raramente causam epizootias ou mortandade de peixes.

A identificação da classe ou ordem do parasita geralmente é suficiente, porém, a identificação de gênero e espécie requer técnicas especiais e conhecimento especializado. Uma referência publicada por Hoffman (1967) pode mostrar-se útil nas tentativas de identificação.

Peixes já mortos quando da coleta ou que estejam mortos há mais de 1 hora (mesmo que refrigerados) não são adequados para exame, devido à perda dos parasitas quando da morte do peixe.

Se houver um laboratório próximo, os peixes moribundos deverão ser acondicionados em sacos plásticos individuais, colocados em gelo úmido, transportados para o laboratório e examinados imediatamente após a chegada. A qualidade das amostras se deteriora rapidamente, com o passar do tempo: espécimes colhidos 1 hora antes podem ser adequados, enquanto que os colhidos 4 horas antes são virtualmente inúteis.

Caso não seja possível fazer a pesquisa de parasitas *in loco* ou agilizar o transporte de peixes para

um laboratório, o pesquisador terá que preservar os espécimes, para estudo posterior. As amostras não deverão ser congeladas, uma vez que o processo de congelamento e descongelamento destrói os tecidos, geralmente mata os parasitas e contribui para alterações *post-mortem* importantes.

No caso de peixes pequenos, o ideal é colocá-los inteiros diretamente numa solução preservativa como, por exemplo, formol tamponado 10%. Se os peixes tiverem mais de 8 cm de comprimento, deverá ser feita uma incisão de 3 cm através da parede abdominal, para que a solução preservativa possa penetrar na cavidade corporal. Se os peixes tiverem comprimento superior a 15 cm, os arcos externos das brânquias, de ambos os lados, uma nadadeira peitoral, uma nadadeira pélvica e uma parte da nadadeira caudal deverão ser retirados e colocados na solução preservativa. Caso sejam observados parasitas fixados ao peixe, estes deverão ser retirados juntamente com 1 cm³ do tecido ao redor do local de fixação do parasita. Parasitas soltos deverão ser também colocados no recipiente, juntamente com os demais materiais. Uma proporção igual ou superior a 10:1 (solução preservativa para tecido) deverá ser mantida, para que haja quantidade adequada de solução para preservação dos tecidos e espécimes. Antes de ser fechado o recipiente, uma etiqueta deverá ser inserida, contendo informações completas sobre a espécie de peixe, data e local da coleta, solução preservativa utilizada e o nome e as iniciais da pessoa responsável pela coleta. O frasco deverá ser firmemente tampado e uma etiqueta deverá ser fixada externamente, com as mesmas informações que as da etiqueta interna.

O estudo de espécimes ou tecido preservado é sempre difícil. Montagens a fresco deverão ser feitas com o material solto, localizado no fundo do frasco, para a identificação de parasitas que, em contato com a solução preservativa, tenham se despreendido do peixe. O tecido úmido deverá então ser examinado em microscópio de dissecação, para a identificação da presença de copepodos parasitas, larvas de parasitas, sanguessugas, isopodos ou outros organismos grandes. Poderá ser necessário o clareamento de alguns materiais, passando-os por uma série de desidratação de álcool - xilol, para identificação dos organismos. Em alguns casos, preparações histológicas poderão ser necessárias.



O piolho de peixe, *Argulus*, é um parasita altamente destrutivo. Quando são numerosos e grandes, este parasita algumas vezes causa mortes extensas envolvendo muitas espécies de peixes.



Embora parasitas externas de peixes, como o *Cleiodiscus* nas guelras de catfish de canal, podem ser óbvios e bastante numerosos, eles dificilmente causam epizootia de morte de peixes.

Estudo Histológico

Animais moribundos que apresentem comportamento anormal ou lesões são os melhores para o exame histológico. Caso não sejam encontrados animais vivos, deverão ser selecionados os espécimes mais frescos. A amostra deverá refletir a faixa de tamanhos e a composição de espécies da população afetada. Se não for possível a preservação dos peixes no campo, os mesmos deverão ser acondicionados em sacos plásticos ou embrulhados em plástico e colocados em gelo úmido. As amostras não deverão ser congeladas. O congelamento desorganiza as células e torna os espécimes inúteis para exame histológico.

Peixes com menos de 30 mm de comprimento podem ser adequadamente preservados, colocando-se os espécimes diretamente na solução de fixação. No caso de peixes maiores, a parede abdominal deverá ser aberta do ânus até as brânquias. A massa visceral deverá ser retirada da cavidade, após a separação do esôfago (o intestino deverá ser deixado preso) e a bexiga natatória deverá ser puncionada (furada). Este procedimento expõe todos os órgãos à solução de fixação e mantém os órgãos internos associados com o espécime. Para peixes com comprimento de 40 mm ou mais, podem ser necessárias incisões através dos músculos dorsais, da cabeça à cauda. Dada a densidade do tecido muscular, a penetração da solução de fixação seria excessivamente lenta, sem as incisões. Quando um peixe grande é colocado na solução preservativa sem que sua cavidade abdominal seja aberta, dá-se a autólise dos órgãos internos, reduzindo-se, assim, o valor diagnóstico do espécime.

Peixes com mais de 100 mm de comprimento deverão ser cuidadosamente dissecados e os órgãos fixados separadamente, em seções com espessura máxima de 5 mm, para garantir rápida penetração da solução de fixação. A proporção entre volume de solução e volume de peixe ou tecido deverá ser de, no mínimo, 10:1.

Cada recipiente com amostra deverá conter etiqueta interna e externa. A etiqueta não deverá ser fixada à tampa. A etiqueta externa deverá ser colada ou amarrada no frasco. O uso de fita é conveniente, mas esta é facilmente removida. As informações deverão ser escritas na etiqueta com um lápis macio

ou com tinta permanente, e deverão incluir a data da coleta, o conteúdo, local, código de identificação utilizado para o caso em questão e o nome da pessoa que executou a coleta. A etiqueta interna deverá ser de papel de boa qualidade (cartões de arquivo, por exemplo) e conter as mesmas informações.

Informações adicionais sobre a preparação de tecidos para estudo histológico são fornecidas por Morrison e Smith (1981) e Yasutake (1987).

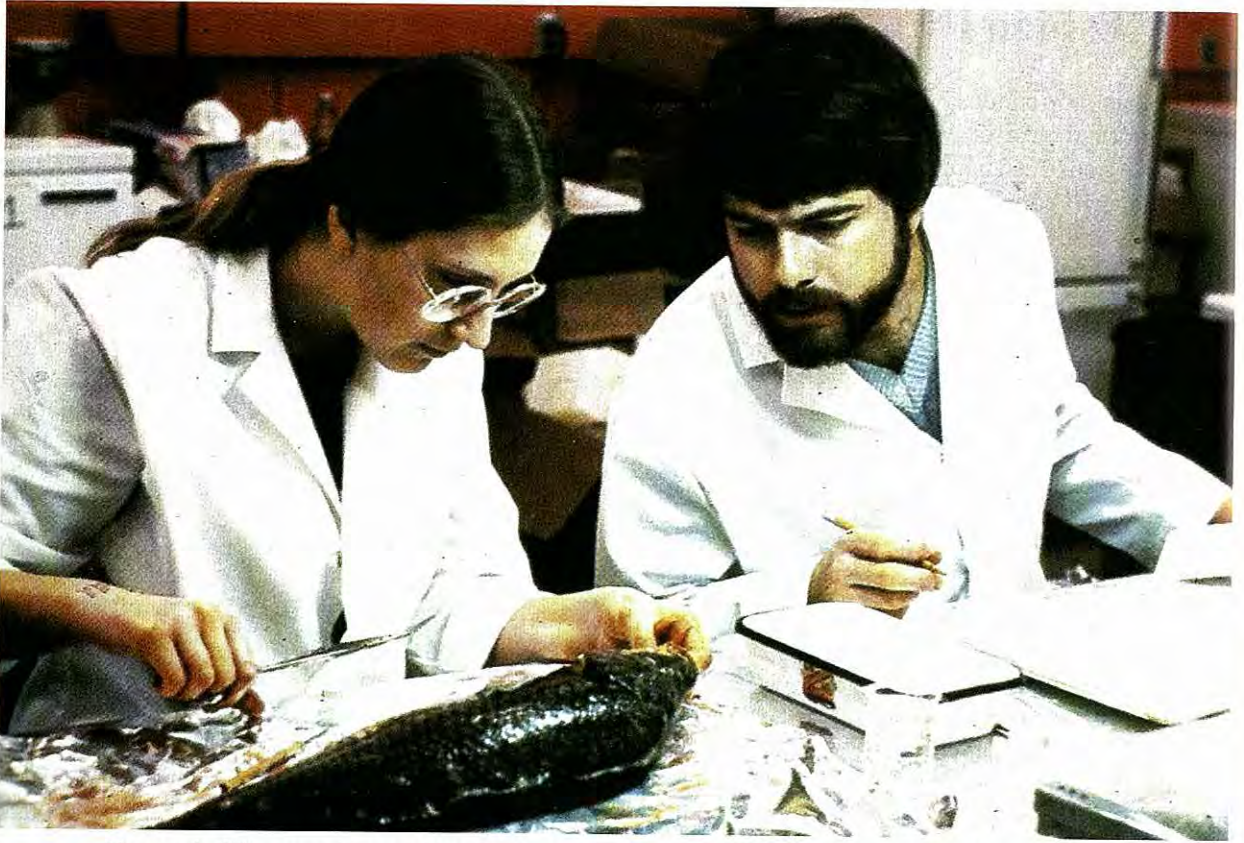
Necropsias executadas em peixes moribundos ou mortos, porém ainda frescos, muitas vezes, fornecem pistas úteis sobre a causa da morte.

Fazendo um Diagnóstico

Cada amostra de peixe enviada para necropsia deverá ser acompanhada de informações detalhadas sobre as condições de amostragem e de observações sobre as condições gerais do peixe. Cada laboratório que executar a necropsia deverá fornecer uma folha de dados contendo os resultados do exame patológico, identificação de culturas virais e lista dos parasitas observados. Um exemplo de relatório de patologia é fornecido na Ficha 6.1. Os resultados de tais exames serão úteis quando se chegar à determinação do mecanismo de morte.

De modo geral, a morte de peixes causada por infecção bacteriana ou viral é razoavelmente fácil de diagnosticar, se o agente causador for um patógeno conhecido. O agente pode ser facilmente isolado da maioria dos peixes examinados e a patologia será típica de infecção pelo agente isolado. Já a morte causada por infestação parasitária pode ser mais difícil de diagnosticar, uma vez que peixes em bom estado geral podem, muitas vezes, ser portadores de um grande número de parasitas, sem efeitos adversos aparentes.

Se o agente causador for um patógeno novo, desconhecido, o diagnóstico pode ser difícil, particularmente se, para sua cultura, forem necessários meios especiais ou novas linhagens de células. Em tais casos, um diagnóstico presumido é o máximo que se pode esperar. Embora seja fácil estabelecer um diagnóstico de morte por exposição a um agente tóxico, a identificação desse agente tóxico com base na patologia observada mostra-se difícil, se não impossível. Muitas das alterações patológicas observa-



Necropsia feita em peixes moribundos ou mortos frequentemente traz pistas úteis da causa da morte.

das na toxicose são não específicas. A combinação dos resultados dos exames patológicos e das análises químicas dos peixes, da água e dos sedimentos pode conduzir a um diagnóstico presumido, desde que a patologia seja compatível com diagnóstico de morte por exposição ao produto químico suspeito, identificado nas análises.

Quando o mecanismo de morte é um processo infeccioso, o relatório final deverá incluir uma explicação das circunstâncias envolvidas que possam ter contribuído para as mortes. Isto incluiria um relatório sobre as condições de estresse a que os peixes estiveram submetidas, e que teriam sido suficientes

para permitir que a infecção progredisse para um estágio de doença aguda. Caso, na situação em questão, as circunstâncias tenham sido criadas pela atividade humana, deverão ser incluídas recomendações de mudanças nas práticas de manejo, para evitar recorrências.

Nas mortandades de peixes causadas por agente infeccioso, os peixes moribundos frequentemente apresentam lesões distintas, tais como úlceras ou hemorragias petequiais. Este *A. sapidissima* ("gizzard shad") apresenta septicemia hemorrágica bacteriana.



Em morte de peixes causada por agentes infecciosos, peixes moribundos frequentemente mostram lesões distintas como hemorragias ou úlceras. Este peixe apresenta septicemia com hemorragia bacteriana.

Submetido por L. Barclay Data 5 de maio de 1989
 Código do Submissor VFO-001-031 Cadeia de Custódia: sim x não _____
 Espécie Gizzard shad Comprimento 18-25 cm Peso _____

EXAME MACROSCÓPICO EXTERNO

- Pele: () Normal () Excesso de muco () Cor anormal _____
 (X) Lesões: () Única () Múltiplas () Fechadas
 () Abertas (X) Hemorrágicas () Necróticas () Úlcera () Bolha () Tumor
 () Perda de escamas () Abrasões
 Localização: Vent
 Montagem a fresco/esfregaço: _____
- Olhos: () Normais (X) Exoftalmia () Catarata () Hemorrágicos
 () Córnea opaca () Perda da lente () Parasitas (X) Bilateral
- Nadadeiras: (X) Normais () Dilaceradas _____ () Hemorrágicas _____
 () Com erosão _____ () Deformadas _____
 Montagem a fresco/esfregaço: _____
- Guelras: () Normais (X) Pálidas () Matizadas () Hemorrágicas () Necróticas
 () Excesso de muco () Hiperplasia () Telangiectasia () Embolia gasosa
 () Cistos () Parasitas grandes _____ () Fungos visíveis
 Montagem a fresco / esfregaço: poucos triconídeos

EXAME MACROSCÓPICO INTERNO

- Tecido adiposo: () Normal () Excessivo (X) Reduzido () Hemorragia peteual
 Cor _____ () Cistos
- Fígado: () Normal () Aumentado () Reduzido Cor: (X) Pálida () Matizada
 () Outros _____ Textura: _____
 () Lesões: () Únicas () Múltiplas () Tumor () Necróticas
 () Hemorrágico () Cisto (parasita) () Cisto (fluido)
- Baço: (X) Normal () Aumentado () Reduzido () Superfície tipo framboesa
 () Cisto (parasita) () Cisto (fluido) Cor: _____
 Esfregaço corado _____
- Intestino: () Normal () Distendido (fluido) (X) Distendido (mucóide) (X) Flácido
 (X) Hemorrágico () Cistos (parasita) () Tumor
- Rim, posterior: () Normal (X) Aumentado () Lesões: () Única. () Múltiplas () Arenoso, branco
 () Cisto (parasita) () Cisto (fluido) () Tumor.
 Esfregaço corado Numerosos bastonetes gram-negativos

OUTRAS OBSERVAÇÕES: Vesícula biliar distendida, bÍlis verde

Fig. 6.1. Exemplo de relatório de necropsia para investigação de mortandade de peixes

Amostras para BACTERIOLOGIA XX VIROLOGIA _____ HISTOLOGIA XX

Resultados Bacteriologia Bastonete Gram-negativo, oxidase positiva, fermentação de glicose sem gás, crescimento na presença de "vibriostat" 0/129 *Aeromonas hydrophila*

Resultados Virologia _____

Avaliação histológica:

Brânquias -- hipertrofia do epitélio respiratórios e edema.

Fígado -- necrose difusa com bactérias Gram-negativas, sem vacuolização de hepatócitos.

Rins posteriores -- extensa necrose do tecido hematopoiético e elementos tubulares com bactérias Gram-negativas.

Intestino -- mucosa despregando-se, inflamação da lâmina própria, dilatação vascular e hemorragias.

Diagnóstico: septicemia, *Aeromonas hydrophila*

Patologista _____ Ph.D.

Data: 9 de maio de 1989

Título: Patologista de Peixes (Ictiopatologista) Licenciado

CAPÍTULO 7

Garantia de Qualidade e Normas de Evidências

Susan D. Haseltine

Introdução

O objetivo fundamental de qualquer investigação de mortandade de peixes é o de colher informações que sirvam de base para a determinação da causa. Se as informações forem corretamente compiladas, poderão não apenas servir de provas, em audiências e processos litigiosos, como também poderão ser incorporadas à literatura científica. As provas compreendem todas as fotografias, registros e observações de campo, procedimentos de amostragem, testes e resultados, bem como quaisquer outros dados relevantes relacionados com a investigação de uma mortandade de peixes. O investigador deverá ser capaz de demonstrar, de maneira conclusiva, que os dados são válidos e aplicáveis às amostras coletadas. Se não se puder apresentar documentação completa, provas valiosas poderão ser declaradas inaceitáveis por um tribunal de justiça.

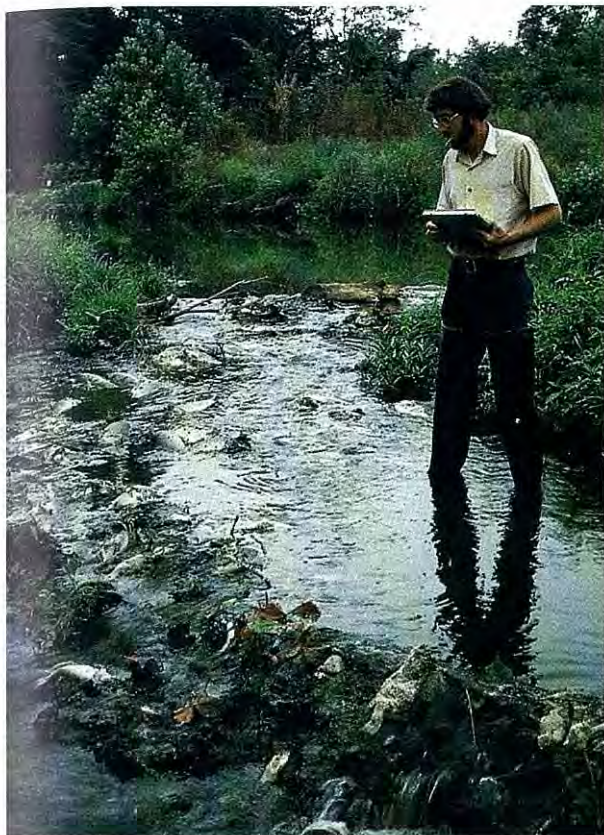
Diretrizes para Documentação

Todas as avaliações preliminares de mortandades de peixes notificadas devem ser consideradas como de caráter exploratório. Mesmo que a causa da mortandade pareça clara, as implicações da investigação e o diagnóstico final só poderão ser determinados após a conclusão de todos os testes. É importante que todos os aspectos da mortandade de peixes, incluindo as condições ambientais, a sequência de eventos e os fenômenos associados, sejam cuidadosamente documentados. É impossível estabelecer tais informações após o fato. As informações também poderão servir de subsídios para a recomendação de ações corretivas. Muitos episódios de mortandade de peixes levam a processos judiciais, e a extensa experiência e as infor-

mações técnicas acumuladas pelo investigador podem ser utilizadas como evidências, nos tribunais. A correta documentação das informações de campo, amostras, resultados de testes e procedimentos de “cadeia de custódia”, para todas as amostras, assume importância crítica para o sucesso de um processo judicial. De modo geral, os dados mais valiosos colhidos durante uma investigação de mortandade de peixes são aqueles registrados no campo, por observadores alertas, na ocasião do evento. Quanto mais completas, rigorosas e bem documentadas forem tais informações, mais confiável será a determinação final da causa.

História do Local e Informações

Dois ingredientes são essenciais na documentação de investigações: rigor e oportunidade. Qualquer informação, não importa quão irrelevante pareça, poderá mostrar-se útil, à medida que as evidências vão se acumulando. Todos os tipos de informação devem ser registrados da maneira mais precisa e quantitativa possível. Uma vez que muitos tipos de evidências são transitórios ou perecíveis, é necessário decidir, preliminarmente e com rapidez, quais as medições críticas a serem feitas. A prioridade e cronologia das tarefas necessárias devem ser julgadas com base na avaliação inicial de observadores experimentados. Para garantia de que todas as medições sejam corretas e precisas, deverão ser seguidos os procedimentos do fabricante ou órgão competente, para calibração, padronização e manutenção dos instrumentos utilizados na coleta de dados quantitativos (exemplos: balanças, medidores de pH). Tais procedimentos devem ser cuidadosamente documentados pelos investigadores, em suas notas de campo e de laboratório. A quantificação poderá incluir medições numéricas, colorimétricas, taxonômicas e de faixa.



O local da morte de peixes deve ser inspecionado para pistas outras que a presença de peixes mortos. O investigador deve estar alerta para detectar mudanças ambientais, para procurar outros organismos que possam ser afetados, ou pesquisar por organismos que tenham sobrevivido ao incidente.

A omissão das etapas de calibração ou padronização, para se economizar tempo, reduz o grau de exatidão da determinação final da causa da mortandade de peixes. Fotografias ou fitas de vídeo podem ser utilizadas para a documentação de evidências gráficas, dando aos investigadores um registro útil do evento. As fotografias deverão ser tiradas o mais de perto possível, com o espécime dentro de um quadro de referência bastante distinto (por exemplo: hábitat, orientação na cena). Os espécimes deverão encher todo o quadro ou ser claramente identificável dentro da fotografia. Além disso, as fotografias deverão delinear, com clareza, quaisquer aspectos que despertem especial atenção dos investigadores. No caso de se utilizar fita de vídeo, um documentário geral, com algumas tomadas de perto, pode ser de valor inesti-

mável em fases subsequentes da investigação. Cada fita deverá ser cuidadosamente identificada oralmente, com a data, hora e localização exata (estado, município, região, ou outras referências geográficas; latitude e longitude, para eventos de grande escala). Os operadores de vídeo deverão declarar seu nome e afiliação, no início e no final de cada filmagem.

Pistas outras, que não a presença de peixes mortos, deve ser buscada no local da mortandade de peixes. O investigador deverá estar alerta para detectar alterações ambientais e procurar outros organismos que possam ter sido afetados ou que tenham sobrevivido ao incidente.

Embora diversos métodos possam ser utilizados para o registro de dados de uma investigação de mortandade de peixes, o mais confiável é um caderno nos quais estejam fixados, de forma permanente, formulários padronizados, abordando todos os aspectos possíveis da investigação. (O Apêndice F mostra um exemplo de formulário de avaliação de hábitat). Todos os dados devem ser registrados com tinta permanente, sendo identificadas todas as pessoas responsáveis por cada medição feita e amostra coletada. Um registro completo da investigação deverá incluir as seguintes informações:

Número do caso

Cada caso deverá receber um identificador numérico ou alfa-numérico exclusivo da organização à qual pertence o investigador principal. Este número deverá constar ou ser afixado a todos os documentos, espécimes e relatórios gerados durante a investigação. Todos os números de espécimes deverão incluir o número do caso e outros identificadores necessários para se distinguir um espécime do outro.

Nomes dos indivíduos envolvidos na investigação

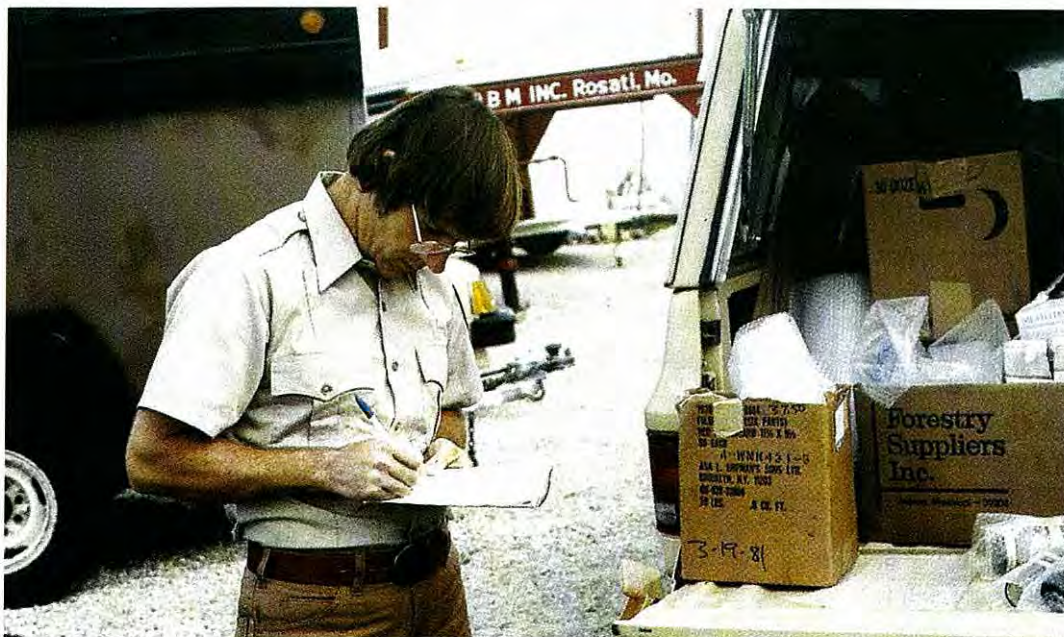
Deverão ser registrados nomes, endereço, número de telefone e afiliação de cada pessoa que contribuir com informações sobre a mortandade. Este procedimento é de particular importância, caso a mortandade tenha implicações legais, uma vez que testemunhas podem ser posteriormente chamadas a prestar depoimento.

Cronologia, espécie, tamanho, sequência e local da morte de peixes.

A cronologia dos acontecimentos, a espécie e o



Quando investigando uma morte de peixe, é importante documentar a extensão da mortandade e os números, espécies, e tamanhos de peixes afetados. Algumas vezes tantos peixes são mortos que é impossível coletar todos eles ou mesmo contar os números. Investigadores devem então seguir procedimentos de estimativa recolhidos pela American Fisheries Society (1982).



Materiais e fornecimentos são necessários para a investigação de qualquer morte de peixes. É importante anotar com precisão que recipientes foram usados para preservar e estocar amostras, o números de amostras, o número do caso atribuído à morte, e o nome das pessoas que fizeram as coletas.

tamanho dos peixes mortos, a sequência e o local da mortandade de peixes devem ser anotados para que não se perca nenhuma informação.

Estas informações, ao longo do tempo e durante o período diurno, são de importância crítica para o diagnóstico. É essencial registrar qualquer evento incomum (climático, industrial, agrícola, municipal) ou qualquer alteração abrupta nas condições da água, que tenham ocorrido por volta da hora em que teve início a mortandade dos peixes. Deverão ser registradas as sequências nas quais as espécies de peixes morreram, as diferenças de tamanho e espécie, bem como as alterações ocorridas ao longo do tempo, no local da mortandade. A indicação do local deverá ser a mais específica possível, em relação ao condado, município, região e seção, e deverá ser identificável num mapa rodoviário local. Um mapa deverá ser desenhado ou marcado pelo investigador, estabelecendo a extensão de área afetada e indicando os locais de amostragem, à medida que os espécimes forem sendo coletados.

Extensão da mortandade de peixes

A magnitude e características da mortandade deverão ser estimadas, utilizando-se as diretrizes fornecidas pela American Fisheries Society (1982). É de particular importância que, além da avaliação numérica, sejam obtidas fotografias ou fitas de vídeo, devidamente identificadas, mostrando a extensão da mortandade de peixes e o efeito sobre espécimes, objeto de preocupação específica. Caso ocorram na área espécies ameaçadas, uma anotação especial deverá ser feita. Deverá ser estimado o número de km de curso d'água ou a extensão da superfície afetada pela mortandade, anotando-se ainda, a localização de quaisquer fontes de emissão de despejo dentro ou próximos da área afetada. Se possível, deverá ser obtido um registro dos horários, natureza e magnitude da descarga de cada fonte.

Qualidade da água; limnologia

As características limnológicas da água deverão ser avaliadas (por exemplo: oxigênio dissolvido; pH; condutividade; cor; temperatura; presença de algas, zooplâncton ou insetos vivos ou mortos). Caso a mortandade ainda esteja ocorrendo durante a investigação, a água deverá também ser ava-

liada no início da manhã, ao meio-dia e à noite. Quaisquer alterações observadas podem ser significativas para a determinação da causa da mortandade dos peixes. Além de fazer tais medições, o investigador deverá anotar quaisquer anomalias no sistema, ou seja, odores incomuns, descoloração de plantas, animais mortos e presença de camadas orgânicas incomuns nos sedimentos.

Vegetação e outros organismos

O estado e a quantidade de todos os tipos de vegetação aquática deverão ser observados. Além disso, informações sobre a presença e estado (vivos, mortos ou em decomposição) de outros vertebrados poderão auxiliar na eliminação de várias possíveis causas da mortandade de peixes.

Estado dos peixes

Uma estimativa geral das condições em que se encontra a maioria dos peixes de vários tamanhos e espécies poderá auxiliar na interpretação de outros resultados ambientais. Há peixes vivos de qualquer espécie? Há peixes em decomposição ou que tiveram morte recente? Existem ainda no sistema espécimes vivos, porém debilitados? Espécimes moribundos constituem excelentes amostras para patologia e toxicologia, devendo, caso estejam disponíveis, ser coletados. O investigador deverá observar lesões ou outros sinais clínicos aparentes, a postura dos peixes no momento da morte e o comportamento dos peixes afetados que ainda não estejam moribundos ou mortos. Outros animais afetados (vertebrados e invertebrados) deverão ser igualmente examinados. Fotografias podem ajudar na descrição completa dos sinais clínicos ou comportamentais.

Entrevistas

Após a avaliação inicial *in loco*, deverão ser feitas entrevistas com quaisquer pessoas que possam ter informações específicas sobre alterações ambientais associadas com a mortandade de peixes. Também deverão ser entrevistadas pessoas que possam fornecer dados mais precisos sobre a hora de início, extensão e características da mortandade. Todas as pessoas ou organizações que possam ser afetadas pela investigação deverão ser devidamente informadas. Os investigadores deverão obter todas as autorizações necessárias, antes de entrar em propriedades para coletar

amostras e executar outros trabalhos de investigação. As entrevistas de campo não devem retardar o envio de amostras iniciais para análise em laboratórios especializados ou de apoio.

Relatórios Resumidos da Investigação

Todos os dados coletados numa investigação são potencialmente úteis para se reduzir o escopo da investigação. Alguns dos dados iniciais podem não ser relevante para o diagnóstico final, se uma situação ambiental complexa estiver envolvida. Portanto, é aconselhável que se prepare um relatório-resumo da investigação inicial, com apresentação dos dados pertinentes às causas suspeitas. As seguintes seções deverão ser incluídas: (1) data e hora da investigação preliminar; (2) membros da equipe de investigação; (3) local, sequência, extensão e magnitude da mortandade; (4) alterações ambientais associadas com a mortandade; (5) métodos de investigação e amostragem utilizados; (6) qualidade da água ou outras características limnológicas observadas; (7) estado e características dos peixes afetados; (8) local e hora da coleta de todas as amostras coletadas; (9) causas potenciais da mortandade; e (10) causa suspeitada da mortandade.

Investigações Suplementares

Em alguns casos de mortandade de peixes, visitas adicionais ao local são necessárias por duas razões: (1) para buscar evidências confirmatórias, após a análise inicial de amostras; e (2) para descobrir novas informações que possam levar os investigadores a suspeitarem de outras possíveis causas da mortandade. Em tais casos, os dados deverão ser registrados da mesma forma que durante o levantamento inicial e seguindo-se os mesmos procedimentos de documentação. Um relatório suplementar, com o mesmo número de caso e demais identificadores utilizados no relatório inicial, deverá ser emitido, descrevendo as datas, condições, métodos empregados e resultados obtidos na investigação suplementar. Este documento deverá ser arquivado como adendo ao relatório inicial, e enviado para todos os escritórios e laboratórios que tenham recebido o relatório inicial.

Coleta e Identificação de Amostras

As informações relativas às amostras coletadas no campo deverão atender, de maneira clara, a quatro requisitos: (1) cada coleta de amostras deverá ser acompanhada de um breve histórico dos eventos que cercaram a mortandade, e uma descrição da cronologia, local e características da mortandade; (2) cada amostra deverá ser corretamente identificada e relacionada, no tempo e no espaço, com a mortandade; (3) todas as amostras, subamostras ou réplicas deverão ser claramente identificadas e associadas, através de numeração, com a amostra primária; e (4) quaisquer amostras passíveis de se tornarem parte de uma investigação criminal ou civil deverão ser acompanhadas de formulários de “cadeia de custódia” corretamente preenchidos (vide seção abaixo, sobre exigências legais, e Apêndice I).

Para atender a tais exigências, o investigador deverá ser capaz de fornecer ao laboratório de análise uma sinopse dos eventos relacionados com a mortandade e uma lista das amostras que o mesmo receberá. As seguintes informações deverão ser fornecidas:

1. Um número de caso exclusivo, atribuído à mortandade de peixes.
2. Um número exclusivo de catálogo ou lote, para cada amostra.
3. Dados do responsável pelo envio das amostras: nome, endereço, afiliação e número de telefone.
4. Local da mortandade: estado, município, estrada mais próxima, curso d'água, lagoa, represa, etc.
5. Informações ambientais associadas com a mortandade: condições do tempo, alterações na vazão de água, aplicação de agrotóxico ou despejo, locais de fontes de agentes poluidores, limnologia ou características de qualidade da água.
6. Extensão, hora e espécies afetadas.
7. Outros achados significativos.
8. Descrição do hábitat: quaisquer dados não listados acima; deverá ser mencionado o uso primário da terra na área em questão.
9. Lista e descrição completa das amostras en-

viadas, com números identificadores, pesos (se for o caso), responsável pela coleta, data da coleta, local da coleta e técnica de preservação. As análises solicitadas também deverão ser incluídas com a lista das amostras.

10. A análise específica necessária para cada amostra (ou seja, química, histológica, microbiana, viral).
11. Quaisquer exigências especiais de garantia de qualidade que não constituam prática comum para o laboratório no qual serão processadas as amostras.
12. Prazo solicitado para entrega dos resultados.
13. Nomes e endereços das pessoas a quem devem ser enviados os resultados.

O Apêndice G contém um exemplo de sinopse ou catálogo de amostras. Além das informações fornecidas na sinopse enviada a cada laboratório, juntamente com as amostras, cada uma deverá conter uma etiqueta no lado interno e no lado externo da respectiva embalagem. No caso de amostras em que for imprópria a colocação de etiqueta dentro da embalagem (por exemplo, numa amostra de água), um sistema de dupla embalagem deverá ser utilizado, inserindo-se uma etiqueta entre as duas embalagens. Não deverão ser colocadas etiquetas nas tampas de recipientes, uma vez que as mesmas podem ser facilmente trocadas no laboratório ou no campo. As etiquetas deverão conter as seguintes informações:

1. Um identificador exclusivo e que inclua o número do caso. As subamostras e réplicas deverão ter o mesmo identificador e ser claramente marcada (por exemplo, A, B, C).
2. Hora, data e local de coleta da amostra.
3. Nome do responsável pela coleta.
4. Descrição da amostra (a mais específica possível).
5. Método de coleta e preservação utilizado (caso relevante para a análise).
6. Quaisquer características diferenciadas ou incomuns da amostra, as quais possam não permanecer evidentes após o transporte.
7. Peso da amostra (caso relevante para a análise).

As amostras, juntamente com a respectiva sinopse e catálogo, deverão ser enviadas para os laboratórios de análises de apoio. Uma cópia duplicata deverá ser enviada, por correio aéreo, para o laboratório

oficial que receberá as amostras, juntamente com cópias das informações completas de transporte do pacote. Recomenda-se que a empresa transportadora entre em contato telefônico com o laboratório que irá receber o material, confirmando que o pacote foi despachado e fornecendo dados do transportador.

O acondicionamento e o transporte deverão seguir procedimentos prescritos pelo laboratório, destinados a preservar a integridade dos espécimes. Os envios de material para análise nunca deverão ser feitos numa sexta-feira, sábado, domingo, feriados ou dias que precederem feriados. Para orientações gerais sobre o acondicionamento e transporte de amostras, vide Capítulo 9.

Exigências Legais

Caso, durante a investigação inicial, haja evidências de que a mortandade de peixes tenha ocorrido em consequência de ato criminoso ou negligência, a equipe presente no local deverá imediatamente entrar em contato com o órgão estadual de fiscalização da região. Se a mortandade tiver ocorrido em terras ou águas federais, ou se a mesma envolver espécies ameaçadas ou peixes anádromos, o IBAMA ou Órgão Ambiental, Estadual ou Regional deverão ser notificados (vide Apêndice H). É responsabilidade dos agentes fiscalizadores determinarem se cabe, ou não, a abertura de processo ou se outro órgão deverá ser notificado. A documentação de possíveis testemunhas, as informações sobre eventos anteriores e as amostras são de inestimável valor para consubstanciar uma ação judicial. Se houver questões legais, será necessária a utilização de formulários de “cadeia de custódia” (Apêndice I), para garantir a integridade de todas as amostras, desde o local da coleta até a análise final. Fornecidos pelo órgão fiscalizador competente, tais formulários deverão ser corretamente preenchidos com as seguintes informações:

1. Número e título da ação judicial.
2. Localização e Representante do Órgão de Fiscalização.
3. Fonte do espécime (pessoa, local da mortandade, descrição do incidente ou outras informações apropriadas).
4. Data e hora da coleta ou captura.
5. Descrição e identificador para as amostras a

serem utilizadas como provas.

6. Lista completa das pessoas que, ao longo do tempo, tenham sido responsáveis por garantir a segurança e integridade da amostra em questão (com respectivas assinaturas e datas de liberação e recebimento). Quando não estiverem sendo processadas, as amostras deverão ser mantidas em local protegido de pessoas não autorizadas. Quando enviadas ou entregues entre pessoas responsáveis, o mé-

todo de transporte deverá ser indicado. Cada pessoa que receba uma amostra deverá garantir a integridade da mesma. Todos os resultados de análises das amostras são incorporados ao processo legal, devendo ser prontamente comunicados aos órgãos de fiscalização. As pessoas que fornecerem provas deverão ser capazes de descrever a metodologia utilizada e defender a validade e significado de seus achados, em juízo.

CAPÍTULO 8

Para Onde Enviar Amostra para Análise

Rosalie A. Schnick

Destinação de Amostras

É essencial que se tenha disponível uma lista dos laboratórios que possam executar, sob contrato, vários tipos de análises. Também deverão estar disponíveis as normas dos órgãos competentes, relativas à submissão de amostras para análise. Caso ocorra uma mortandade de peixes em área de domínio público e a mesma esteja sendo investigada por um técnico de um órgão estadual ou federal, este órgão, embora possa ter seu próprio laboratório de análises, pode utilizar os serviços do laboratório de outro órgão ou pode ter um convênio com um laboratório comercial. Os funcionários de órgãos governamentais deverão verificar, junto a seus respectivos órgãos, as normas para o envio de amostras para análises. Um laboratório pode exigir que, no menor prazo possível após uma mortandade de peixes, lhe sejam fornecidas informações sobre as quantidades e tipos de amostras que estão sendo coletadas, tipos de análises que serão necessárias, método de envio, quando as amostras deverão chegar e quando os resultados deverão estar disponíveis.

A escolha do laboratório a ser contratado para a análise de amostras ambientais é de importância crítica para a validade dos resultados compilados sobre uma mortandade de peixes. A capacidade do laboratório de analisar os tipos de substâncias que possam ser a causa de uma mortandade de peixes e de executar análises de amostras envolvidas é de especial importância. Tendo em vista o recente aumento das atividades reguladoras e restrições legais, há que atender a exigências de garantia de qualidade (vide detalhes, Capítulo 7).

São muitos os laboratórios de análises com capacidade técnica para realizar análises sob contrato. A questão da disponibilidade não é, pois, um problema. Porém, a escolha de um laboratório capaz de atender adequadamente as necessidades específicas pode

exigir cuidadosa consideração. Os seguintes critérios deverão ler levados em conta na seleção de um laboratório (Keith, 1988).

A. Critérios Para a Seleção de Serviços de Análise e Diagnóstico

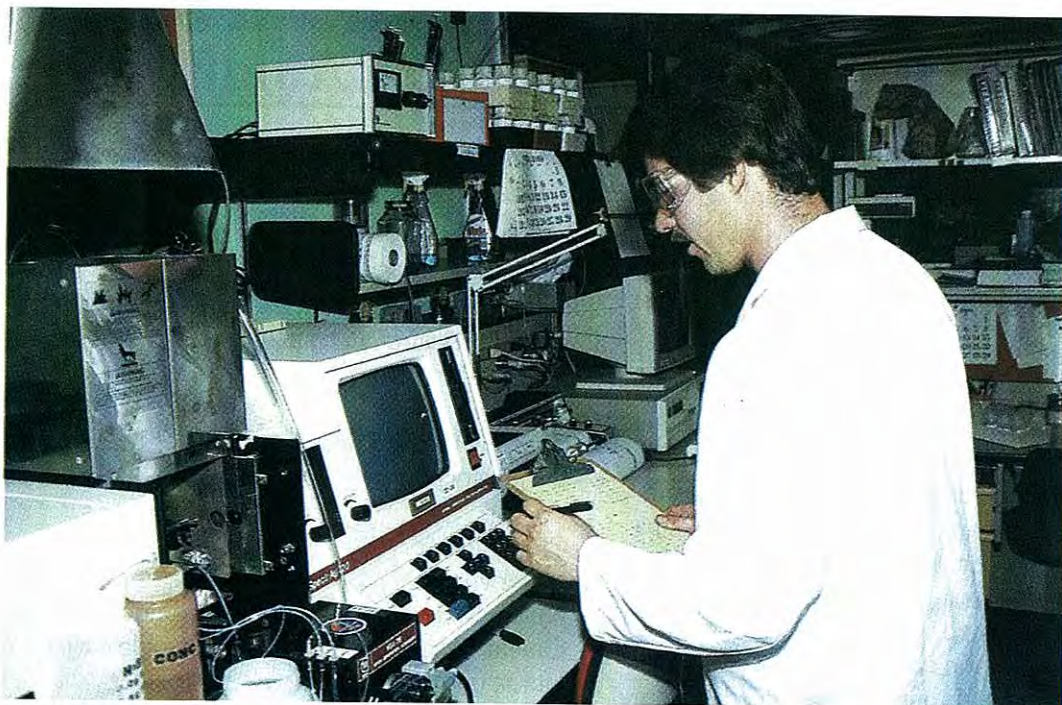
1. Credibilidade.
2. Experiência no processamento dos tipos de componentes envolvidos em amostras aquáticas (sedimento, tecido de peixe, água, tecido vegetal e outros tipos de tecido).
3. Documentação de garantia de qualidade.
4. Atendimento de necessidades.
5. Serviço pontual e confiável.
6. Pessoa qualificada, que atue como "contato" no laboratório.
7. Preços.

B. Procedimentos a Serem Seguidos na Avaliação de Laboratórios Conveniados

1. Laboratórios de Análise

Keith (1988) lista os seguintes procedimentos a serem seguidos para a avaliação de um laboratório, para a execução de análises em amostras ambientais:

- a. Obtenha uma cópia do Programa de Garantia de Qualidade do laboratório.
- b. Solicite informações sobre certificação estadual e nacional.
- c. Obtenha uma lista de clientes atuais que possam fornecer referências sobre o laboratório; telefone para alguns deles, indagando sobre a pontualidade do serviço e aceitabilidade dos resultados.
- d. Se possível, visite o laboratório.
- e. Solicite exemplos de relatórios, para verificar se são fornecidos dados de controle de qualidade.



A “espectrofotometria por emissão de plasma” é frequentemente utilizada quando se suspeita de uma substância tóxica, porém não se conhece a natureza do agente.



Antes de se executar as análises, pode ser necessária a utilização de técnicas de separação de amostras, tais como a “cromatografia líquida preparatória”.

- f. Verifique se são fornecidos intervalos de confiança, sensibilidade dos métodos, níveis de detecção ou limites de quantificação.
 - g. Confirme, junto a antigos clientes, a experiência e capacitação dos técnicos do laboratório.
 - h. Confirme se o laboratório já executou anteriormente ou tem capacidade para executar os tipos de análises desejados.
 - i. Forneça amostras-teste para avaliação do desempenho do laboratório.
 - j. Defina os serviços necessários e avalie os preços cotados por diversos laboratórios conveniados. Certifique-se de que estejam incluídos nos preços cotados: “kits” de coleta de amostra com recipientes pré-higienizados e soluções preservativas; análise de vários brancos; uso de normas aprovadas pelo *National Bureau of Standards*; curvas de calibração multipontos; destinação de amostras excedentes; relatórios personalizados; e relatórios computadorizados.
- e. Se possível, visite o laboratório.
 - f. Verifique exemplos de relatórios, para determinar se são fornecidos dados de controle de qualidade.
 - g. Confirme, junto a antigos clientes, a experiência e capacitação dos técnicos do laboratório.
 - h. Confirme se o laboratório está capacitado a executar o tipo de culturas e diagnóstico desejados.
 - i. Defina suas necessidades e determine, então, se os preços atendem às suas necessidades.

Determinados procedimentos podem ser exigidos de acordo com normas estaduais ou federais. Pode ser que você tenha que contatar um laboratório de diagnóstico certificado pelo estado, antes de lhe ser permitido utilizar um laboratório particular.

C. Fontes Potenciais para Contratação de Serviços

1. Serviços de Análise

Cada Estado tem suas próprias leis e normas relativas à análise de amostras, especialmente se estas forem coletadas de águas estaduais. Os investigadores deverão verificar, junto ao órgão estadual de controle de poluição, se há recomendações sobre os laboratórios a serem utilizados. Nos casos de mortandade de peixes em propriedades particulares, o proprietário ou o investigador poderá ter que arcar com o custo dos serviços de análise. Alguns Estados têm seu próprio laboratório de análises; as universidades locais também podem oferecer tais serviços. Listas de firmas particulares também se acham disponíveis. A *American Society for Testing and Materials* (1988) publica um catálogo anual de laboratórios capacitados a executar ensaios para várias substâncias. O catálogo inclui diversas categorias que facilitam a identificação de laboratórios que fazem análises de amostras ambientais. Tais categorias incluem produtos animais e da pesca, tecidos animais, tecidos humanos, substâncias e produtos químicos, cromatografia e materiais biológicos. O catálogo lista os laboratórios em ordem alfabética, por Estado, e fornece índices alfabéticos e por assunto. É responsabilidade do órgão contratante determinar se o laboratório é capaz de atender a exigências de garantia de qualidade.

Einerson & Pei (1988) afirmam que “Não há uma correlação definitiva entre a qualidade do serviço e o preço do serviço”. Eles recomendam que, antes de considerações quanto a preços, seja enfatizada a qualidade no processo de seleção. Um bom contato, no laboratório, é essencial, e um programa contínuo de monitoramento deverá ser estabelecido.

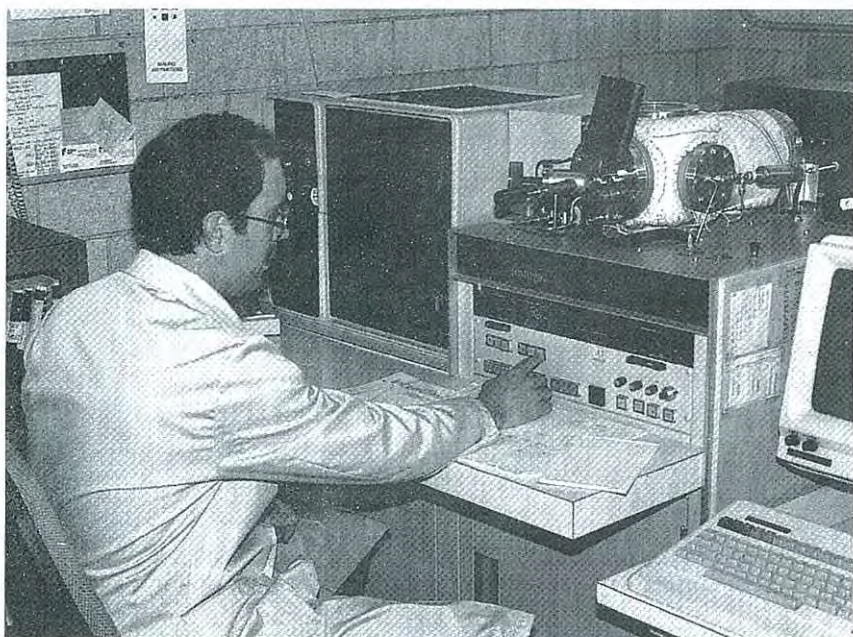
2. Serviços de Diagnóstico

Muitos dos procedimentos utilizados para a seleção de laboratórios de análises aplicam-se igualmente para a seleção de laboratórios de diagnóstico. Tais procedimentos incluem:

- a. Determine se o laboratório aceita amostras com pouca antecedência. O laboratório dispõe de instalações, equipamentos e pessoal adequados para execução imediata do serviço?
- b. Obtenha uma cópia do Programa de Garantia de Qualidade do laboratório e certifique-se de que o laboratório é capaz de cumprir exigências de garantia de qualidade.
- c. Solicite informações sobre certificação estadual e nacional.
- d. Obtenha uma lista de clientes atuais que possam fornecer referências sobre o laboratório e telefone para alguns deles.



A “cromatografia líquida de alto desempenho - HPLC” pode ser utilizada para análise direta, separações moleculares ou depuração de extratos de amostras coletadas no campo. Taxas adicionais poderão ser cobradas para a preparação de extratos de amostras para análise.



Equipamentos analíticos altamente sofisticados podem ser necessários para a identificação de substâncias tóxicas desconhecidas, em amostras coletadas em locais de mortalidade de peixes.

2. Serviços de Diagnóstico

A maioria dos Estados oferece algum tipo de serviço de diagnóstico para animais aquáticos. Os laboratórios que executam diagnóstico de doenças acham-se listados em dois catálogos publicados anualmente. A revista "Aquaculture" publica, anualmente, um Guia do Comprador e Catálogo da Indústria, onde são listados os centros de serviços de diagnósticos disponíveis (Honer, 1988). A listagem é por ordem alfabética, por Estado, e inclui o nome, endereço e número de telefone de cada laboratório (Apêndice J). No entanto, não fornece detalhes sobre os serviços prestados por cada um deles. Os *National Veterinary Services Laboratories* (1989) distribuem uma Listagem Anual de Laboratórios de Diagnose de Doenças de Animais. Os laboratórios são listados por Estado e cidade. As informações fornecidas incluem o nome do laboratório, nome do diretor, endereço, número de telefone, afiliação, de quem são aceitas amostras, principais espécies aceitas para exame (animais domésticos, selvagens ou de zoológicos) e os serviços oferecidos. Estes podem incluir bacteriologia, patologia clínica, patologia secundária, histopatologia, micologia, parasitologia, sorologia ou virologia. Os interessados deverão contatar diretamente os *National Veterinary Services Laboratories*, para obter uma cópia do catálogo anual.

D. Considerações sobre Garantia e Controle de Qualidade

Procedimentos apropriados deverão ser seguidos, para garantia da credibilidade dos dados coletados (paradetalhes sobre como proceder, vide Capítulo 7).

Custo e Tempo Exigidos

Embora não seja possível fazer um levantamento completo de laboratórios públicos e particulares e dos preços cobrados para a análise de contaminante, há como estimar os custos representativos cobrados. Os seguintes itens auxiliam no cálculo do custo estimado da execução de análises:

1. Análises para pesquisa de contaminantes orgânicos em várias amostras

Os preços da pesquisa de contaminantes orgânicos variam de US\$11 a US\$450 por procedimento, para menos de 15 amostras, e US\$10 a US\$350, para mais de 15 amostras (vide detalhes na Tabela 8.1). Caso haja urgência na obtenção dos resultados, o investigador provavelmente pagará o dobro dos preços indicados na Tabela 8.1. Taxas adicionais poderão ser cobradas, caso as amostras requeiram extensa preparação ou depuração, ou se houver necessidade de utilização de procedimentos ou equipamentos especializados. Também poderá ser cobrada taxa adicional, se for solicitada uma identificação ou delimitação especial.



Se o nível de um contaminante for elevado, poderá haver necessidade de diluições em série, antes que se possa fazer a análise das amostras.

2. Análises para pesquisa de contaminantes inorgânicos em várias amostras

Os preços variam de U\$5 a U\$48 por procedimento, para menos de 15 amostras, e de U\$4 a U\$38, para mais de 15 amostras (vide detalhes na Tabela 8.2). Taxas adicionais poderão ser cobradas, caso as amostras requeiram extensa preparação ou depuração ou se houver necessidade de utilização de procedimentos ou equipamentos

especializados. Também poderá ser cobrada taxa adicional, se for solicitada uma identificação ou detalhamento especial.

3. Custos para análises "URGENTES"

Os preços variam de acordo com o laboratório. Normalmente, o laboratório cobra o dobro dos preços normais ou acrescentam uma sobretaxa significativa, para serviços urgentes.

Tabela 8.1. Custos aproximados para análises orgânicas por procedimento em 1989. (adaptada do Patuxent Wildlife Research Center 1989) - em U\$

| Procedimento ^a | Número de amostras | | Procedimento ^a | Número de amostras | |
|-----------------------------|--------------------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------|
| | até 15 | 16 ou mais | | até 15 | 16 ou mais |
| | U\$13 | U\$13 | | | |
| Dissecação (opcional) | | | | | |
| A. Homogeneização | 18 | 16 | | 192 | |
| Animal | 16 | 14 | | 192 | 171 |
| Planta | 8 | 7 | | 134 | 171 |
| Solo ou sedimento | 8 | 8 | J. Herbicida (ácido clorofenoxi) | | 123 |
| B. Percentual de umidade | | | Tecido vegetal | | |
| C. Análises organoclorados | 284 | 272 | Solo ou sedimento | 192 | |
| Tecido (que não peixe) | 302 | 288 | Água | 234 | 171 |
| Tecido, peixe | 225 | 217 | K. Kepone | 138 | 214 |
| Solo ou sedimento | 200 | 192 | Tecido biológico (que não peixe) | 134 | 123 |
| D. Hidrocarbonos aromáticos | | | Tecido (peixe) | 27 | 123 |
| Tecido | 249 | 235 | Solo ou sedimento | 30 | 24 |
| Solo ou sedimento | 204 | 193 | Água | | 28 |
| Água | 184 | 174 | L. Óleo e gordura | 255 | |
| E. Hidrocarbono alifático | | | M. Quantificação de aroclors individuais | | 255 |
| Tecido | 149 | 138 | N. Confirmação por espectrometria de massa | | |
| Solo ou sedimento | 116 | 106 | O. Dicofol com exame OC | 11 | |
| Água | 109 | 102 | P. Endosulfan I e II com exame OC | 16 | 10 |
| F. Dicofol | | | Q. Sulfato de endosulfan com exame OC | | 14 |
| Tecido | 193 | 171 | R. Photomirex c/ scan OC | 32 | |
| Solo ou sedimento | 128 | 113 | S. Octacloristireno com scan OC | | 28 |
| Água | 139 | 123 | T. Exame atento de pesticida à base de organofostato, incluindo espectrometria de massa | 27 | 26 |
| G. Endosulfan I e II | | | de massa | 19 | 16 |
| Tecido | 193 | 171 | U. Exame atento de pesticida à base de carbamato, incluindo espectrometria de massa | 300 | 250 |
| Solo ou sedimento | 128 | 113 | V. Exame atento combinados de organofosfato e carbamato, incluindo espectrometria de massa | 300 | 250 |
| Água | 139 | 123 | | | |
| H. Fotomirex e degradados | | | | | |
| Tecido | | | | | |
| Solo ou sedimento | 193 | 171 | | | |
| Água | 128 | 113 | | | |
| I. Octacloristireno | 139 | 123 | | | |
| Tecido | | | | 450 | |
| Solo ou sedimento | 193 | 171 | | | 350 |
| Água | 128 | 113 | | | |
| | 139 | 123 | | | |

^aOC Exame atento organoclorado

4. Prazo aproximado exigido para a análise de contaminante

Os laboratórios geralmente executam as análises no prazo de 90 dias, para as primeiras 300 a 500 amostras. O prazo para entrega dos resultados, de modo geral, é inferior a 90 dias; para serviços “urgentes”, o prazo é normalmente de 15 dias úteis.

5. Formulários exigidos para a apresentação de dados e conclusões

Cada laboratório tem seus próprios formulários, que precisam ser preenchidos para garantir a correta identificação de amostras, analistas e dados.

Serviços de diagnose podem ser fornecidos por inúmeros laboratórios – federais estaduais e particula-

res. De modo geral, os laboratórios federais e estaduais prestam assistência gratuita, porém, podem impor restrições quanto aos tipos de amostras que aceitam ou órgãos para os quais prestam serviços, devendo, pois, ser sempre contactados, antes do envio das amostras. Existem poucos veterinários praticantes em ictiologia, porém, diversas universidades prestam assistência em diagnose, cobrando uma taxa. Se for cobrada taxa, esta depende do tipo de agente patogênico envolvido, nível de identificação solicitado e número de amostras a serem processadas. A pesquisa de vírus pode ser onerosa, uma vez que envolve culturas de células, testes sorológicos, e, possivelmente, microscopia eletrônica.

Tabela 8.2. Custos aproximados para análises inorgânicas por procedimento em 1989 (adaptada do Patuxent Wildlife Research Center 1989) - em U\$

| Procedimento ^a | Número de amostras | | Procedimento ^a | Número de amostras | |
|---------------------------------|--------------------|------------|---------------------------------------|--------------------|------------|
| | até 15 | 16 ou mais | | até 15 | 16 ou mais |
| Dissecação (opcional) | U\$34 | U\$26 | | | |
| A. Homogeneização | | | G. Análise de selênio | | |
| Animal | 12 | 9 | Tecido animal | 29 | 23 |
| Planta | 9 | 7 | Planta | 29 | 23 |
| Solo ou sedimento | 11 | 8 | Solo ou sedimento | 30 | 24 |
| B. Liofilização | 7 | 6 | Água | 29 | 23 |
| C. Percentual de umidade | 7 | 5 | H. Análise de mercúrio | 27 | 22 |
| D. Análise ICP ^a | | | Tecido animal | 27 | 22 |
| Tecido animal | 44 | 33 | Planta | 28 | 23 |
| Planta | 44 | 33 | Solo ou sedimento | 27 | 22 |
| Solo ou sedimento | 44 | 33 | Água | | |
| Água | 43 | 32 | I. Outros metais por HGA ^b | | |
| E. Precon para ICP ^a | 12 | 9 | Tecido animal | 28 ^c | 22 |
| pH (3 ou 6) | | | Planta | 28 | 22 |
| F. Análise de arsênico | | | Solo ou sedimento | 28 | 22 |
| Tecido animal | 29 | 23 | Água | 28 | 22 |
| Planta | 29 | 23 | I. Sólidos voláteis totais | | |
| Solo ou sedimento | 30 | 24 | Solo ou sedimento | 9 | 9 |
| Água | 29 | 23 | | | |

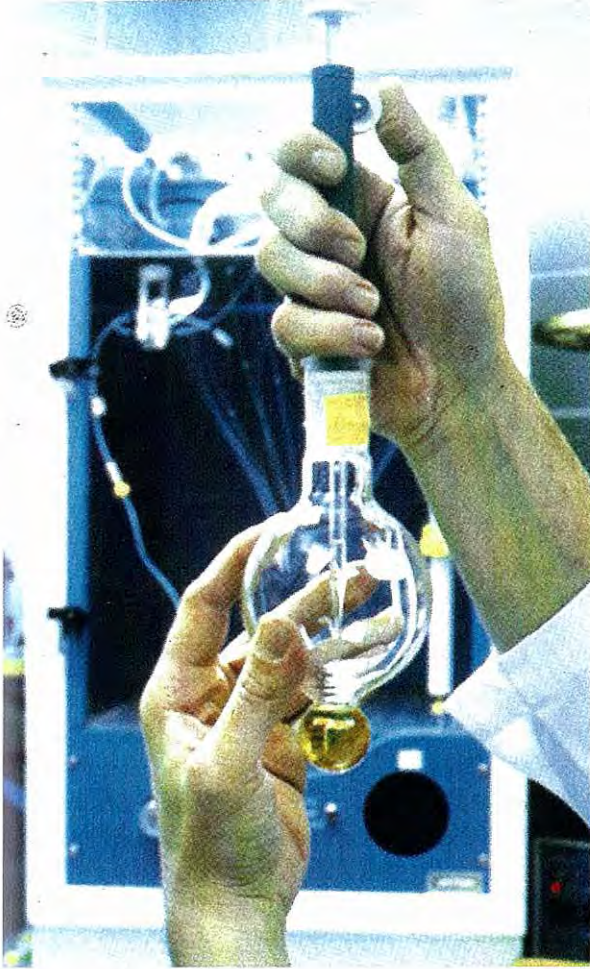
^aICP = Espectroscopia por emissão de plasma indutivamente acoplado. O ICP permite um exame atento de muitos elementos (16-23), com vários limites de detecção, geralmente mais elevados que os determinados por métodos de absorção atômica.

^bHGA = Análise de forno de grafite, para elementos separados. Os preços são por elemento. Para a maioria dos elementos, esta análise fornece um limite mais baixo de detecção que a ICP.

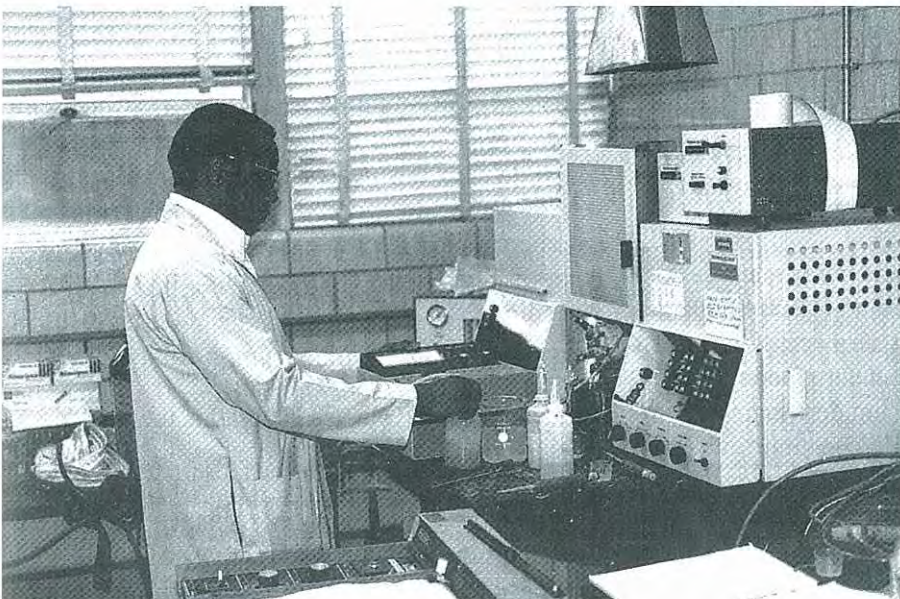
^c Preços por elemento: se a análise for de três elementos (exemplo: cádmio, chumbo, cobre), multiplicar estes preços por três.

Para exames histológicos de tecidos, os custos para o órgão investigador variam de acordo com a política do órgão prestador do serviço. Os departamentos estaduais de agricultura ou as universidades podem dispor de serviços veterinários ou de saúde humana capazes de executar as análises. Podem absorver o custo ou podem ter uma política de reembolso parcial ou total, pelo órgão investigador. A determinação dos custos deverá ser feita antes do envio das amostras.

Os custos também variam, no caso de utilização de laboratórios comerciais. De modo geral, as preparações de lâminas custam de U\$3 a U\$5 cada. O relatório do patologista é cobrado à parte, e seu custo pode ser calculado por lâmina, por peixe ou por hora. Para um número grande de amostras, o custo total por lâmina tanto pode ser inferior a U\$10 quanto chegar aos U\$25 ou mais.



Procedimentos de extração e depuração são normalmente executados, antes da análise de uma amostra.



A espectrofotometria por absorção atômica é um dos procedimentos úteis na pesquisa de metais e minerais em amostras ambientais.

CAPÍTULO 9

Acondicionamento e Transporte de Amostras

Lee A. Barclay

Introdução

O transporte de amostras de um ponto a outro está sujeito a uma série de riscos. O planejamento cuidadoso e a atenção aos detalhes reduzem a possibilidade de perdas ou danos durante o transporte, e preservam evidências valiosas que podem ser necessárias em futuros processos judiciais. Antes de se despachar as amostras, é necessário ter em mãos informações completas sobre a empresa transportadora, vôos, horários, despachantes e os números de telefone das pessoas responsáveis para cada organização envolvida no transporte. O laboratório que irá receber as amostras deverá ser notificado do horário programado de chegada e solicitado para telefonar imediatamente para o remetente, assim que receber o material. Caso as amostras não cheguem no dia e horário esperado, tanto o remetente quanto o destinatário deverão entrar em contato com a transportadora, no sentido de se iniciar uma busca imediata das amostras perdidas. O despacho para transporte nunca deverá ser feito numa sexta-feira, nos finais de semana ou durante períodos de feriados.

Cadeia de Custódia e Outras Considerações Legais

Uma cadeia de custódia deverá ser mantida para toda e qualquer evidência, visando garantir sua admissibilidade em juízo. Pode ser necessário provar que a evidência coletada num determinado local é a mesma sobre a qual se baseia um depoimento. Sempre que uma amostra que pode constituir evidência legal é passada de uma pessoa para outra, seja para guarda ou testes, um formulário de "cadeia de custódia" (Apêndice I) deverá ser assinado e datado por todas as pessoas envolvidas. Cada transferência deve

ser claramente documentada no formulário. Qualquer pessoa que tenha manuseado a evidência poderá ser chamada a depor perante o tribunal, para que os dados de uma determinada amostra possam ser aceitos como prova. Informações sobre formulários da polícia florestal, etiquetas de provas e outros materiais similares, provavelmente, podem ser fornecidas pelo departamento de fiscalização do órgão competente.

Manuseio de Amostras

Seleção de Amostras

As amostras necessárias dependerão da causa suspeita da mortandade de peixes. Caso a suspeita recaia sobre um produto químico tóxico, tipos específicos de amostras deverão ser coletados e manuseados de acordo com diretrizes precisas. A seção "Coleta de Amostras para Substâncias Tóxicas Suspeitas", Capítulo 4, fornece informações sobre a coleta e acondicionamento de amostras para análises químicas. Para casos de mortandade, nos quais acredita-se estarem envolvidos organismos infecciosos ou parasíticos, o Capítulo 6 fornece informações sobre a maneira pela qual os tipos de organismos afetam o tipo de amostras necessárias, e como as amostras devem ser manuseadas. Informações gerais sobre os critérios para seleção e transporte de amostras de peixes foram publicadas por Wellborn (1985). (Vide Apêndice K.).

Preservação

Vários pontos devem ser lembrados na preservação de amostras:

1. Antes de iniciar as coletas, planeje os procedimentos de preservação das amostras.
 - Consulte os técnicos do laboratório. As exigên-

cias para a preservação de amostras podem variar de acordo com os tipos de análises a serem feitas.

- Ao dirigir-se para os locais de coleta, leve consigo todos os equipamentos e suprimentos necessários.
 - Prepare uma lista dos suprimentos e recipientes necessários, e consulte a mesma ao preservar as amostras para transporte. Não confie em sua memória; ela pode falhar.
2. Faça agora e faça com rapidez
 - Algumas substâncias contaminadoras são altamente efêmeras, outras, um pouco menos. Contudo, quanto mais cedo forem tomadas medidas no sentido de impedir a deterioração química ou de manter a degradação no menor nível possível, melhores serão as chances de se obter dados analíticos válidos.
 3. Mantenha preservação ativa
 - Muitas vezes, as amostras têm que ser estocadas por períodos consideráveis, até que as análises possam ser providenciadas. Verifique as amostras com frequência, certificando-se de que as mesmas não estejam descongeladas, secas ou sofrendo outro tipo de degradação.
 4. Tenha disponíveis os equipamentos e suprimentos necessários
 - “Freezer” capaz de manter uma temperatura de no mínimo $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e que possa ser trancado, para atendimento das exigências da cadeia de custódia.
 - Solução tamponada de formol (10%).
 - Gelo úmido – universalmente disponível.
 - Gelo seco – não disponível em todos os locais ou durante todas as estações. Prepare uma lista de fontes de fornecimento, em sua área, incluindo dias e horários em que o material possa ser obtido.
 - Caixas de gelo fabricadas de material durável são as mais recomendadas. Recipientes de isopor são adequados, desde que embutidos numa caixa. Caixas de papelão grosso reforçadas são adequadas por períodos curtos, desde que revestidas

com isopor (geralmente encontradas em lojas de materiais de construção, fornecidas em folhas de 121,92 cm x 243,84 cm, com espessura de 2,54 a 5,08 centímetros). Recipientes reutilizáveis de papelão revestidos com isopor podem ser adquiridos de representantes comerciais.

Acondicionamento

O correto acondicionamento é essencial para o transporte. As amostras a serem submetidas às análises químicas devem ser embrulhadas e colocadas em recipientes adequados, de forma a não sofrerem deterioração e contaminação cruzada. Amostras inadequadamente manuseadas, geralmente, nem valem a pena ser coletadas ou preservadas. Para minimizar o risco de contaminação entre amostras, todo e qualquer material ou recipiente que entre em contato direto com as amostras deverá estar quimicamente limpo e ser quimicamente inerte.

O rigoroso atendimento de critérios sanitários é fundamental para as análises a serem executadas, caso se suspeite de agentes contaminadores orgânicos. São necessários planejamento e preparação, para garantia de que recipientes e materiais de acondicionamento apropriados estejam disponíveis e prontos para serem utilizados no campo.

Recipientes de vidro ou de outros materiais frágeis deverão ser mantidos separados e imobilizados, dentro das embalagens a serem transportadas. Para tanto, podem ser utilizadas folhas de espuma de borracha, “plástico de bolhas” ou jornal amassado. O recipiente a ser transportado deverá ser suficientemente reforçado, para suportar os esforços de manuseio. Caso as amostras devam ser mantidas refrigeradas ou congeladas, os frascos ou sacos plásticos podem ser acondicionados em gelo seco ou úmido, conforme descrito abaixo.

Amostras resfriadas

Alguns materiais devem ser mantidos refrigerados, porém, não congelados (por exemplo: peixes ou animais selvagens, para autópsia). Caixas feitas de material durável são as mais recomendadas. Caixas de isopor com paredes espessas podem ser utilizadas, desde que colocadas dentro de caixas de papelão grosso. O gelo deverá ser colocado em sacos

plásticos, para evitar vazamento de água com o seu derretimento. Acrescente material de embalagem (“amendoins” de plástico) para diminuir o deslocamento durante o manuseio dos recipientes a serem transportados.

Amostras congeladas

Na maioria dos casos, os materiais congelados devem ser acondicionados em gelo seco. Embora este produto seja caro, o custo é pequeno, se comparado ao valor de evidências perdidas e amostras destruídas. Não há um critério estabelecido para a quantidade de gelo seco a ser utilizada, porém, não faça economia. Leve em conta que o gelo seco sofrerá redução, e embrulhe-o num papel grosso, para reduzir a evaporação. Use uma quantidade suficiente para manter as amostras congeladas por mais 24 horas após o horário programado de chegada; 4,5 kg numa caixa de isopor (38 x 38 x 38 cm) permitirão cerca de 48 horas de potencial de congelamento. Não coloque gelo seco em recipientes hermeticamente vedados, pois estes poderão “estourar”. Use sempre luvas ao manusear o gelo seco.

Transporte de Amostras

O transporte de amostras de um ponto a outro (por exemplo: do local da coleta ou escritório de campo para o laboratório) pode ser frustrante e resultar em perda de tempo e dinheiro. Os investimentos feitos na coleta e preservação das amostras, de nada valem se as mesmas se perderem durante o transporte. Por vezes, ocorre extravio do material, geralmente com resultados desastrosos, como no caso de amostras perecíveis. Um planejamento cuidadoso, com atenção para os detalhes, reduz a probabilidade de perda ou dano dos materiais despachados.

O custo do transporte de amostras é um fator importante, porém, a consideração primordial deve ser a manutenção da integridade das amostras. Uma economia inicial pode resultar num custo final elevado, caso as amostras sejam perdidas ou sofram decomposição durante o percurso.

Entrega Direta

Quando possível, a melhor alternativa é entregar as amostras pessoalmente, no laboratório de análises. O acondicionamento é mais simples, a cadeia de custódia é mais facilmente mantida, o documento de recibo pode ser imediatamente emitido e os recipientes de transporte utilizados podem ser imediatamente reaproveitados.

Transporte Aéreo

A. Empresas Transportadoras

1. Empresas de transporte aéreo expresso

O transporte aéreo expresso é preferível ao transporte aéreo comum e deverá ser utilizado sempre que possível. As empresas de transporte aéreo expresso são confiáveis e têm um excelente sistema para localizar cargas extraviadas. Além disso, elas também fazem serviço de apanha e entrega (“porta a porta”).

2. Transporte aéreo comum (utilizar somente vôos regulares)

O transporte aéreo comum é satisfatório para materiais a serem enviados diretamente de uma cidade para outra. Por vezes, no entanto, a remessa pode ficar retida no trajeto, por motivo de falta de espaço na aeronave devido a cargas de maior prioridade. Se possível, deverão ser evitados transportes que envolvam troca de aeronave e, a todo custo, que requeiram troca de empresa aérea durante o trajeto.

B. Preparação para o Transporte Aéreo

1. Certifique-se de que os pacotes a serem transportados contenham nome, endereço e número de telefone do destinatário.

2. Se for o caso, escreva PERECÍVEL, em letras grandes, na parte externa do pacote.

3. Se o conteúdo estiver acondicionado em gelo seco, escreva no pacote:

GELO SECO _____ quilos

4. Se for necessário um Conhecimento de Embarque Governamental, providencie o preenchimento do respectivo formulário, antes de entregar o material à empresa transportadora.

5. Preencha o conhecimento de embarque aéreo. Identifique o conteúdo como AMOSTRAS BIO-

LÓGICAS e indique que as mesmas são perecíveis e, se for o caso, que estão acondicionadas em gelo seco. Caso o material deva ser retirado imediatamente após sua chegada, faça constar tal observação no conhecimento de embarque aéreo, e inclua o nome e o telefone do destinatário. Podem ser necessárias etiquetas especiais do tipo "Reter e Notificar".

6. Obtenha uma cópia do despacho de embarque da amostra e, no caso de ser avião, anote os números dos vôos e horários de partida e chegada, antes de liberar o material para transporte.
- C. Entrega para a Empresa Transportadora
1. Telefone para o laboratório (ou outro destinatário), para certificar-se de que alguém irá procurar e retirar o material. A remessa deverá ser despachada, de preferência, no período de segunda-feira a quinta-feira, salvo no caso de esquemas especiais.
 2. Telefone para a empresa transportadora, para informar-se sobre três itens: (1) horário da partida, trajeto (por exemplo: números dos vôos, se disponíveis), horário da chegada e número do despacho do conhecimento de embarque; (2) como e onde o material será entregue; e (3) método de pagamento exigido ou permitido.
 3. Antes de fazer o despacho do material, procure saber o nome da empresa aérea transportadora, os números dos vôos, o horário programado de chegada e o número do despacho do conhecimento de embarque. No caso de se utilizar empresa despachante ou de transporte expresso, peça o nome da mesma e os números de telefone para contato durante e fora do horário comercial.

Transporte Rodoviário

Em algumas cidades, há empresas de transporte rodoviário que fazem viagens diárias e aceitam encomendas para entrega em 24 horas. De modo geral, este método de transporte é confiável.

Serviço de Correios

Evite o Serviço de Correios se as amostras forem perecíveis. Se o material for frágil, acondicione-os com especial cuidado. Verifique se há limitações quanto às dimensões dos pacotes.

Acompanhamento

Logo que possível, após o despacho da remessa, o laboratório deverá ser avisado, por telefone, que o material está a caminho. É importante fornecer ao laboratório o número do conhecimento de embarque (aéreo ou outro) e os nomes e telefones das empresas transportadoras. Também é aconselhável descrever o material despachado (quantidade, dimensões e tipos de recipientes e respectivas etiquetas). Se algo sair errado, tais informações serão utilizadas pela empresa transportadora para localizar a remessa. O destinatário também deverá ser informado sobre o tipo de frete ("a cobrar", "pré-pago" ou acobertado por Conhecimento de Embarque Governamental). No caso de remessas com frete "a cobrar", envie ao destinatário, pelo correio, a via original do conhecimento de embarque, tendo, porém, o cuidado de guardar uma cópia. Peça ao destinatário que telefone avisando se recebeu ou não, o material despachado.

Considerações sobre Segurança

O gelo seco pode ser perigoso. Ao manuseá-lo, use sempre luvas. Não vede totalmente os recipientes a serem transportados; certifique-se de que o gás em expansão tenha como escapar, para que os recipientes não "estourem" durante o transporte.

CAPÍTULO 10

Elaboração de Relatório

Fred P. Meyer e Bernard L. Berger

Introdução

A elaboração de um relatório, após a conclusão dos estudos de campo e análises de laboratório é, por vezes, vista como um “mal necessário”. Assim, esta parte da investigação de uma mortandade de peixes frequentemente recebe pouca prioridade, tendo em vista outras demandas. É preciso que os investigadores tenham em mente que um registro por escrito é a única maneira pela qual as informações colhidas numa investigação de mortandade podem ser disponibilizadas para outros interessados, ou servir de documentação para futuros pesquisadores. O registro por escrito também fornece documentação, caso a mortandade de peixes dê origem a um processo judicial.

O relatório de conclusão da investigação deverá ser suficientemente detalhado e bem escrito, para passar pelo “crivo” de especialistas da área e resistir a questionamentos por partes contrárias. Se possível, as seções que descrevem o trabalho feito por especialistas deverão ser escritas pelos profissionais que executaram o trabalho. A interpretação dos dados deverá ser feita em colaboração com os técnicos que executaram as análises.

Conteúdo

Um relatório bem escrito constitui excelente preparação para um depoimento em juízo. Ele deverá ser escrito em linguagem objetiva, semitécnica, de modo que, advogados, cientistas profissionais e leigos bem informados possam entender claramente o que foi observado, o que foi feito, o motivo para o trabalho feito, a que conclusões se chegaram e em quê se baseiam tais conclusões. O relatório deverá incluir somente dados factuais e quaisquer inferências que possam ser feitas a partir dos mesmos. Deve-se evitar linguagem acusatória ou “inflamada”, bem como comentários e opiniões pessoais ou emocionais.

O relatório deverá ter uma apresentação profissio-

nal. O material deverá ser firmemente encadernado, para que nenhuma página seja perdida durante o manuseio ou arquivamento. Uma capa ou folha de rosto deverá ser acrescentada, para clara identificação do caso em questão.

O relatório final de uma investigação de mortandade de peixes deverá apresentar todas as informações pertinentes, de maneira clara, objetiva e explícita, e incluir local e área afetada; as espécies, tamanhos, quantidades e valor dos peixes vitimados; e uma descrição detalhada do local da mortandade. Deverá também listar as amostras coletadas; o local onde foram processadas as amostras e o responsável pelo processamento; as análises feitas e os métodos utilizados; e os dados resultantes das análises. O relatório final deverá discutir a relevância de todas as observações, evidências e dados laboratoriais; fornecer um resumo dos achados e apresentar conclusões. Deverão ser incluídas fotografias e tabelas de dados, para documentar a natureza e extensão da mortandade, bem como quaisquer resultados de análises laboratoriais que tenham sido utilizados, para se chegar à conclusão final. Caso as decisões tomadas tenham sido baseadas em referências pertinentes, tais documentos deverão ser citados.

Quaisquer medidas recomendadas deverão também ser listadas, juntamente com uma explicação dos motivos para as mesmas. Os seguintes tipos de questões deverão ser abordados: (1) A pesca no local deverá ser proibida e, caso positivo, por quanto tempo? (2) É seguro o consumo dos peixes sobreviventes? Haverá necessidade de emissão de um boletim de alerta pelos órgãos de saúde? (vide Figura 10.1) (3) Quais os danos causados ao ecossistema? (4) O curso ou corpo d'água deverá ser repovoado? (5) Que medidas serão tomadas para evitar futuras recorrências? (6) O responsável pelo incidente deverá ser processado pelos danos causados?

De modo geral, os derramamentos ou despejos óbvios (de substâncias tóxicas) que causem mortandades agudas geram medidas corretivas compulsórias. Con-



Poluição sempre destrói a estética de um rio e algumas vezes tornam o peixe impróprio para o consumo humano. Pode ser necessário proibir a pesca se uma investigação indica um problema de saúde pública.

tudo, as mortandades causadas por toxicidade crônica ou acidentes podem não dar origem a iniciativas de correção. Um exemplo disso seria a redução do nível de vazão de um curso d'água, durante um período de seca, resultando em concentrações tóxicas de produtos químicos, as quais, sob condições normais de vazão, seriam diluídas para níveis não tóxicos. Se a vazão do curso d'água for controlada pela liberação de água de reservatórios, a taxa de liberação poderia ser aumentada, durante períodos de baixa vazão, para manter a diluição necessária.

A poluição destrói a estética de um curso d'água e, por vezes, torna os peixes impróprios para consumo humano. Poderá ser necessário proibir a pesca, se um investigador indicar risco à saúde pública.

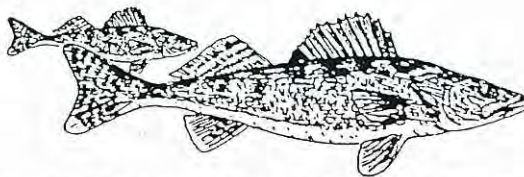
Embora nem toda mortandade de peixes seja causada por poluição, derramamento de substâncias químicas ou contaminação por produtos tóxicos, há uma preocupação, por parte do público, sobre questões potenciais de segurança ou saúde humana, as quais devem merecer atenção. Pode, ainda, haver importantes ramificações sociais ou políticas. Assim, um boletim ou "release" contendo um resumo dos achados e a re-

comendação final deverá ser emitida e submetida ao órgão oficial competente, para exame. Se este boletim deverá, ou não, for liberado para a mídia é uma decisão que cabe aos escalões superiores, a menos que o investigador tenha sido autorizado a falar em nome do órgão.

Disposição do Relatório

Embora os relatórios de conclusão de investigações de mortandade de peixes geralmente não mereçam publicação em órgãos científicos, cópias dos relatórios finais deverão ser enviadas ao órgão estadual responsável pelo controle de poluição. Além disso, o Formulário 7500-8 (Fig. 10.2) deverá ser arquivado. Cópias do relatório deverão ser mantidas num arquivo permanente do órgão responsável pela investigação, para permitir a pronta localização do mesmo, sempre que solicitado. Para fins de localização ou referência, as informações na capa do relatório deverão incluir o curso d'água afetado, a data da mortandade de peixes, o número de identificação do caso, o órgão envolvido na investigação e o nome do autor.

ADVERTÊNCIA DE SAÚDE PARA PESSOAS QUE COMEM PEIXES ESPORTIVOS DE ÁGUAS DO WISCONSIN



Esta publicação explica o que uma espécie de peixe esportivo dos lagos e rios do Wisconsin não satisfazem aos padrões de saúde para um número de poluentes tóxicos. Ela descreve precauções de saúde que devem ser consideradas antes de você decidir comer o peixe que foi pescado das águas onde os contaminantes são problema.

É importante notar que este guia possui recursos para dois avisos de saúde: um para peixes contaminados com PCBs e pesticidas (página 1, 2 e 3), e outra para peixes contaminados com mercúrio (páginas 3 a 7). As pessoas que devem tomar maiores precauções são crianças até 18 anos ou menos, mulheres que querem ter filhos, e mulheres grávidas e que estão amamentando.

PCB e contaminação pesticidas em peixes

| | Grupo 1 - Peixes com o menor risco | Grupo 2 - Mulheres e crianças não devem comer este peixe | Grupo 3 - Ninguém pode comer este peixe |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Olhar página 3 para avisos específicos de saúde em cada grupo de peixe | | |
| LAGO MICHIGAN | Truta do lago acima de 20" Salmão chinook acima de 21" Truta Brook Truta arco íris salmão rosa smelt perca | Truta do lago de 20 a 23" Salmão coho acima de 26" salmão chinook 21" a 32" Truta marrom acima de 23" | Truta do lago acima de 23" Salmão chinook de 32 a 35" salmão chinook acima de 35" Truta marrom acima de 23" carpa catfish |
| GREEN BAY sul de Marinette e seus tributários (exceto para o Baixo Lower River), incluindo o Menominee, Oconto e os Phestigo Rivers de suas bocas acima da primeira barragem. | Truta do lago acima de 20" Salmão chinook acima de 21" Truta Brook acima de 15" Truta arco íris acima de 22" salmão rosa smelt smallmouth bass Nothern pike acima de 28" Walleye acima de 20" truta marrom acima de 12" Bullhead <i>White sucker</i> | Splake acima de 16" | truta arco íris acima de 22" salmão chinook acima de 25" truta marrom acima 12" truta Brook acima de 15" carpasplake acima de 16" Pike nordeste acima de 28" Walleye acima de 20" White Bass |
| LOWER FOX RIVER da represa DePere acima da Neenah - Menasha | | Northern Pike <i>White sucker</i> | White Bass Walleye carpa Drum Channel catfish |
| LOWER FOX RIVER de acima de DePere para a barragem de Neenah- Menasha | White Bass Walleye acima de 15" Northern pike perca white sucker | Walleye acima de 15" Bullheads | carpa acima de 17" |
| LESTE A OESTE TWIN RIVERS da garganta até acima da primeira barragem | Perca Northern pike Crappie Smallmouth bass | | carpa catfish |
| MANITOWOC RIVER desde a sua nascente até a primeira barragem | NOTA: seguir o aviso acima lago Michigan para truta e salmão | | catfish |
| SHEBOYGAN RIVER no condado de Sheboygan da represa até Sheboygan Falls até a estação de Guarda Costeira na cidade de Sheroboygan, incluíno Greedale e Weedens Creeks . | Salmão Coho acima de 26" Salmão chinook acima de 21" | Truta arcoiris Truta Brook Salmão Coho acima de 26" Salmão Chinook de 21 a 32" | <i>Bluegill</i> Crappie Rock Bass* Carpa* Smallmouth bass* Walleye* Northern pike* Truta marrom Catfish* Salmão Chinook 32 a 35" Salmão Chinook acima de 35" |
| MILWAUKEE RIVER no condado de Milwaukee (inclui o porto de Milwaukee) da sua garganta até a barragem North Avenue, incluindo o Kinnickinnic e o rio Menomonee | Perca | | Crappie Northern pike Carpa* Redhorse Smallmouth bass |
| | Nota: Seguir as advertências acima para truta e salmão. | | |

Wisconsin Department of Natural Resources /Wisconsin Division of Health

Fig. 10.1. Exemplo de aviso de saúde (modificado pelo Wisconsin Department of Natural Resources 1989)

PCB e pesticida e contaminação em peixe

| | Grupo 1 Estes peixes tem o menor risco de saúde | Grupo 2 Mulheres e crianças não devem comer este peixe | Grupo 3 Ninguém deve comer estes peixes |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| See page 3 for specific health advice on each group of fish. | | | |
| MILWAUKEE RIVER da barragem de North Avenue no condado de Milwaukee a montante da barragem de Lime Klin em Grafton (Condado de Ozaukee). | Rock bass acima de 8,5" | Redhorse | Northern pike Carpa |
| CEDAR CREEK do rio Milwaukee até a Bridge Road em Village de Cedarburg | | | Todas as espécies |
| ROOT RIVER no condado de Racine da sua garganta a montante da barragem de Horlick na cidade de Racine. | Carpa acima de 21" | | carpa acima de 21" |
| NOTA: Seguir as instruções anteriores para truta e salmão. | | | |
| PIKE RIVER no condado de Kenosha da sua garganta acima de Carthage College na cidade de Kenosha. | | | Carpa |
| NOTA: Seguir as instruções anteriores para truta e salmão. | | | |
| LAKE SUPERIOR | truta do lago acima de 30" | | truta do lago acima de 30" |
| NOTA: Veja também instruções para o walleye contaminados com mercúrio no rio Saint Louis , condado de Douglas. | | | |
| UPPER FOX RIVER acima do Lago Swan no Condado de Columbia a jusante de Portage. | | | carpa |
| UPPER FOX RIVER de Portage norte do condado de Columbia não incluindo o o lago Buffalo. | Northern pike | Crappies Bullhead | Largemouth Bass carpa |
| BIG GREEN LAKE no condado do lago Verde. | Lago de truta abaixo de 32 " | | Lago de truta acima de 32" |
| WISCONSIN RIVER da barragem de Nekoosa a barragem de Petenwell (Pentenwell Flowage) | Veja instruções sobre contaminação de peixes por mercúrio no rio Wisconsin nas páginas 3 a 7 sobre Adams, Juneau, Lincoln and Wood Counties. | | Carpa |
| WISCONSIN RIVER em Wisconsin Dells à barragem Prairie du Sac (incluindo Lake Wisconsin) | | Lago Esturjão | |
| ST. CROIX RIVER de Stillwater, Minnesota, ao rio Mississippi em Prescott, Wisconsin. | <i>Drum, White bass, Carpa até 26", Walleye, Flathead catfish até 26" Sauger Buffalo até 23"</i> | | <i>Channel catfish acima de 23", Carpa acima de 26", Flathead catfish acima de 26"</i> |
| NOTA: Veja também informativo complementar para peixes contaminados por mercúrio no rio St. Croix nos condados de Douglas, Pierce, Polk e St. Croix, páginas 4 a 6. | | | |
| MISSISSIPPI RIVER fora dos condados de Pierce e Pepin de Prescott até e incluindo o lago Pepin. | <i>Drum, Walleye, Sauger White bass até 13", Flathead catfish até 13", Buffalo até 18", Buffalo até 20", Channel catfish até 16", Channel catfish até 21", Carpa até 21"</i> | <i>Channel catfish 16" até 23", Channel catfish 21" até 23"</i> | <i>White bass acima de 13", Buffalo acima de 18", Buffalo acima de 20", Flathead catfish acima de 30", Channel catfish acima de 23", Carpa acima 21"</i> |
| MISSISSIPPI RIVER de acima da barragem de Alma até a barragem de Trempealeau . | <i>Flathead catfish, Carpa até 26", Channel catfish até 21", Buffalo, Drum, Walleye, Sauger, White bass</i> | <i>Carpa acima de 24", Channel catfish 21 to 25"</i> | <i>Channel catfish acima de 25"</i> |
| Mississippi River de acima da barragem de Trempealeau até a barragem de Lynxville. | <i>Buffalo, Walleye, Crappie, Flathead catfish, Channel catfish até 24", Drum, White bass, Carpa</i> | <i>Channel catfish acima de 24"</i> | |

Advertência para os quadros 1 e 2

| | |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Grupo 1 | Níveis de contaminação em 10% ou menos, de peixes do grupo 1 testados, são acima dos padrões permitidos. COMER PEIXES DO GRUPO 1 TEM O MENOR RISCO PARA A SAÚDE. Retire a gordura e a pele dos peixes do Grupo 1, antes de cozinhar e comê-los. |
| Grupo 2 | Níveis de contaminação maior que 10% menor que 50% de peixes do Grupo 2 testados, estão acima dos padrões permitidos. CRIANÇAS ABAIXO DE 15 ANOS, MULHERES QUE ESTÃO AMAMENTANDO, MULHERES GRÁVIDAS E MULHERES QUE PRETENDEM ENGRAVIDAR NÃO DEVEM COMER PEIXES DO GRUPO 2. Você deve limitar o consumo de peixes do Grupo 2, e retirar a pele e a gordura desses peixes antes de cozinhar e comê-lo. (NOTA: veja aviso de saúde específico para peixes contaminados com mercúrio no Petenwell Flowage e Lago Superior). |
| Grupo 3 | Níveis de contaminação em peixes maior que 50% dos testados no Grupo 3 têm exigência de saúde maiores. NENHUM PEIXE DO GRUPO 3 PODE SER CONSUMIDO. * Noventa por cento ou mais dos peixes do Grupo 3 marcados com um asterisco (*) contêm níveis de contaminação acima dos padrões permitidos. |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| U.S. Food & Drug Administration and Wisconsin Division of Health - Padrões de contaminantes usualmente encontrados em peixes esportivos | |
| PCBs | 2 partes por milhão (ppm) |
| DDT | 5 ppm |
| Toxafeno | 5 ppm |
| Clordano | 0,3 ppm |
| Dieldrin | 0,3 ppm |
| Mercúrio | 0,5 ppm |
| Dioxin | 50 parte por trilhão |

Fonte: Wisconsin Division of Health and Wisconsin Department of Natural Resources, Abril de 1989.

Contaminação por Mercúrio em peixes

COMO UTILIZAR A ADVERTÊNCIA PARA MERCÚRIO

1. Medir os peixes que v. pescar da ponta do nariz até o fim do rabo.
2. Olhar a lista dos lagos publicados, todas as águas do Wisconsin contaminadas por mercúrio estão nela listadas. Veja se o lago em que v. pescou o peixe está na lista. Se não estiver, então o DNR não testou peixes deste lago, ou só testou peixes para alimentação. (Dados em lagos testados estão disponíveis nos escritórios do DNR).
3. Se o seu lago está na lista, cheque para ver qual advertência corresponde ao conteúdo de mercúrio do peixe que você pescou. Faça isto procurando o número 1, 2, 3 ou 4 ou o símbolo * - na lista que corresponde ao tamanho e espécie de seu peixe, do lago e do condado, que você pescou. Conferir qual número do grupo abaixo ele pertence (GRUPO1, GRUPO 2, etc) para saber se pode você pode comer e com qual frequência.

ADVERTÊNCIA PARA CONTAMINAÇÃO DE MERCÚRIO - PEIXE CONTAMINADO

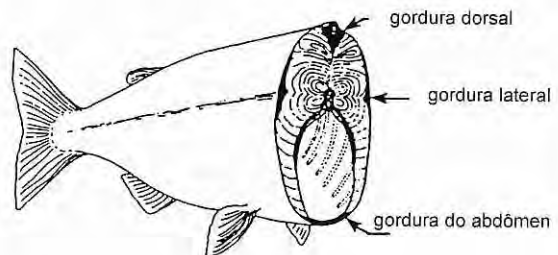
- GRUPO 1:** Mulheres grávidas não devem comer mais que uma refeição por mês de peixes do Grupo 1. Todas as outras pessoas podem comer quantidades ilimitadas de peixes do Grupo 1. Pele e filés amostrados possuem 0,5 ppm de mercúrio ou menos.
- GRUPO 2:** Mulheres grávidas ou lactantes, mulheres que querem ter filhos e crianças menores do que 18 anos não devem comer peixes do Grupo 2. Todas as outras pessoas não devem comer por ano mais que 26 refeições com peixes do Grupo 2. Não comer mais de 13 destas 26 refeições em um mês. Espace as 13 refeições remanescentes pelo resto do ano, não sendo mais que uma ou duas refeições por mês. Pele e filés amostrados possuem 0,5 a 0,75 ppm de mercúrio.
- GRUPO 3:** Mulheres grávidas ou lactantes, mulheres que querem ter filhos e crianças menores do que 18 anos não devem comer peixes do Grupo 3. Todas as outras pessoas não devem comer mais de 13 refeições de peixes do Grupo 3 por ano. Não comer mais de 7 destas 13 refeições em um mês. Espace as 6 refeições remanescentes pelo resto do ano numa média de uma refeição por mês. Pele e filés amostrados possuem 0,75 a 1,0 ppm de mercúrio.
- Grupo 4:** Ninguém deve comer peixes do Grupo 4. Pele e filés amostrados possuem acima de 1,0 ppm de mercúrio.
- * Este símbolo significa não haver informação suficiente do tamanho particular e da espécie de peixe, não estavam disponíveis advertências sobre ele.

COZINHANDO, LIMPANDO E COMENDO PEIXES CONTAMINADOS COM PCB

PCB's e muitos pesticidas, usualmente, se depositam nas gorduras dos peixes debaixo da pele mais que em tecidos ou músculos. Removendo a gordura e a pele antes de cozinhar e comer estes peixes (veja direção abaixo), você pode reduzir os níveis de PCB's e pesticidas, embora nem sempre seja suficiente para estar dentro dos padrões estabelecidos.

Para reduzir o nível de PCB's em seu peixe você deve:

- Remover toda a pele.
- Cortar fora toda a gordura escura da parte do topo do peixe ao longo de sua espinha dorsal.
- Retirar a barriga de gordura da carne ao longo das costas do peixe.
- Cortar fora a gordura escura em formato de V localizada ao longo da linha lateral em cada um dos lados do peixe.
- Assar ou grelhar os peixes sem pele, no grill, assim mais gorduras serão retiradas. Descartar todo o excesso de gorduras do grill. O peixe pode também ser cozido porém o caldo deve ser descartado.




COZINHANDO, LIMPANDO E COMENDO PEIXES CONTAMINADOS COM MERCÚRIO

Mercúrio está distribuído em todo o tecido do músculo do peixe, que a parte que você come, e órgãos, mais do que na gordura e na pele. **Você não pode reduzir os níveis de mercúrio ao remover a gordura e a pele ou cozinhando o peixe.**

Nota: se você pescou peixe dos grupos 2 e 3 da tabela de mercúrio, use o quadro abaixo para saber quantas refeições combinadas de peixes destes grupos você pode comer em um mês ou um ano.

| CONSUMO MENSAL | | CONSUMO ANUAL | |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Se você comer esta quantidade de refeições com peixes do Grupo 2 em um mês... | Coma não mais que esta quantidade de peixes do Grupo 3 no mesmo mês: | Se você comer esta quantidade de peixe do Grupo 2 numa refeição em um ano... | Coma não mais que esta quantidade de refeições do Grupo 3 no mesmo ano: |
| 0 | 7 | 0 | 13 |
| 2 | 6 | 2 | 12 |
| 4 | 5 | 4 | 11 |
| 6 | 4 | 6 | 10 |
| 8 | 3 | 8 | 9 |
| 10 | 2 | 10 | 8 |
| 12 | 1 | 12 | 7 |
| 13 | 0 | 14 | 6 |
| | | 16 | 5 |
| | | 18 | 4 |
| | | 20 | 3 |
| | | 22 | 2 |
| | | 24 | 1 |
| | | 26 | 0 |

Fish Advisory
 Wisconsin Dept. of Natural Resources
 P.O. Box 7921
 Madison, WI 53707

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  United States Environment Protection Agency Washington, DC 20460 Relatório de morte ou anormalidade de peixe causada por poluição | (Para uso dos órgãos ambientais) |
| 1. Localização/Nome do corpo d'água – latitude - longitude | 2. Data da morte ou anormalidade |
| 3. Cidade mais próxima / Estado / CEP | 4. Afetado algum sistema de abastecimento? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> |
| 5. Tipo de corpo d'água <input type="checkbox"/> Riacho/ canal <input type="checkbox"/> lago <input type="checkbox"/> represa <input type="checkbox"/> alagados <input type="checkbox"/> Outros (especificar) | 6. Conama - Classificação do rio |
| 7. Já foi observado morte ou anormalidade nesta local anteriormente? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe | 8. Uso da terra do local da morte <input type="checkbox"/> Agricultura <input type="checkbox"/> Indústria <input type="checkbox"/> Mineração <input type="checkbox"/> Escritórios/ comércio <input type="checkbox"/> Residência <input type="checkbox"/> Silvicultura <input type="checkbox"/> Cidades <input type="checkbox"/> Florestas <input type="checkbox"/> Outros/ especificar |
| 9. Causas da morte ou anormalidade <input type="checkbox"/> Bacterias / virus <input type="checkbox"/> Nuclear <input type="checkbox"/> Fenóis e cianetos <input type="checkbox"/> Sedimento <input type="checkbox"/> Metais <input type="checkbox"/> Temperatura <input type="checkbox"/> Quimicos variados <input type="checkbox"/> Turbina <input type="checkbox"/> Deficiência de oxigênio <input type="checkbox"/> Desconhecida <input type="checkbox"/> Pesticidas, herbicidas, etc- <input type="checkbox"/> Outras (especificar) <input type="checkbox"/> Óleo e graxa - <input type="checkbox"/> pH | 10. Especificar Poluentes |

Continuação

| | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------|---|----------|---|--------|---|-------|------|
| <p>11. Fonte de Poluição</p> <p><input type="checkbox"/> Agricultura</p> <p><input type="checkbox"/> Criação de animais / disposição de dejetos</p> <p><input type="checkbox"/> Tratamento plantas aquáticas</p> <p><input type="checkbox"/> Construção (estradas, ponte, outros)</p> <p><input type="checkbox"/> Dragagem</p> <p><input type="checkbox"/> Erosão</p> <p><input type="checkbox"/> Eutrofização</p> <p><input type="checkbox"/> Indústrias (Olhar categoria 21 no verso da folha)</p> <p><input type="checkbox"/> Irrigação</p> <p><input type="checkbox"/> Disposição de lixo industrial</p> <p><input type="checkbox"/> Disposição de lixo municipal</p> <p><input type="checkbox"/> Mudança de relevo</p> <p><input type="checkbox"/> Bacia de drenagem de mineração</p> <p><input type="checkbox"/> Uso da terra sem tratamento de efluentes</p> <p><input type="checkbox"/> Rompimento de tubulação</p> <p><input type="checkbox"/> Descarga elétrica</p> <p><input type="checkbox"/> Tratamento de esgoto primário</p> <p><input type="checkbox"/> Tratamento de esgoto secundário</p> <p><input type="checkbox"/> Silvicultura</p> <p><input type="checkbox"/> Transbordamento de estações de tratamento</p> <p><input type="checkbox"/> Enxurrada urbana</p> <p><input type="checkbox"/> Transporte <input type="checkbox"/> Trem <input type="checkbox"/> Avião <input type="checkbox"/> Caminhão <input type="checkbox"/> Lancha ou Barco</p> <p><input type="checkbox"/> Desconhecido</p> <p><input type="checkbox"/> Outros (especificar)</p> | | <p>12. Causa de mortes nos peixes:</p> <table border="1"> <tr> <td rowspan="4">Morte de peixes</td> <td>Esporte</td> <td>%</td> </tr> <tr> <td>Comércio</td> <td>%</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>%</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>100%</td> </tr> </table> | Morte de peixes | Esporte | % | Comércio | % | Outros | % | Total | 100% |
| Morte de peixes | Esporte | % | | | | | | | | | |
| | Comércio | % | | | | | | | | | |
| | Outros | % | | | | | | | | | |
| | Total | 100% | | | | | | | | | |
| | | <p>13. Número total de peixes mortos:</p> | | | | | | | | | |
| | | <p>14. Gravidade</p> <p><input type="checkbox"/> Total</p> <p><input type="checkbox"/> Muito</p> <p><input type="checkbox"/> Médio</p> <p><input type="checkbox"/> Pouco</p> | | | | | | | | | |
| | | <p>15. Espécies afetadas: (indicar espécies raras e ameaçadas)</p> | | | | | | | | | |
| | | <p>16. Extensão da área afetada:</p> <p><input type="checkbox"/> Quilômetro de rio</p> <p><input type="checkbox"/> Área do lago</p> | | | | | | | | | |
| | | <p>17. Duração do efeito crítico:</p> <p><input type="checkbox"/> Dias</p> <p><input type="checkbox"/> Horas</p> | | | | | | | | | |
| <p>Anormalidade</p> | <p>18. Anormalidade observada:</p> <p><input type="checkbox"/> Tumor <input type="checkbox"/> Deformidades</p> <p><input type="checkbox"/> Doença <input type="checkbox"/> Distúrbio ocular</p> <p><input type="checkbox"/> Lesão <input type="checkbox"/> Outros (especificar)</p> | <p>19. Observação adicional: (Incluir efeitos observados em outros organismos)</p> | | | | | | | | | |
| <p>Relator oficial:</p> | | | | | | | | | | | |
| <p>E-mail ou endereço:</p> | | | | | | | | | | | |
| <p>Data do relatório:</p> | | | | | | | | | | | |

Fig. 10.2. U.S. Environmental Protection Agency form for reporting a fish kill caused by pollution.

CAPÍTULO 11

Preparação para Prestar Depoimento

Lee A. Barclay

Introdução

O envolvimento com investigações de mortandade de peixes geralmente significa que os investigadores podem ser intimados a participar de audiências judiciais. De modo geral, a participação em audiências judiciais e em processos e audiências administrativas de caráter quase-judicial, de órgãos reguladores federais e estaduais, é necessária para se estabelecer os fatos que cercam uma mortandade de peixes, apurar a responsabilidade e fixar o valor dos danos.

O presente capítulo não se destina a servir de referência jurídica. Seu objetivo é dar aos biólogos de campo e outros profissionais, orientação para o que devem esperar, quando estiverem diretamente envolvidos em algum tipo de ação judicial e forem chamados a apresentar os resultados de sua pesquisa ou investigações. A discussão é primordialmente voltada para a participação em audiências administrativas e procedimentos em tribunais de justiça. A intenção é orientar sobre (1) como preparar para um depoimento em juízo; (2) como conduzir durante os procedimentos e (3) o que será perguntado durante o reexame. O conhecimento prévio de tais aspectos auxilia os investigadores a desenvolverem procedimentos adequados de pesquisa de campo e laboratorial, evitando que trabalhos científicos valiosos se tornem inúteis devido ao descumprimento de protocolos aceitos. A preparação específica por uma testemunha, para uma audiência em particular, deverá necessariamente envolver aconselhamento jurídico, antes do depoimento a ser prestado, e é influenciada pelo conteúdo do depoimento. Os investigadores deverão lembrar-se sempre que, como testemunhas, estão a serviço do tribunal.

Tradicionalmente, as ações legais envolvendo questões ambientais são julgadas num tribunal federal ou estadual. Nos últimos anos, contudo, tem havido uma forte tendência no sentido de se resolver fatos contestados em casos ambientais, em audiências administrativas realizadas por órgãos federais e estaduais, e não por um tribunal de justiça. As regras para a apresentação de depoimentos de especialistas em julgamentos ou em procedimentos administrativos do tipo adjudicatório são semelhantes. Em cada situação, o especialista é solicitado a declarar o que sabe sobre questões técnicas pertinentes ao caso em questão. Pode ser útil lembrar que, de modo geral, conclusões e opiniões não são formas permissíveis de depoimento. Uma exceção a essa regra poderá ser feita, se o entendimento for o de que, sem a assistência de especialistas, pessoas leigas não seriam capazes de tirar conclusões em certas áreas técnicas. Somente se permite que o depoente expresse opiniões se o mesmo for verdadeiramente um especialista na área. Em tais casos, ao elaborar uma conclusão, a testemunha está recorrendo aos seus conhecimentos pessoais, quando os leigos (juiz ou corpo de jurados), dados os mesmos fatos, não seriam capazes de chegar a uma conclusão. O papel de um especialista convocado como testemunha é contribuir para a base técnica sobre a qual as decisões serão fundamentadas.

Antes do julgamento ou audiência, você e seu advogado deverão decidir se sua participação como testemunha será como especialista ou como pessoa leiga que esteja de posse de evidências técnicas. Geralmente, o órgão a que você pertence terá que dar aprovação específica para que você possa depor como testemunha especialista.

Coleta de Informações para Subsidiar o Depoimento

De modo geral, observações e dados de primeira mão, coletados *in loco*, constituem evidências muito mais convincentes, em audiências judiciais, do que evidências obtidas da literatura. No entanto, a familiaridade com a literatura e outras fontes de informações é essencial para compor um depoimento. Ao se preparar para casos que provavelmente irão terminar num tribunal de justiça, o investigador deverá não apenas buscar todas as informações disponíveis de colaboradores e outras fontes, como também conduzir as investigações de campo mais detalhadas e completas que o tempo, a mão-de-obra, os equipamentos e os recursos disponíveis permitidos (para orientação sobre a condução de procedimentos no campo, ver Capítulo 3).

Preparação de Material para Súmulas ou para Inclusão nos Autos

A testemunha deverá contar com a assistência de um advogado, na preparação do depoimento e registros a serem submetidos. Uma vez que o formato, prazo de submissão, número de cópias e outras questões relacionadas com a apresentação do material variarão amplamente, dependendo do oficial ou juiz encarregados, somente algumas diretrizes gerais podem ser aqui estabelecidas.

1. Os fatos ou opiniões a serem apresentadas ou enfatizadas deverão ser selecionados pela testemunha e seu advogado, de comum acordo, para que possa identificar os principais fatos e evidências comprobatórias, decidir de que forma as informações podem ser apresentadas do modo mais convincente possível. Elaborar respostas para os pontos fracos da apresentação, e evitar temas com os quais advogado e testemunha não estejam plenamente familiarizados.
2. As evidências selecionadas deverão ser cuidadosamente pesquisadas pela testemunha e am-

plamente discutidas com o advogado, de modo a chegarem a um entendimento comum sobre a relevância das evidências e elaborarem a apresentação mais apropriada.

3. Os pontos selecionados deverão também ser examinados de maneira crítica pelo advogado, com o objetivo de identificar pontos fracos e elaborar respostas e réplicas para perguntas que possam ser feitas pelos advogados da parte contrária.
4. Auxiliada por seu advogado, a testemunha deverá preparar o depoimento e material a ser submetido, com estrita observância das normas e exigências do oficial ou tribunal de justiça.

Depoimento Oral

Diretrizes relativas ao depoimento oral foram retiradas e adaptadas de uma brochura intitulada *Preparing to Testify*, publicada pelo *U.S. Attorney's Office* (Departamento de Justiça dos E.U. 1984). Tal documento fornece as seguintes recomendações:

1. Antes do depoimento, refresque sua memória quanto à mortandade de peixes, procurando lembrar-se claramente da situação observada, das distâncias e do que ocorreu exatamente, para que você possa reproduzir os fatos de maneira correta e clara, quando for interrogado. Se uma pergunta for sobre distância ou datas, horários e sua resposta for apenas uma estimativa, deixe claro que se trata apenas de uma estimativa. Fique alerta para sugestões de advogados sobre distâncias ou datas, quando você não se lembrar da data ou distância exata. Não concorde com as estimativas dos advogados, a menos que você próprio, de maneira independente, tenha chegado às mesmas estimativas.
2. Use suas próprias palavras. Não tente "decorar" o que você vai dizer. Se o fizer, seu depoimento parecerá ensaiado e pouco convincente. Seja você mesmo. Antes da sessão de julgamento, repasse as questões sobre as quais você espera ser interrogado.
3. O mais importante de tudo é lembrar-se de que você irá jurar dizer a verdade. Portanto, diga a verdade. Todo e qualquer fato deve ser informado e claramente declarado. Não tente determinar se

sua resposta irá ajudar ou prejudicar qualquer das partes. Responda a todas as perguntas, usando todo o seu conhecimento.

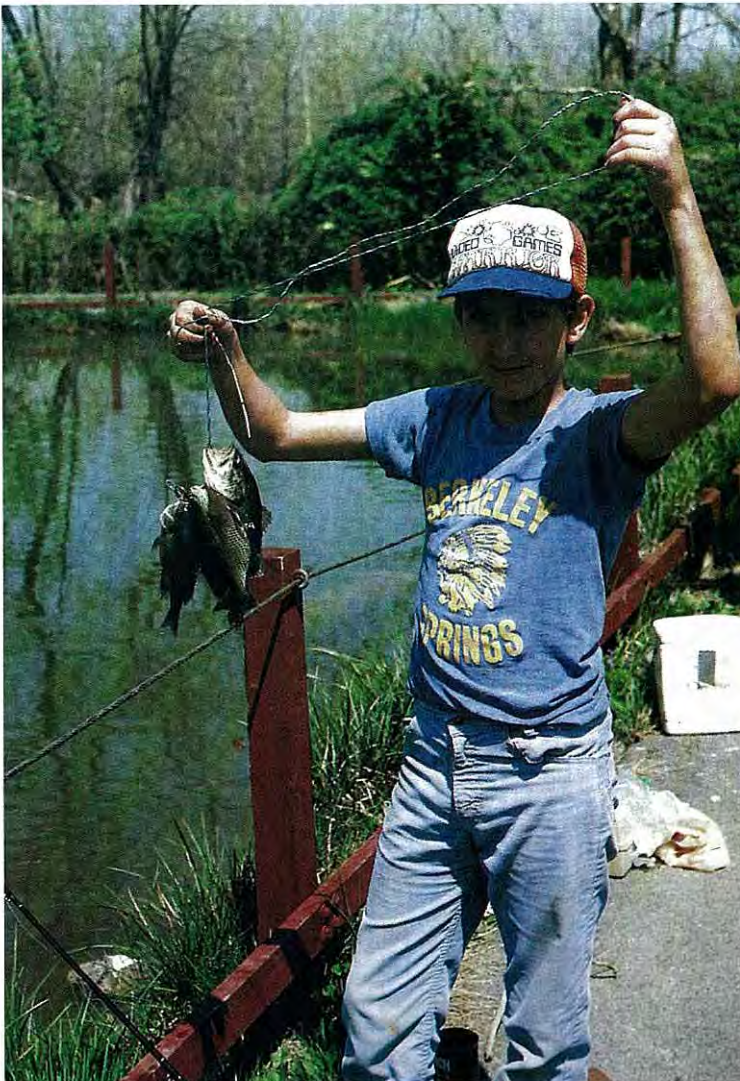
4. Não exagere. Evite fazer declarações que você tenha que corrigir mais tarde. Tenha especial cuidado ao responder perguntas que começam com "Você não concordaria que ...?" Responda usando suas próprias palavras e não permita que um advogado coloque palavras em sua boca.
5. Normalmente, ao depor, a testemunha é primeiramente solicitada a responder uma série de perguntas do advogado que a convocou como testemunha. Chama-se isto de exame direto. Após esse diálogo, a testemunha é interrogada pelo advogado da parte contrária (o advogado de defesa), o que se chama de reexame. O processo pode ser repetido duas ou três vezes, para se esclarecer algum ponto confuso. O objetivo básico do exame direto é permitir que a testemunha conte ao juiz e aos jurados o que sabe sobre o caso. O objetivo básico do reexame é tentar levantar dúvidas sobre a correção de seu depoimento. Não fique contrariado, se sentir que sua palavra está sendo questionada no reexame – é o objetivo do advogado de defesa questionar a validade de seu depoimento e a sua credibilidade. Mantenha a compostura e não se exalte.
6. Uma testemunha dominada pela raiva tende a exagerar ou dar a impressão de não ser muito objetivo ou de estar emocionalmente desequilibrado. Mantenha sempre a calma. Seja sempre gentil, mesmo que o advogado que o esteja interrogando seja descortês ou o ofenda. Não tente parecer "o cara esperto", caso contrário você perderá o respeito do juiz e dos jurados.
7. Embora você esteja respondendo às perguntas de um advogado, lembre-se que as perguntas e respostas são para o benefício do juiz e dos jurados. Fale sempre em voz clara e alta, para que todos os jurados possam ouvi-lo bem.
8. Ouça com atenção as perguntas que lhe são feitas. Certifique-se de que entendeu a pergunta, peça que a mesma seja repetida, se necessário, e dê sua resposta com toda ponderação. Não responda sem pensar. Embora não haja pressa em responder, não se justifica a demora em responder a uma pergunta simples, caso você saiba a resposta.
9. Esclareça sua resposta, se necessário. Dê a resposta usando suas próprias palavras. Se uma pergunta não puder ser respondida com "sim" ou "não", diga que a resposta não pode ser "sim" ou "não", explique os motivos e, em seguida, dê sua resposta.
10. Responda somente o que lhe for perguntado. Não forneça, voluntariamente, informações que não foram solicitadas, a menos que você e seu advogado desejem que tais informações sejam incluídas nos autos.
11. Se sua resposta não foi corretamente colocada, corrija-a imediatamente. É melhor você mesmo corrigir um erro em seu depoimento do que ter esse erro descoberto pelo advogado da parte contrária. Se perceber que respondeu incorretamente, diga: "Posso corrigir o que disse anteriormente?"
12. O juiz e os jurados estão interessados apenas nos fatos que você observou ou sobre os quais você tem conhecimento pessoal. Não emita opiniões ou conclusões, nem repita o que outra pessoa lhe tenha contado, a menos que isso lhe seja solicitado.
13. As testemunhas, às vezes, incorrem em incoerências em seu depoimento – algo que disseram antes e que contraria o que disseram posteriormente. Se isso acontecer, não fique perturbado. Explique honestamente o motivo pelo qual você disse algo errado ou se enganou. Os jurados normalmente aceitam o fato de uma pessoa cometer erros "honestos".
14. Se o juiz o interromper ou se um advogado fizer uma objeção a uma pergunta, pare imediatamente. Espere até que o juiz lhe diga para continuar.
15. Dê respostas positivas e objetivas, sempre que possível. Se puder fazer uma declaração factual, objetiva, evite dizer "Eu acho", "Eu acredito" ou "Em minha opinião". Se você sabe, diga que sabe. Se não sabe, diga que não sabe – não invente uma resposta. Seja positivo acerca das coisas importantes que você naturalmente lembraria. Se lhe for feita uma pergunta sobre pequenos detalhes, dos quais não se esperaria que uma pessoa se lembrasse, explique isso, se você não se lembrar.
16. Ao ser interrogado pelo advogado de defesa, não olhe para seu advogado ou para o juiz, buscando

ajuda. Você está por sua própria conta. Se a pergunta for imprópria, seu advogado fará uma objeção. Se for feita uma pergunta e não houver objeção, responda-a. Nunca expresse suas próprias idéias sobre o que você julga serem as normas de evidência.

17. Às vezes, o juiz pergunta, “Você discutiu este caso com alguém?” Se você disser que não, o juiz e os jurados irão saber que isso provavelmente não é verdade. O promotor geralmente conversa com as testemunhas, antes de elas subirem à tribuna, e muitas testemunhas falam anteriormente com policiais ou agentes de órgãos de fiscalização. Não há nada de errado em você ter conversado com o promotor, com a polícia ou com membros de

sua família, antes de depor. Você deverá, é claro, sempre responder a esta pergunta com a verdade. Se o tiver feito, declare abertamente que você conversou com alguém – com seu advogado, com o réu, com outras testemunhas, com parentes ou qualquer outra pessoa. Tudo o que se espera de você é que você diga a verdade, da maneira mais clara possível.

18. Após depor em juízo, como testemunha, não discuta com outras testemunhas o que foi dito durante o depoimento, até que o caso tenha sido decidido. Não pergunte a outras testemunhas sobre o depoimento das mesmas e não dê informações voluntárias sobre o seu próprio testemunho.



Boa pescaria é o resultado final de boa qualidade de água.

CAPÍTULO 12

Equipamentos Necessários para Avaliações de Campo*Georgina R. Ardingner*

Antes de se dirigir para o local de uma mortandade de peixes, certifique-se de estar preparado e de ter consigo os equipamentos necessários. Lembre-se que sua investigação pode resultar em processo judicial e que os seus registros, métodos e análises podem ser utilizados e contestados em juízo.

As listas fornecidas a seguir deverão auxiliar os investigadores na definição dos suprimentos necessários. Nem todos os equipamentos e suprimentos serão necessários para todas as investigações de mortandade de peixes. Faça uma lista de verificação dos itens de que você precisará. É melhor ter suprimentos a mais do que a menos: a falta de um item causará atrasos na investigação e poderá resultar na perda de evidências críticas.

É essencial que todos os suprimentos e materiais sejam checados ou substituídos regularmente, para garantia de que os mesmos estejam frescos e prontamente disponíveis para uso. Os meios bacteriológicos deverão ser estocados como em tubos inclinados

de 20 mL providos de tampos com rosca e firmemente fechados, para evitar que se sequem. Os tubos deverão ser esvaziados e reabastecidos mensalmente, com meios frescos. Se a embalagem ou os lacres de qualquer pacote dos itens esterilizados estiver danificado, os mesmos deverão ser imediatamente substituídos.

Nenhum dos suprimentos deverá sofrer congelamento. A solução de formol não deverá ser submetida à temperaturas inferiores a 4,4 °C, uma vez que à tal temperatura ou à temperaturas inferiores, forma-se um precipitado de paraformaldeído que torna a solução imprestável.

Os equipamentos deverão ser operados e submetidos à manutenção mensalmente, para se ter certeza de que estão funcionando. A calibração deverá ser verificada a cada manutenção. As baterias deverão ser testadas mensalmente e substituídas a cada 6 meses. Os ácidos, soluções preservativas e desinfetantes, desde que estocados em recipientes bem vedados, se manterão indefinidamente.

**LIMNÓLOGO DA
POLUIÇÃO**

Lista Geral de Suprimentos e Equipamentos Necessários para a Investigação de Mortandades de Peixes

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acessórios para chuva | Guia Ilustrado de Peixes da bacia do Rio Grande |
| Ancinho | Ictiômetro |
| Bacias galvanizadas | Jarros de vidro de boca larga (114, 227, e 454 g) |
| Balança | com tampas de rosca |
| Baldes de aço inox de 15 L | Kit de dissecação |
| Barco e motor | Kit de primeiros socorros |
| Botas (perneiras) de borracha | Kit para teste de água |
| Bússola | Lâminas p/ microscópio e lamínulas |
| Caixas de gelo ou bolsas térmicas | Lanternas potentes (6 volts) |
| Caixas para transporte | Lápis |
| Calculadora | Licença de coleta |
| Câmera de vídeo (opcional) | Lista de laboratórios disponíveis para análise e diagnóstico |
| Câmera e filme de 35 mm ou digital | Luvas de borracha |
| Caneta marcadora à prova d'água | Manual de coleta e análise de água da Cemig |
| Caneta marcadora de laboratório, para marcação em vidro, plástico e papel | Mapas da área |
| Canivete | Material para embalagem (plástico tipo bolha e/ou espuma) |
| Chave de identificação de peixes | Medidor de oxigênio dissolvido (oxímetro) |
| Chave de identificação de insetos | Medidor e padrões de pH (pHmetro) |
| Colete salva-vidas | Microscópio com lentes, x 10, x 40, x 440 |
| Coletor de amostra Surber | Nomes e números de telefone das pessoas a serem contatadas no campo |
| Coletor de amostra tipo rede "drift" | Nota: Mais tarde, pode ser necessário gelo seco para o transporte de amostras congeladas |
| Conduvímetero | Papel higiênico |
| Contador mecânico | Papel-lente |
| Corda ou barbante reforçado | Peneiras |
| Cronômetro | Pia de plástico (4 cm x 5,5 cm) |
| Diário de Campo (encapado) | Prancheta e papel |
| Disco de Secchi | Propanol – 70% (1 litro) |
| Draga de Ekman | Publicação Especial 13 da <i>American Fisheries Society</i> |
| Etiquetas impressas em branco, para amostras | Puçás com cabo comprido |
| Etiquetas para transporte | Rádio transmissor/receptor |
| Fita de medição (trena), 300 cm | Recipientes isolados, para transporte |
| Formulários de cadeia de custódia | Recipientes para coleta de amostra fornecida pelo laboratório de análises, e soluções fixador (ácidos) |
| Formulários impermeáveis para (1) notificação, (2) registro de custódia, (3) investigações de mortandade de peixes e (4) contagem | Recipientes para dissecação |
| Frascos de vidro (28 x 70 mm e 200 mL) com tampas de rosca | Rede de plâncton |
| Gancho para coletar macrófitas | Redes "kick" |
| Garfo de 4 dentes | |
| Gelo úmido ou gelo azul | |
| Gravador | |

Redes de arrasto (Minnow)
 Relógio de pulso
 Respirador com cartuchos apropriados
 Rolo de fita de advertência/isolamento
 Rolo de fita de mascarar
 Rolo de papel-alumínio
 Rótulos impressos em branco, para amostras
 Sacos de lixo grandes
 Sacos de plástico (203 x 127 mm, 305 x 203 mm,
 e 460 x 229 mm)
 Saturômetro
 Solução de Lugol (250 mL)
 Solução Roccal – 10% (1 litro)
 Solução salina normal (1 litro)
 Solução tamponada de formol – 10% (4 litros)
 Termômetro (certificado)
 Turbidímetro

Suprimentos e Equipamentos Especializados Necessários para a Investigação de Mortandades de Peixes

Água

Amostrador Kemmerer

Garrafas para amostras (1 litro)

- De plástico – polietileno ou equivalente; lavadas com ácido
- De vidro – lavadas com ácido; lavadas com solvente orgânico

Preservativos

- Ácidos – H_2SO_4 , HNO_3
- Bases NaOH
- Acetato de zinco
- Tiosulfato de sódio $Na_2S_2O_3$

Plâncton e Macrófitas

Preservativos

- Fitoplâncton – formol neutralizado ou solução de Lugol
- Zooplâncton - formol neutro a 5%, propanol a 70%

Sedimentos – para Substâncias Orgânicas ou Metais

Instrumento para coleta de testemunhos

Jarros de vidro de boca larga e de tamanhos variados (lavados com ácido) Tampas revestidas com Teflon (fechamento hermético) para jarros de vidro (4, 8, 16 e 32oz*)

Nota: Caso não sejam encontradas tampas revestidas com Teflon, utilizar papel-alumínio lavado com hexanol, para o revestimento.

Frascos diversos (lavados com ácido), com tampas revestidas com Teflon

Para Bacteriologia

Tubos de ensaios inclinados, com tampa, contendo Ágar brain heart infusion ou Ágar Trypticase soy, para isolamento e cultura da maioria dos agentes patológicos de peixes. Se os peixes em questão forem marinhos ou espécies de água doce salobra, adicionar NaCl (cloreto de sódio) a 1%

Tubos de ensaios inclinados, com tampa, contendo Ágar tryptone yeast extract, para isolamento e cultura de *Flexibacter* sp.

Tubos de ensaios inclinados, com tampa, contendo Ágar Sangue, para isolamento de bactérias fastidiosas

Presilhas esterilizadas (do tipo metálico, pré-embalados, descartáveis ou reutilizáveis)

Álcool etílico para a desinfecção de instrumentos

Bolas ou mechas de algodão

Bico de propanol

- As unidades de medida mostradas são mais comumente utilizadas para itens disponíveis no comércio.¹

¹ 4,0 oz = 113,4g
 8,0 oz = 226,8g
 16,0oz = 453,6g
 32,0oz = 907,2g

Teste sua Habilidade

Fred P. Meyer

Introdução

Introdução, procedimentos, documentação e muitos outros aspectos de uma conduta apropriada em uma investigação de morte de peixe foram discutidos nos capítulos anteriores. Entretanto, não se deu aos leitores a oportunidade de rever detalhes de mortes reais e a tentativa de descobrir as causas. Esta oportunidade é dada aqui: sete casos são descritos que ilustram alguns dos problemas de um investigador e os problemas para solucioná-los.

Cada caso histórico é apresentado em quatro partes: uma descrição do local e da maneira da morte, o procedimento seguido durante a investigação, os resultados de laboratório e do campo, e a conclusão da causa. Ao final de cada parte, você é convidado a escrever uma conclusão que você pode ter antes de passar para o próximo caso. Você pode querer usar a chave dicotômica do Capítulo 3 como um guia, de forma a determinar as causas possíveis. A solução está no final de cada caso.

O Caso de Botched Batch

A. Descrição

Pescadores profissionais de um grande rio reportaram que muitos peixes mortos foram aparecendo em suas redes. Havia acontecido um recente aumento do nível de água, após uma seca prolongada. Nenhum peixe foi observado morto durante o aumento, mas depois, foram vistos pequenos peixes. Após visitar o local, o observador notou que muitos peixes pequenos e alguns grandes estavam mortos, outros grandes estavam letárgicos e apáticos. Se tocados, alguns peixes afetados apresentavam convulsões. Uma grande variedade de espécies de peixes foi afetada. Uma análise

da água revelou as seguintes características: pH, 7,5; OD, 7 mg/L; temperatura, 27 °C; dureza, 230 mg/L (como CaCO₃). A água do rio parecia normal e não foi afetada. Amostras coletadas do rio revelavam uma abundância de algas de várias espécies, uma ausência de organismos bentônicos vivos e muitos caranguejos mortos. Uma olhada de um tributário na área indicou peixes de várias espécies e tamanhos, organismos bentônicos vivos, caranguejos vivos e presença de algas de várias espécies. As características físico-químicas do tributário foram as seguintes: pH, 7,5; OD, 7 mg/L; temperatura, 25 °C; e dureza, 218 mg/L.

B. Quais as conclusões preliminares que podem chegar a partir das informações acima?

1. A fonte dos problemas estava a montante.
2. A causa não estava relacionada à depleção de OD.
3. A causa não era uma doença infecciosa, porque muitas espécies de organismos foram afetadas.
4. A causa deve ser uma substância tóxica, porque uma grande variedade de espécies foi afetada e os peixes pequenos morreram primeiro.
5. A substância tóxica parece ter sido qualquer coisa, menos herbicida. Pode ter sido um inseticida, pesticida de ou outro produto químico, porque matou peixes, benton, e grandes crustáceos, mas não algas.

C. Como o investigador deve proceder?

1. Conduzir uma pesquisa a montante do local inicial, para identificar onde os peixes estão vivos e a presença de biota normal.

2. Coletar amostras de água para análise de agrotóxicos.
3. Selecionar peixes moribundos (não peixes mortos); coletar amostras de tecidos de sangue, cérebro e fígado, tanto quanto de todo peixe. Congelar as amostras e enviá-las para o laboratório com as amostras de água.
4. Checar todos os tributários e os potenciais pontos na vizinhança, logo a jusante de onde a biota normal foi observada. Coletar amostras de sedimento, água e peixes moribundos, como em (2) e (3), para análises químicas.
5. Coletar amostras similares dos tributários, onde a vida aquática não foi afetada.
6. Quando a causa suspeita for provavelmente identificada, contatar as pessoas ou indústrias na área, que possam provavelmente estar envolvidas com a causa. Se necessário, conseguir licenças para entrar em áreas suspeitas.

D. Informações vindas do laboratório e do trabalho de campo.

1. As pesquisas do rio indicaram que os peixes mortos podem ser rastreados até um único tributário, no qual muitas indústrias foram localizadas. A porção afetada do sistema se estende mais que 1,6 km a montante de qualquer indústria.
2. A zona de morte terminou na margem ao lado do rio.
3. Uma checagem do local mostrou uma erosão recente do lixo entre o rio e a margem. O material retirado está agora em contato com as águas do rio.
4. Uma área grande de uma substância escura e viscosa cobriu a barragem.
5. Uma análise laboratorial revelou que a substância negra continha uma alta concentração de Aldrin.
6. Amostras de água tomadas no rio a montante da entrada do tributário sem Aldrin, mas amostras logo a jusante com significantes concentrações.
7. Amostras de sedimento tomadas de locais a montante da barragem sem a presença de Aldrin, mas altas concentrações estiveram

presentes nas áreas, onde estava confinado o Aldrin.

8. Uma das indústrias era conhecida por produzir agrotóxico, mas não se sabia onde era produzido o Aldrin. As amostras de sedimento coletadas na fábrica continham somente traços de Aldrin.
9. Análise do corpo dos peixes do local onde a mortandade se iniciou, revelando concentrações moderadamente altas de muitos agrotóxicos nos peixes do rio e dos tributários.
10. Sangue, cérebro e fígado apresentaram baixos níveis de Aldrin, entre 0,15 a 0,22 mg/L.
11. Uma checagem das informações de toxicidade do Aldrin revelou que concentrações acima de 0,19 mg/L ou mais no cérebro induzem a convulsões e à narcoepilepsia, e são letais para os peixes.
12. Uma checagem dos pontos de descargas das várias indústrias revelou que uma delas produzia Aldrin, mas o gerente da fábrica negou a liberação de qualquer efluente dela.
13. Amostras de sedimento e água tomadas na descarga de várias indústrias revelaram que as concentrações de Aldrin nas amostras eram virtualmente iguais em todas elas.
14. Uma revisão da barragem (aterro) revelou evidências, identificando as empresas de agrotóxicos como fontes da substância negra.
15. Discussões detalhadas com os empregados da indústria de agrotóxico revelaram que a produção de Aldrin tinha sido ruim, foi finalizada e descarregada no reservatório.

E. Conclusão final

O envenenamento por Aldrin resultou de uma descarga ilegal.

O Caso da Clear Creek Caper

A. Descrição

Um tanque de cultivo de truta era normalmente alimentado por um riacho, mas por causa de uma seca prolongada, a vazão se tornou muito baixa e

a água suplementar foi sendo bombeada do riacho, para manter o nível do tanque. Uma manhã, o proprietário dos tanques encontrou uma grande mortalidade de trutas. Os únicos peixes vivos eram pequenos, recentemente estocados. Além disso, um “bloom” de algas, a princípio presentes acabou, e a água se tornou clara como o cristal. O proprietário desligou a bomba do córrego e chamou a agência local de controle de poluição para ajudar na identificação química, que poderia ter descido do riacho e matado os peixes. Ele suspeitou que alguém tivesse descarregado uma substância tóxica no riacho, e planejado processar a pessoa responsável.

B. Quais são as conclusões preliminares que se pode chegar, baseadas nas informações acima?

1. A presença de grandes peixes mortos e de pequenos peixes vivos sugere possível depleção de oxigênio.
2. O desaparecimento do bloom de fitoplâncton e a transparência da água sugere que o agrotóxico foi à causa do problema.

C- Como deve o investigador proceder?

1. Verifique o oxigênio dissolvido no tanque e a montante.
2. Observe para ver se tem algum efeito nas plantas e outras vidas aquáticas no riacho, a montante e abaixo do tanque.
3. Verifique a química da água no riacho e no tanque.
4. Cheque para ver se algum agrotóxico foi usado no dia anterior, na região.

D. Informações vindas do laboratório e do trabalho de campo.

1. O nível de oxigênio dissolvido no tanque, durante a manhã até 14 horas, foi de 4 ppm, e de 16 h até o final do dia, foi de 4 ppm. No riacho foi constante: 8 ppm.
2. Todas as plantas e biotas, acima e abaixo do tanque, estavam vivas.
3. A química da água do riacho e do tanque são as mesmas.

4. Nenhum agrotóxico tem sido aplicado na região do riacho ou do tanque.
5. Foi comentado, que o tanque foi tratado previamente como medida profilática, para controle de parasitas com 2 mg/L de Cutrine. No entanto, essa concentração tem sido usada nos últimos meses sem problema.

E. Conclusão final

A causa da morte de peixe foi a depleção de oxigênio pela ação algicida do Cutrine. Perda da atividade fotossintética, devida à diminuição das algas, reduz o oxigênio dissolvido abaixo do limite letal para trutas de grande porte. Pequenos peixes são hábeis em obter oxigênio para sobrevivência. Durante as estações frias, quando o fluxo de água foi normal, o oxigênio foi suficiente para os peixes suportarem os efeitos do Cutrine. Mas em outras circunstâncias, como nesse caso, o oxigênio dissolvido foi baixo e não contrabalançando os efeitos do Cutrine.

O Caso do Black Lagoon

A. Descrição

Um lago comprido, raso do município (média de profundidade de 1,8 m) tinha um tributário que finalizava abruptamente no final, e um grande moinho e vários sítios e lojas de produtos químicos para jardim à jusante do rio. Em agosto, houve uma morte de peixes no lago. Quando os investigadores chegaram às 11h da manhã, muitos *bullheads* foram vistos nadando na superfície, mas todos os outros peixes vistos estavam mortos. A água tinha uma verde escura no início da semana, mas subitamente ficou escura e com mau cheiro. No dia seguinte, uma chuva forte seguida de granizo, caiu na área. A cidade achava que uma substância tóxica tinha sido lavada para dentro do lago vindo das companhias químicas ou moinhos e queriam saber quais as amostras deviam ser feitas para identificar o composto. Às 13 horas, o oxigênio dissolvido era 2 mg/L. O nível do lago subiu cerca de 0,3 m em 6 horas após a chuva, e havia um forte odor de sulfeto e metano.

B. Quais são as conclusões a que se podem chegar, baseadas nas observações acima?

1. Uma depleção de oxigênio é sugestiva, mas a chuva tende a confundir a situação, porque a enxurrada deve ter adicionado água oxigenada.
2. “Black bullheads” estão entre as espécies mais resistentes à substâncias tóxicas. Peixes de todas as outras espécies morrem. Assim, a substância tóxica não deve ser descartada.

C. Como deve o investigador proceder?

1. Examinar imediatamente, no local, o oxigênio dissolvido e o pH.
2. Coletar amostras de água em intervalos ao longo do comprimento do lago, na superfície, metade da zona fótica e próximo ao fundo. Ter parte de cada amostra analisada para características químicas e alguns agrotóxicos.
3. Coletar amostras do peixe todo: fígado, brânquias e sangue, para análise em laboratório.
4. Obter dados hidrológicos e limnológicas do lago.

D. Informações vindas do laboratório e do trabalho de campo.

1. Quando os peixes foram coletados, as brânquias estavam sangrando. Em um exame mais acurado, muitos aneurismas apareciam nas brânquias. Em muitos peixes, as brânquias estavam escurecidas, ao invés de vermelhas e brilhantes.
2. Um primeiro exame das amostras de água revelaram uma abundância de detritos escuros e algas mortas.
3. Os exames das amostras de água mostraram altos níveis de H_2S , CO_2 , nitrito e nitrato.
4. A acidificação das amostras de sangue liberou um odor de H_2S .
5. As análises de peixe e as amostras de água apresentaram baixos níveis de numerosos compostos. Mas, nenhum em concentrações tóxicas para os peixes.

6. Normalmente, esse lago estratifica durante o verão. As temperaturas da superfície e do fundo se diferem mais ou menos em torno de $11\text{ }^\circ\text{C}$. Na data da investigação, a temperatura do lago era a mesma, do fundo até à superfície.

E. Conclusão final

A perda de peixes era devido à combinação de baixo oxigênio e envenenamento por H_2S . A temperatura uniforme, do fundo até a superfície, e a presença de detritos negros pela coluna d'água indicaram que o lago não estava mais estratificado. Assim, é provável que a chuva fria e forte que caiu produziu uma mistura. Então, misturou completamente o lago e o fundo anóxico com a superfície. Isto resultou na liberação da H_2S e metano, causando uma drástica diminuição de oxigênio dissolvido. A combinação foi letal para todos os peixes, exceto para os resistentes, como os bagres, que mostraram sinais de sulfohemoglobina (sangue escuro) e envenenamento por H_2S (aneurisma) em brânquias.

O Caso do “One Too Many for the Road”

A. Descrição

Quando um pescador profissional deixou suas redes em um grande rio, logo a jusante de uma cidade de grande porte, depois de um sábado de manhã e de um dia para o outro, ele encontrou muitos peixes mortos de muitas espécies. Embora a maioria dos peixes mortos estivesse com menos que 15 cm, muitos peixes grandes foram encontrados. Ele não encontrou peixes vivos. Todos os peixes tinham as bocas abertas e as brânquias brilhantes, e pareciam ter morrido em agonia. Exceto pelos peixes mortos, o rio parecia normal. O pescador chamou o State Department of Natural Resources e solicitou ajuda para resolver a causa da morte. Uma pesquisa preliminar revelou que não havia nenhum peixe morto a 4 km a montante da rede do pescador (um lugar acima do distrito industrial). Uma vala de drenagem de lixo com

peixes mortos caía no rio, neste ponto. No final da passagem da fossa, uma corrente fechava com uma placa “Não ultrapasse – propriedade do Governo dos Estados Unidos”. Um cano de 30 cm saía de um aterro de mais ou menos 75 m pela cerca.

B. Quais conclusões preliminares podem ser tiradas com base nas informações acima?

1. Por mais que qualquer morte de peixe seja rápida, eventos catastróficos no ecossistema devem ter acontecido, já que os peixes morreram de uma hora para a outra, durante a noite.
2. A mortandade atingiu muitas espécies e tamanhos de peixes, sugerindo que a causa possa ter sido uma substância tóxica.
3. A fonte foi claramente a montante das redes do pescador, e pode ter originado a drenagem das valas de lixo.

C. Como a investigação deve proceder?

1. Coletar as amostras de brânquias, fígado e sangue do peixe, e enviar para análises em laboratório. Neste ponto, é difícil saber qual a substância usada.
2. Pesquisar de modo minucioso a área de montante, dando particular atenção às áreas de menor velocidade da água, rasas e de margem, quando procurar por peixe morto. Anote todos os pontos de descarga, à medida que se vai subindo o rio.
3. Coletar amostras de sedimento no rio 100 m a montante da drenagem da fossa na sua saída, 100 m a jusante dela e 50 m acima dela.
4. Contatar a polícia local para determinar o nome da indústria e o nome e telefone do gerente responsável.
5. Contatar o gerente e requerer permissão para entrar na propriedade. Estar preparado para contatar a justiça, se necessário, para obter uma autorização legal para inspecionar a propriedade e coletar as amostras necessárias. (Neste exemplo, a permissão foi facilmente concedida.) A área cercada era uma indústria pública. Devido à empresa não operar durante

o fim de semana, somente o pessoal de segurança e manutenção estava presente. Quando foram mostrados os peixes mortos na vala, o gerente não foi capaz de responder o porquê. Ele disse que o cano de escoamento da vala era de fato um cano de esgoto, mas reconhecendo que drenava para o solo e conectado ao prédio. Entretanto, ele disse que todo o esgoto tóxico era estocado em tambor de 55 galões, que era esvaziado a cada sexta-feira após o trabalho, e aprovado por uma empresa de disposição de substâncias tóxicas. Nenhum efluente foi disposto de qualquer outra forma. A presença de 25 containers vazios atestava o fato de a empresa ter jogado fora o efluente.

6. Coletar brânquias de peixes, fígado e sangue, tanto quanto o esgoto e o sedimento, imediatamente após o cano de drenagem. Enviá-los para o laboratório.
7. Coletar substâncias que se mantiveram nos tambores, e enviá-las para análise no laboratório. Informar-se de quais análises são requeridas para substâncias usadas em fábricas de munição.

D. Informações derivadas do laboratório e do trabalho de campo.

1. Análises das amostras de peixes coletadas na rede do pescador informavam nenhum nível significativo de agrotóxico.
2. Em análises de amostras coletadas na saída do cano, 100 m à jusante, no esgoto e na água de drenagem pluvial, foram verificados altos níveis de substâncias tóxicas usadas na fabricação de munição.
3. Análises tomadas do esgoto tóxico contido no tambor apresentavam altas concentrações da mesma substância tóxica.
4. Análises das amostras de peixes coletadas das redes do pescador revelaram altas concentrações da mesma substância tóxica.
5. Uma checagem da planta industrial localizada na descarga do riacho revelou que a fábrica de munição era o único usuário suspeito de utilizar esta substância química.

E. Conclusão Final

Os peixes foram mortos pela substância tóxica indicada, originária da fábrica de munição. O gerente da empresa sustentou que a fábrica era inocente, e que seus empregados seguiam ordens estritas de não descarregar qualquer produto químico na natureza. Mas durante a investigação feita na fábrica nesta época, a empresa contratada para disposição do esgoto tóxico enviou dois caminhões, cada um com a capacidade para 12 galões. Apesar da solicitação de caminhões com mais tambores, os motoristas esvaziavam os mesmos no solo, e retornavam para acabar de transportar mais. Um segurança viu, e pensou que os motoristas estavam apenas lavando os tambores.

O Caso do Almoço Letal

A. Descrição

Uma morte de peixe foi reportada por alguns pescadores em um grande lago. Eles disseram que somente os “largemouth bass” de mais de 2 kg foram afetados, incluindo alguns peixes de mais de 5 kg. O investigador do Department of Natural Resources chegou à marina para encontrar alguns pescadores que falaram sobre uma morte diferente. Uma viagem pelas margens do lago começou, mas como o vento soprava para fora, uma decisão foi tomada para se procurar peixes mortos longe da margem. No caminho pelo lago, peixes foram visto em angústia na superfície, e peixes grandes foram vistos chocando-se com os peixes afetados. Verificou-se que os peixes estressados eram “gizzard shad” de 15 a 20 cm de comprimento. O exame ao longo da margem do rio revelou que os peixes mortos ou que estavam morrendo eram bagres, mas havia também numerosos moribundos ou mortes de grandes bagres, gars e “gizzard shad”. Os “gizzard shad” estavam enfraquecidos, tinham as nadadeiras erodidas e grandes áreas do corpo necrosadas. Algumas lesões tinham fungos. Inspeções revelaram que seus estômagos e intestinos continham uma substância mucóide acinzentada, mas não havia comida. Os pescado-

res da região, no dia da inspeção, disseram que a pescaria de bagres estava muito boa, e que o “bluegills” e “crappies” estavam pegando bem.

B. Quais conclusões preliminares podem ser tiradas das informações anteriores?

1. Deterioração da qualidade da água não era a causa do problema, como evidenciado pela saúde de muitos peixes.
2. Nenhuma substância tóxica estava envolvida, porque os peixes pequenos desenvolviam-se sem problemas, e somente os peixes grandes estavam morrendo.
3. A causa não era depleção de oxigênio, porque a pesca ia muito bem.
4. Todas as espécies afetadas, exceto a “gizzard shad”, eram grandes predadores. Alguns fatores relacionados a ambos os problemas foram descritos.

C. Como deve o investigador proceder?

1. Coletar os peixes moribundos de todas as espécies afetadas para análises bacteriológicas e checar presença de parasitas. Colocar os peixes em sacolas plásticas individuais.
2. Examinar os peixes moribundos com microscópio para checar as lesões no “gizzard shad” e a substância cinza dos intestinos dos predadores.
3. Fazer um inóculo em meio de cultura, para avaliar os problemas bacteriológicos das lesões, rins e intestinos.

D. Informações dos resultados das análises laboratoriais e do trabalho de campo.

1. Nenhum parasita comum a todas as espécies foi encontrado.
2. Exame microscópico das lesões encontradas no “gizzard shad” revelou forte infecção de myxobactéria típica daquelas que causam doenças de coluna.
3. Exames microscópicos do intestino dos peixes predadores revelaram a presença de uma grande quantidade myxobactéria.

4. Em culturas de bactérias foram identificadas a *Flexibacter colunaris*, que causa a doença de coluna.
5. Culturas de outros patógenos bacterianos foram negativos.
6. O “gizzard shad” foram todos de uma classe e em condições físicas pobres.

E. Conclusão final

A causa da mortandade de peixes foi a doença de coluna. A doença originou-se no colapso de uma super abundância de “gizzard shad” de uma mesma geração, provavelmente por causa da idade e condição física baixa, além de outros fatores de estresse. Predadores que eram suficientemente grandes para alimentar-se dos peixes moribundos contraíram a doença e morreram de infecção. Peixes não suficientemente grandes para se alimentar dos “gizzard shad”, de 15 centímetros, sobreviveram.

O Caso da Caprichosa Fábrica de Algodão

A. Descrição

Em um estado do sul, em um lago localizado numa área produtora de algodão, havia grande abundância de populações de peixes, mas uma mortandade se desenvolveu em dezembro. Bagres, “gars”, grande “bass” e grandes “crappies” foram afetados. No entanto, peixes forrageiros eram avistados por toda margem e apresentavam boa saúde. A temperatura da água era 3 °C; pH, 8,0; oxigênio dissolvido, 8 ppm e dureza, 375 ppm (CaCO₃). Um pequeno “bloom” de algas verdes estava presente. Não havia nenhuma cidade ou indústria na área. Uma fábrica de algodão, na margem do lago, despejava fibras de algodão dentro do mesmo. Empregados da fábrica comunicaram que frequentemente viam peixes pequenos se alimentando das matérias despejadas no lago, pela fábrica, mas nunca havia sido visto peixes pequenos mortos. Entretanto, eles se recordam de terem visto peixes grandes mortos

em dezembro dos últimos anos que se passaram. A produção estava parada há cinco semanas. Inseticidas e desfolhantes havia sido aplicados nas plantações adjacentes por meio de um avião, mas não durante os últimos dois meses. Durante a estação de aplicação não havia sido reportado mortandade de peixes.

B. Quais conclusões preliminares podem ser retiradas baseadas nas informações acima?

1. A mortandade não tem relação com produtos químicos despejados ou substâncias tóxicas inesperadas, devido ao fato de peixes de pequeno porte ainda estarem vivos.
2. Não havia envolvimento de herbicidas, pelo fato de um bloom de algas ainda estar presente.
3. A causa da mortandade não foi depleção de oxigênio, evidenciado pela medição desse parâmetro, relativa temperatura baixa da água e bloom de algas.
4. Um agente infeccioso foi descartado pelo grande número de espécies afetadas.

C. Como a investigação deve prosseguir?

1. Avalie a população de peixes para determinar as espécies e o tamanho da composição.
2. Avalie a comunidade bentônica e zooplânctônica.
3. Colete amostras de água e sedimentos nas diferentes camadas do lago e próximo à fábrica de algodão. Envie-as para serem analisadas, procurando por pesticidas de algodão.
4. Colete amostras dos peixes de fígado, cérebro e sangue, além de peixes inteiros vivos e mortos. Envie-as para serem analisadas, à procura de agrotóxicos de algodão.
5. Confira os dados climáticos das últimas duas semanas.
6. Inocule bactérias provenientes das culturas, para confirmar a existência de possíveis organismos patogênicos.
7. Confira sinais de infestações de parasitas.

D. Informações derivadas do trabalho de campo e laboratório

1. A estrutura da população de peixes foi bastante incomum. Espécies forrageiras e herbívoras, além de predadores juvenis, eram abundantes. Entretanto, havia poucas espécies de predadores com mais de três anos. Mesmo assim, peixes não predadores de idade entre 0 e 10 anos eram comuns.
2. Amostras da água e dos sedimentos mostraram diferentes níveis de agrotóxico para algodão, nas diferentes regiões do lago, e significativo nível de resíduo em sedimentos, devido ao vento abaixo da fábrica.
3. Animais bentônicos eram escassos; havia presença de zooplâncton vivo.
4. As amostras de peixes forrageiros e herbívoros mostraram níveis moderados e baixos de concentração de pesticida, ao contrário dos níveis encontrados nos predadores vivos. Em muitos casos, chegando até LC50 para o químico.
5. As amostras de fígado de peixes vivos tiveram níveis baixos de vários tipos de agrotóxicos. Em amostras de peixes mortos, os níveis foram maiores.
6. Amostras de sangue e cérebro dos predadores mortos indicaram níveis médios e altos de pesticidas de algodão. Em predadores vivos, os níveis foram menores, mesmo assim, muito maiores que nos peixes não predadores.
7. Uma comparação de concentração entre sangue e cérebro, com valores publicados na literatura, indica que os níveis estavam acima do limite letal nos peixes mortos. Nos predadores vivos, a concentração era elevada, mas não tóxica ou letal.
8. A busca por parasitas foi negativa, e nenhum organismo patogênico foi observado em culturas bacteriológicas.
9. As condições climáticas havia sofrido grandes variações nos últimos 10 dias. A temperatura caiu rapidamente uma semana antes da mortandade, e não havia sido recuperada ainda.

E. Conclusões Finais

A mortandade foi um resultado indireto da deposição crônica de pesticidas de algodão no lago. Embora a quantidade depositada em qualquer das ocasiões tivesse sido menor que os níveis tóxicos, bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica resultaram em níveis significantes nos peixes. Devido aos predadores maiores estarem no topo da cadeia, resíduos acumulados foram maiores neles. Com a chegada do inverno, o peixe começou a utilizar gordura acumulada em seus tecidos. O frio recente provavelmente causou mobilização da gordura corporal junto com resíduos de pesticidas. Análises mostraram que os níveis no sangue e cérebro estavam acima do limite letal nos peixes vivos. Essa conclusão foi apoiada nos valores residuais de vários componentes na cadeia trófica e na estrutura incomum da comunidade de peixes.

O Caso da Chuva Ácida

A. Descrição

Uma piscicultura localizada na orla de um grande lago, circundado por uma grande cidade que utiliza sua água para abastecimento e depósito de esgoto doméstico, já existia há muitos anos, e havia um sistema de remoção do cloro da água. Um dia, todos os peixes da estação morreram repentinamente. Os peixes dos tanques da piscicultura saltavam para fora dos tanques, estavam pálidos e morreram com brânquias chamuscadas, inflamadas, avermelhadas e de boca aberta. Nos tanques, a água claramente adulterada e plantas aquáticas ficando marrons e brancas. O gerente da piscicultura entrou em contato com o Departamento de Água da cidade, e perguntou o que havia acontecido. O suprimento de água estava baixo, devido a um reservatório local alimentado por corpos d'água provenientes de montanhas e suas florestas. O Departamento de Água entrou em contato com o Departamento de Recursos Naturais para dar assistência na determinação de agrotóxicos, que poderiam ter sido utilizados nas florestas e

ter entrado no abastecimento de água, causando a mortandade. Chuvas havia caído recentemente, e havia uma suspeita de que enxurradas pudessem ter lixiviado os agrotóxicos até o reservatório.

B. Quais conclusões preliminares podem ser retiradas baseadas nas informações acima?

1. O incidente foi resultado de um problema ambiental catastrófico, causado por uma substância altamente tóxica a peixes e plantas.

C. Como a investigação deve prosseguir?

1. Analise as águas dos tanques à procura de agrotóxicos e cloro.
2. Visite o Departamento de Água para determinar o que pode ter sido feito fora dos padrões dentro das últimas 24 horas.
3. Faça uma análise completa da amostra de água dos tanques de peixes da piscicultura.
4. Colete e congele amostras de peixes da piscicultura. Guarde-as para futuras análises.
5. Confira o reservatório utilizado para coleta de água. Colete água do reservatório para análises.

D. Informações derivadas do trabalho de campo e de laboratório.

1. Não havia cloro residual na água dos tanques. O sistema de remoção de cloro funcionava perfeitamente.
2. O Departamento de Água da cidade alega que o tratamento de água havia ocorrido como padrão.
3. Uma visita ao reservatório revelou que o nível da água havia estado bastante baixo, devido à estiagem prolongada. Entretanto, chuvas torrenciais nas montanhas, nas últimas 48 horas, haviam feito o nível d'água subir 3,5 metros. O reservatório havia enchido de água turva e avermelhada devido ao carreamento de argila. Pescadores disseram que a pesca com vara estava boa no dia da visita ao reservatório, e que nenhum peixe morto havia sido visto. A vegetação ao longo da margem estava normal.

Nota: Até então, as evidências indicam que a fonte do problema não está relacionada com o reservatório. Qualquer que seja a causa, ela se desenvolveu no sistema de água entre o reservatório e a piscicultura.

4. Análises químicas da água dos tanques revelaram as seguintes características: dureza, 30 ppm (CaCO_3); oxigênio dissolvido, 8,0 ppm; pH, 3,0; alcalinidade total, zero; total de sólidos suspensos, 5 mg/L.
5. Análises químicas da água do reservatório revelaram as seguintes características: dureza, 35 ppm (CaCO_3); oxigênio dissolvido, 8,0 ppm; pH, 7,1; alcalinidade total, 27 ppm; total de sólidos suspensos, 500 mg/L.
6. Uma nova visita à estação de tratamento de água foi exigida para uma investigação mais profunda.
7. O gerente da estação assegurou que sua equipe havia seguido a rotina passo a passo:
 - a. Filtração utilizando um filtro de areia para remoção de partículas.
 - b. Filtração utilizando carvão ativado para remoção de gosto e odor.
 - c. Utilização de cloro para destruição de bactérias na água.
 - d. Estocagem em uma torre elevada para distribuição pelas galerias de água da cidade.
8. Era claro que havia duas grandes diferenças entre a água do reservatório e a dos tanques de peixes, quanto ao pH e total de sólidos suspensos. Alguma coisa foi feita causando essas mudanças. Em conversa com o gerente da estação de tratamento de água, ele revelou que, por causa do alto nível de sólido em suspensão (argila coloidal), sulfato de alumínio foi adicionado à água, antes da passagem pelo filtro de areia. Ele indicou que esse procedimento altera a carga das partículas da argila, o que decorre na precipitação. O filtro de areia, então, remove as partículas de argila. Isso era um procedimento normal no tratamento de água.
9. Amostras de água retiradas antes e depois do filtro de areia mostraram constância nos valores do pH. Uma amostra retirada após o filtro

de carvão ativado obteve o mesmo resultado. Entretanto, uma amostra retirada após o tratamento com cloro revelou uma queda de pH 7,1 para 2,5.

10. Discussões com um químico revelaram que o tratamento com cloro, em água contendo sulfato de alumínio dissolvido, resultaria na formação de ácido sulfídrico.

E. Conclusões Finais

Os peixes foram mortos pelo pH baixo causado por ácido sulfídrico, que resultou de combinação de tratamentos aplicados pelo Departamento de Água da cidade. Sinais químicos mostraram através dos peixes moribundos e mortos grande toxicidade de baixo pH.

Bibliografia

- Alabaster, J. S., and R. Lloyd. 1982. Water quality criteria for freshwater fish. 2nd edition. Butterworth Publishers Ltd., London. 297 pp.
- American Fisheries Society. 1982. Monetary values of freshwater fish and fish-kill counting guidelines. Monetary Values of Freshwater Fish Committee, Southern Division, Bethesda, Maryland. American Fisheries Society, Special Publication 13. 40 pp.
- American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th edition. American Public Health Association, Washington, D.C. 1268 PP.
- American Society for Testing and Materials. 1988. Directory of testing laboratories. 1988 edition. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 252 pp.
- Aquatic-Life Advisory Committee. 1956. Procedures for investigation of fish-kills: a guide for field reconnaissance and data collection. Ohio River Valley Water Sanitation Commission, Cincinnati, Ohio. 24pp.
- Baumann, P. C., and R. B. Gillespie. 1986. Selenium Bioaccumulation in gonads of largemouth bass and bluegill from three power plant reservoirs. *Environmental Toxicology and Chemistry* 5:695-701.
- Bouwkamp, C.A. 1980. Guide for fish kill investigations. U.S. Army, Environmental Hygiene Agency, Aberdeen Proving Ground, Maryland. Project 21010-5422, TG116. 17 pp.
- Czarnecki, J.M. 1983. A summary of fish kill investigations in Missouri, 1970-1979. Missouri Department of Conservation, Columbia, Missouri. 22 pp.
- Davis, W., chairman. 1986. Fish kill investigation procedures. The Pollution Committee-Southern Division, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 22 pp.
- Einerson, J. H., and P. C. Pei. 1988. A comparison of laboratory performances. *Environmental Science and Technology* 22:1121-1125.
- Hill, D. M. 1983. Fish kill investigation procedures. Pages 261-274 in L. A. Nielsen and D. L. Johnson, eds. *Fisheries Techniques*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Hoffman, G.L. 1967. Parasites of North American freshwater fishes. University of California Press, Berkeley. 486 pp.
- Honer, K., editor. 1988. Buyer's Guide '89 and industry directory. *Aquaculture Magazine*, 18th Annual Buyer's Guide, December 1988. 194 pp.
- Huggins, E. J. 1959. Parasites of fishes in South Dakota. Agricultural Experiment Station, South Dakota State College, Brookings, South Dakota, and South Dakota Department of Game, Fish and Parks. Bulletin 484. 73 pp.
- Hunn, J. B. 1985. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology* 82A:543-547.
- Hunn, J. B., and J. L. Allen. 1974. Movement of drugs across the gills of fishes. *Annual Review of Pharmacology* 14:47-55.
- Keith, L. H., W. Crummett, J. Deegan, Jr., R. A. Libby, J. K. Taylor, and G. Wentler. 1983. Principles of environmental analyses. *Analytical Chemistry* 55:2210-2218.
- Keith, L. H. 1988. Selecting environmental analytical laboratories. *Environmental Science and Technology* 22:1117.
- Kelly, M. H., and R. L. Hite. 1984. Evaluation of Illinois stream sediment data: 1974-1980. Illinois Environmental Protection Agency, Division of water Pollution Control, Springfield, Illinois. IEPA/WPC/84-004. 103 PP.
- Keup, L. E. 1974 How to "read" a fish kill. *Water and Sewage Works* 12:48-51.
- LemLy, A. D. 1985. Toxicology of selenium in a freshwater reservoir: implications for environmental hazard evaluation and safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 10:314-338.

- Mance, G. 1987. Pollution threat of heavy metals in the aquatic environments. Elsevier Science Publishing Co., New York. 372 pp.
- Marking, L. L. 1987. Gas supersaturation in fisheries: Causes, Concerns, and cures. U.S. Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife Leaflet 9.10 pp.
- Mayer, F. L., Jr. 1987. Acute toxicity handbook of chemicals to estuarine organisms. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Gulf Breeze, Florida. EPA 600/8-87-017. 274 pp.
- Mayer, F. L., Jr., and M. R. Ellersieck. 1986. Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. U.S. Fish and Wildlife Service, Resource Publication 160. 579 pp.
- McKee, J. E., and H. W. Wolf. 1963. Water quality criteria. State of California, State Water Quality Control Board Publication 3-A. 548 pp.
- Meyer, F. P., and J. A. Robinson. 1973. Branchiomycosis: a new fungal disease of North American fishes. *Progressive Fish-Culturist* 35:74-77.
- Moore, B. R., and A. J. Mitchell, Compilers. 1987. Conversions useful in fish culture and fishery research and management. U.S. Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife Leaflet 10. 31 pp.
- Morrison, J. K., and C. E. Smith. 1981. The fixation and handling of fish tissues intended for histological examination. U.S. Fish and Wildlife Service, Bozeman Information Leaflet 21. 6 pp.
- National Veterinary Services Laboratories. 1989. Directory of animal disease diagnostic laboratories, January 1989. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa. 243 pp.
- Palmer, M. 1984. Methods manual for bottom sediment sample collection. U.S. Environmental Protection Agency, Great Lakes National Program Office, Chicago, Illinois. EPA 905/4-85-004. 42 pp.
- Patuxent Wildlife Research Center. 1989. Patuxent Analytical Control Facility Reference Manual. U.S. Fish and Wildlife Service, Patuxent Wildlife Research Center, Patuxent, Maryland. 91 pp.
- Rand, G. M., and S. R. Petrocelli, editors. 1985. Fundamentals of aquatic toxicology. Hemisphere Publishing Corporation, New York. 666 pp.
- Slifer, G. E. 1970. Stream reclamation techniques. Department, G. E. 1970. Stream reclamation techniques. Department of Natural Resources, Bureau of Fish Management, Madison, Wisconsin. Management Report 33. 35 pp.
- Snieszko, S. F. 1964. Remarks on some facets of epizootiology of bacterial fish diseases. *Developments in Industrial Microbiology* 5:97-100.
- South Carolina Department of Health and Environmental Control. 1979. Manual for fish kill investigations. Division of Biological and Special Services, South Carolina Department of Health and Environmental Control, April 1979. 71 pp.
- Spacie, A., and J. L. Hamelink. 1985. Bioaccumulation. Pages 495-525 in G. M. Rand and S. R. Petrocelli, eds. Fundamentals of aquatic toxicology. Hemisphere Publishing Corporation, New York.
- Sprague, J. B. 1985. Factors that modify toxicity. Pages 124-163 in G. M. Rand and S. R. Petrocelli, eds. Fundamentals of aquatic toxicology. Hemisphere Publishing Corporation, New York.
- Tetra Tech. 1986. Recommended protocols for measuring conventional sediment variables in Puget Sound. Puget Sound estuary program. Final Report TC-3991-04 prepared for U.S. Environmental Protection Agency, Region 10, Office of Puget Sound, Seattle, Washington. Tetra Tech, inc., Bellevue, Washington. 46 pp.
- Thurston, R. V., R. C. Russo, C. M. Fetterolf, Jr., T. A. Edsall, and Y. M. Barker, Jr., editors. 1979. A review of the EPA Red Book: quality criteria for water. Water Quality Section, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 313 pp.
- Tracy, H. B., and L. J. Kittle, Jr. 1982. Guidelines for evaluating freshwater resource damages and computing resource damage claims in Washington State. Washington Department of Environment, Olympia, Washington. Publication 82-7. 39 pp.
- U.S. Department of the interior. 1970. Investigating fish mortalities. Division of Technical Support, Federal Water Pollution Control Administration, CWT-5, 1970, Washington, D.C. 21 PP.
- U.S. Department of the interior. 1985-1989. Contaminant hazard reviews. Fish and Wildlife Ser-

- vice, Biological Reports, U.S. Department of the Interior, Washington, D.C. Fourteen reviews, 1985-1989; 13 prepared by R. Eisler and 1 by E. W. Odenkirchen and R. Eisler.
- U.S. Department of justice. 1984. Preparing to testify. U.S. Attorney's Office, Department of Justice, Washington, D.C. 5 pp.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1971. Collection of papers presented at fish kill investigation Seminar. Ohio Cooperative Fishery Unit, Columbus, Ohio, and Environmental Protection Agency, Federal Water Quality Administration, Cincinnati, Ohio. 153 pp. Available from National Technical Information Service (NTIS), Springfield, Virginia.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1972. Investigation of fish kill. Oklahoma Cooperative Fishery Unit, Stillwater, Oklahoma, and Environmental Protection Agency, Dallas, Texas. 141 pp. Available from National Technical Information Service (NTIS), Springfield, Virginia.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1973, 1977. Quality criteria for water. Office of water and Hazardous Materials, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1980-1989. Water quality criteria documents (more than 90 documents; see Appendix C), Office of Water Regulations and Standards Division. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1982. Handbook for sampling and sample preservation of water and wastewater. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, Ohio. EPA 600/4-82-029. 402 pp.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1983-1989. Pesticide fact sheets. Office of Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, Washington, D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1986. Quality criteria for water. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards. EPA440/5-86-001. [U.S. Government Printing Office Order Number 955-002-00000-8]
- Vollenweider, R. A., editor. 1974. A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments. IBP Handbook 12. 2nd edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England. 225 pp.
- Weber, C.I. 1973. Biological field and laboratory methods for measuring the quality of surface waters and effluents. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. EPA 670/4-73-001. 186 pp.
-

Leitura Adicional Sugerida

Wedemeyer, G. A., F. P. Meyer, and L. Smith. 1976. Diseases of fishes. Book 5: Environmental stress and fish diseases. T.F.H. Publications, Neptune, New Jersey. 192 pp.

Weed Science Society of America. 1989. Herbicide handbook. 6th edition. Weed Science Society of America, Champaign, Illinois. 307 pp.

Wellborn, T. L. 1985. Selecting and shipping samples to help determine cause of fish kills. Mississippi State University Cooperative Extension Service, Information Sheet 667. 2 pp.

Yasutake, W. T. 1987. Collection and preparation of fish specimens for histological examination. U.S. Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife Leaflet 11. 5 pp.

For persons seeking additional information related to fish kill investigations or the effects of toxic substances on fishes, the following list of publications is provided:

Burdick, G. E. 1965. Some problems in the determination of the cause of fish kills. Pages 289-292 in C. M. Tarzwell, chairman. Biological problems

of water pollution. Third seminar, 1962. U. S. Public Health Service, Publication 999-WP-25, Cincinnati, Ohio.

Giam, C. S., and L. E. Ray, editors. 1987. Pollutant studies in marine animals. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 187 pp.

Heath, A. g. 1987. Water pollution and fish physiology. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 245 pp.

Hinton, D. E., M. W. Kendall, and B. B. Silver. 1973. Use of histologic and histochemical assessments in the prognosis of the effects of aquatic pollutants. Pages 194-208 in American Society for Testing and Materials, Special Publication 528.

Hunn, J.B. 1988. Field assessment of the effects of contaminants on fishes. U.S. Fish and Wildlife Service, Biological Report 88(19). 25 pp.

Neff, J. M. 1985. Use of biochemical measurements to detect pollutant-mediated damage to fish. Pages 155-183 in A. D. Cardwell, R. Purdy, and R. C. Bahner, eds. Aquatic toxicology and hazard assessment; seventh symposium. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 854 pp.

Overstreet, R. M., and H. D. Howse. 1977. Some parasites and diseases of estuarine fishes in pol-

Apêndice A. Conversões do Sistema Métrico para o Inglês (modificado por Moore e Mitchell 1987)

Medidas ou Temperaturas^a

| Métrico | Inglês | Celsius (° C) | Fahrenheit (° F) |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------|------------------|
| Centímetro (cm) | 0,394 polegadas (in.) | - 20 | - 4 |
| Centímetro cúbico (cc ou cm ³) | 0,061 polegadas cúbicas (in ³) | - 10 | 14 |
| Gramma (g) | 0,0353 onça (oz) | 0 | 32 |
| Quilograma (kg) | 2,2046 libra (lb) | 3 | 38 |
| Quilometro (km) | 0,621 milhas (mi) | 4 | 39 |
| Litro (L) | 0,264 gal | 4,4 | 40 |
| Metro (m) | 3,281 pés (ft) ou 1.094 jardas (yd) | 10 | 50 |
| Microgramas por litro (µg/L) | Partes por bilhão | 11 | 52 |
| Miligramas por litro (mL/L) | Partes por milhão | 25 | 77 |
| Mililitros (mL) | 0,0338 onças (fl oz) | 27 | 80 |
| Milímetros (mm) | 0,0394 polegadas (in.) | | |

^a Fórmula para conversão de temperaturas:

$$^{\circ}\text{F} = (^{\circ}\text{C} \times 9/5) + 32$$

$$^{\circ}\text{C} = (^{\circ}\text{F} - 32) \times 5/9$$

Apêndice B. Tabela de Padrões de Qualidade de Água

| Composto ou fator | Poluidor Primário | Carcinogênic | Toxidez aguda para a vida aquática (µg/L) | Toxidez Crônica para a vida aquática (µg/L) |
|--------------------------|-------------------|--------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Acenaphthene | Sim | Não | 1.700 ^b | 520 ^b |
| Acrolein - Propenal | Sim | Não | 68 ^b | 21 ^b |
| Propenonitrila | Sim | Sim | 7.550 ^b | 2600 ^b |
| Aldrin | Sim | Sim | 3,0 | - |
| Alcalinidade | Não | Não | - | 20.000 |
| Amônia | Não | Não | Critério depende do pH e da temperatura | Critério depende do pH e da temperatura |
| Antimônio | Sim | Não | 9.000 ^b | 1.600 ^b |
| Arsênico (penta) | Sim | Sim | 850 ^b | 48 ^b |
| Arsênico (tri) | Sim | Sim | 360 ^b | 190 ^b |
| Bactéria | Não | Não | Pesca e recreação primária | Pesca e recreação primária |
| Bário | Não | Não | NA | NA |
| Benzeno | Sim | Sim | 5.300 ^b | - |
| Benzidine | Sim | Sim | 2.500 ^b | - |
| Berílio | Sim | Sim | 130 ^b | 5,3 ^b |
| BHC | Sim | Não | 100 ^b | - |
| Cádmio | Sim | Não | 3,9 ^c | 1,1 ^c |
| Tetracloroeto de Carbono | Sim | Sim | 35.200 ^b | - |
| Clordane | Sim | Sim | 2,4 | 0,0043 |
| Cloridrato de benzeno | Sim | Sim | 250 ^b | 50 ^b |
| Cloridrato de naftaleno | Sim | Não | 1.600 ^b | - |
| Cloro | Não | Não | 19 | 11 |
| Eter Cloroaquil | Sim | Não | 238.000 ^b | - |
| Clorofórmio | Sim | Sim | 28.900 ^b | 1.240 ^b |
| Clorofenol 2 | sim | Não | 4.300 ^b | 2.000 ^b |
| Clorofenol 4 | Não | Não | - | - |
| Chlorpyrifos | Não | Não | 0,083 | 0,041 |
| Cloro-4-metil-3-fenol | Não | Não | 30 ^b | |
| Cromo (hexa) | Sim | Não | 16 | 11 |
| Cromo (tri) | Não | Não | 1.700 ^c | 210 ^c |
| Cor | Não | Não | | |
| Cobre | Sim | Não | 18 ^c | 12 ^c |
| Cianeto | Sim | Não | 22 | 5,2 |
| DDT | Sim | Sim | 1,1 | 0,001 |
| DDT metabolito (DDE) | Sim | Sim | 1.050 ^b | |
| DDT metabolito (TDE) | Sim | Sim | 0,06 ^b | |
| Demeton | Sim | Não | | 0,1 |
| Diclorobenzeno | Sim | Não | 1.120 ^b | 763 ^b |
| Dicloroetano 1,2 | Sim | Sim | 118.000 ^b | 20.000 ^b |
| Dicloroetileno | Sim | Sim | 11.600 ^b | |
| Diclorofenol 2,4 | Não | Não | 2.020 ^b | 365 ^b |
| Dicloropropano | Sim | Não | 23.000 ^b | 5.700 ^b |
| Diclopropeno | Sim | Não | 6.060 ^b | 244 ^b |

Apêndice B. *Continuação.*

| Composto ou fator | Poluidor Primário | Carcinogênico | Toxidez aguda para a vida aquática (µg/L) | Toxidez Crônica para a vida aquática (µg/L) |
|------------------------------------------|-------------------|---------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Dieldrin | Sim | Sim | 2,5 | 0,0019 |
| Dimetilfenol 2,4 | Sim | Não | 2.120 ^b | |
| Dinitrotolueno | Não | Sim | 330 ^b | 230 ^b |
| Dioxina (2,3,7,8-TCDD) | Sim | Sim | 0,01 ^b | 0,00001 ^b |
| Difenilhidarzina 1,2 | Sim | Não | 270 ^b | - |
| Endosulfan | Sim | Não | 0,22 | 0,056 |
| Endrin | Sim | Não | 0,18 | 0,0023 |
| Etilbenzeno | Sim | Não | 32.000 ^b | - |
| Fluorotano | Sim | Não | 3.960 ^b | - |
| Gases dissolvidos totais | Não | Não | | |
| Guthion | Não | Não | - | 0,01 |
| Haloeteres | Sim | Não | 380 ^b | 122 ^b |
| Halometanos | Sim | Sim | 11.000 ^b | - |
| Heptacloro | Sim | Sim | 0,52 | 0,0038 |
| Hexacloroetano | Não | Sim | 980 ^b | 540 ^b |
| Hexaclorobutadieno | Sim | Sim | 90 ^b | 9,3 ^b |
| Lindano (hexaclorociclohexano) | Sim | Sim | 2,0 | 0,08 |
| | Sim | Não | 7 ^b | 5,2 ^b |
| Ferro | Não | Não | - | 1.000 |
| Isopropano | Sim | Não | 117.000 ^b | - |
| Lead | Sim | Não | 82 ^c | 3,2 ^c |
| Malation | Não | Não | - | 0,1 |
| Manganês | Não | Não | NA | NA |
| Mercúrio | Sim | Não | 2,4 | 0,012 |
| Metoxicloro | Não | Não | - | 0,03 |
| Mirex | Não | Não | - | 0,001 |
| Naftaleno | Sim | Não | 2.300 ^b | 620 ^b |
| Níquel | Sim | Não | 1.400 ^c | 160 ^c |
| Nitrato/Nitrito | Não | Não | NA | NA |
| Nitrobenzeno | Sim | Não | 27.000 ^b | - |
| Nitrofenol | Sim | Não | 230 ^b | 150 ^b |
| Nitrosaminas | sim | Sim | 5.850 ^b | - |
| Óleos e graxas | não | não | - | - |
| Oxigênio dissolvido | não | não | Matriz de critérios águas quentes e frias | Matriz de critérios águas quentes e frias |
| Paration | não | não | 0,065 | 0,013 |
| PCB's | Sim | Sim | 2,0 | 0,014 |
| Pentacloridrato de etano | nao | nao | 7.240 ^b | 1.100 ^b |
| Pentaclorofenol | sim | Não | 20 ^d | 13 ^d |
| pH | não | Não | - | 6,5 - 9 |
| fenol | sim | não | 10.200 ^b | 2.560 ^b |
| Fósforo elementar | Não | Não | | |
| Phthataate esters | sim | Não | 940 ^b | 3 ^b |
| Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares | sim | sim | - | - |
| Selênio | sim | Não | 260 | 35 |
| Prata | Sim | Não | 4,1 ^c | 0,12 |

Apêndice B. *Continuação.*

| Composto ou fator | Poluidor Primário | Carcinogênic | Toxidez aguda para a vida aquática (µg/L) | Toxidez Crônica para a vida aquática (µg/L) |
|------------------------------|-------------------|--------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Sólidos suspensos e turbidez | Não | Não | - | - |
| Ácido sulfídrico | Não | Não | - | 2 |
| Temperatura | Não | Não | Depende da espécie | Depende da espécie |
| Tetracloroeto de etano | Sim | Não | 9.320 ^b | - |
| Tetracloroetano 1,1,2,2 | Sim | Sim | - | 2.400 ^b |
| Tetracloroetanos | Sim | Não | 9.320 ^b | - |
| Tetracloroetileno | Sim | Sim | 5.280 ^b | 840 ^b |
| Tetraclorofenol 2,3,5,6 | Sim | Não | - | - |
| Tálio | Sim | Não | 1.400 ^b | 40 ^b |
| Tolueno | Sim | Não | 17.500 ^b | - |
| Toxafene | Sim | Sim | 0,73 | 0,0002 |
| Tricloridrato de etano | Sim | Sim | 18.000 ^b | - |
| Tricloroetano 1,1,1 | Sim | Não | - | - |
| Tricloroetano 1,1,2 | Sim | Sim | - | 9.400 ^b |
| Tricloroetileno | Sim | Sim | 45.000 ^b | 21.900 ^b |
| Triclorofenol 2,4,6 | Sim | Sim | - | 970 ^b |
| Zinco | Sim | Não | 120 ^c | 110 ^c |

^a NA= não aplicável; - nenhum dado disponível

^b dados insuficientes para desenvolver critério; os valores apresentados estão no menor nível efeito observado – LOEL

^c critério depende da dureza (100 mg / L usado)

^d depende do pH (pH usado 7,8)

Obs: Os Apêndices C e D foram suprimidos desta edição.

Apêndice E. Fórmulas para Soluções Usadas na Investigação em Mortes de Peixes

1 – Preservantes

A. Algas

- a. Solução de Lugol – dissolver 20 g de iodeto de potássio (KI) e 10 g de cristais de iodo em 200 mL de água destilada contendo 20 mL de ácido acético glacial.
- b. Formol (solução tampão) – 37% de formaldeído neutralizado com tetraborato de sódio (pH 7,0 a 7,3).
- c. Para outros preservantes consultar o Standard Methods for Examinations of Water and Wastewater, última edição.

B. Tecidos de peixes

1. Solução de Bouin – dissolver 21 g de ácido pícrico em 1.000 mL de água destilada. Misturar 1.500 mL de solução saturada de ácido pícrico, 900 mL de formaldeído (solução 37%), e 100 mL de ácido acético glacial.

Precaução: ácido pícrico não deve ser colocado para secar, porque pode ser um explosivo perigoso.

2. Solução tampão de formol – misturar 100 mL de formol (solução 37%) em 900 mL de água destilada, 4 g de fosfato de sódio, monohidrato monobásico, e 6,5 g de fosfato de sódio, dibásico e anidro.
 - 3.
 4. Fixador de Dietrich – misturar 1.500 mL de água destilada, 750 mL de etanol 95%, 250 mL de formaldeído (solução 37%) e 50 mL ácido acético glacial.
-

Apêndice F. Formulário de Avaliação de Habitat

Investigação de Mortandade de Peixe

Número do caso: _____

Data: ___/___/___

Autor: _____

Nome do investigador: _____

Endereço: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Telefone: _____

Localização do acidente

Estado: _____

Município: _____

Descrição (mapa): _____

Fatores ambientais

1. Tempo (incluindo temperatura, velocidade do vento, direção e vazão da água):

2. Atividades humanas:

3. Dados limnológicos:

| Hora | pH | Oxigênio dissolvido | Turbidez | Condutividade | Temperatura da água | Outros |
|------|----|---------------------|----------|---------------|---------------------|--------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Mortalidade do peixe

1. Extensa em tempo e espaço:

2. Espécies afetadas:

3. Tamanhos afetados:

4. Números afetados:

5. Condição do tempo:

6. Comportamento, lesões ou sinais clínicos:

7. Comentários:

Característica de Outras Biotas (espécies, vivas, mortas, presentes, ausentes)

1. Algas

2. Macrófitas

3. Zooplâncton

4. Insetos

5. Outros vertebrados

Testemunhas

Nome: _____

Informação: _____

Endereço: _____

Fone: _____

Nome: _____

Informação: _____

Endereço: _____

Fone: _____

Apêndice G. Sinopses das Espécies e Catálogo das Amostras

Título para catalogar as amostras:

Laboratorista: _____ Localização da ocorrência (Estado e Município):

Endereço: _____

Telefone: _____

Caso número:

Catálogo n°:

Ecossistema: Descrever o habitat (lugar de vida de um organismo) no qual a mortandade ocorreu e fatores ambientais, antropogênicos (provocado pelo homem) e limnológicos significativos. Faça um sumário do tamanho da mortandade e outras mudanças bióticas.

Instruções para o laboratório: Resumo do número de amostras e especificação dos serviços requeridos. As prioridades das amostras disponíveis devem ser anotadas.

Necessidades especiais: Isto é, exigências para as análises de agrotóxicos, etc. Garantias de qualidade necessárias, que os laboratórios devem enviar.

Resultados devem ser enviados para:

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Amostras remanescentes enviadas para:

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Comentários:

Evidência de Provas: _____ Sim _____ Não

Catálogo: Anexar; lista total do número de amostras, seu tipo e os serviços solicitados.

Data de envio: _____ Resultados necessários para (data): ____/____/____

Enviado por: _____

Assinatura

Apêndice G. *Continuação.*

CATÁLOGO DE AMOSTRAS

Número: **Título:**

| Amostra n ^o | Descrição | Coletor | Data de coleta | Local | Peso da amostra | Preservação | Tipo de análises |
|------------------------|-----------|---------|----------------|-------|-----------------|-------------|------------------|
|------------------------|-----------|---------|----------------|-------|-----------------|-------------|------------------|

Assinado por: _____
Número de RT: _____

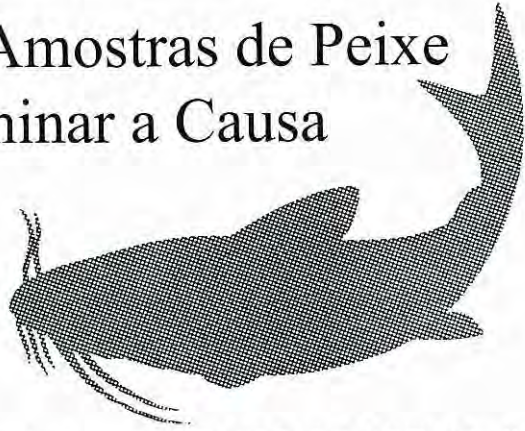
Apêndice H. Órgãos Oficiais - Sua Participação é Fundamental

- Acidente de veículo com carga perigosa
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Demat (Diretoria de Meio Ambiente de Trânsito)
Tel: (31) 3219-5967
- Apreensão, tráfico ou comercialização de animais silvestres, ou maus tratos a animais de forma geral
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
- Arborização/ mutilação de árvores
 - Prefeitura Municipal de Belo Horizonte/ SMMA
- Tel: (31) 3277-5208 ou 3277-5181
- Caça e pesca predatória
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
- Contaminação por agrotóxico
 - IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária)
Tel: (31) 3334-5822
 - Emater (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais) -
Tel: (31) 3349-8140 / 3349-8000
- Danos ambientais por construção de estradas
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
- Danos ambientais por irrigação
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Igam (Instituto Mineiro de Gestão das Águas)
Tel: (31) 2101-3355
- Dano ao patrimônio cultural
 - IEPHA (Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico)
Tel: (31) 3213-6000/ 3213-5939
- IPHAN (Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional)
Tel: (31) 3335-0747
- MPMG (Ministério Público de Minas Gerais)
Tel: (31) 3330-2145
- Danos a parques federais
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
- Danos a parques estaduais
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
- Danos a parques municipais e jardins
 - Prefeitura Municipal de Belo Horizonte/ SMMA
Tel: (31) 3277-5208 ou 3277-5181
- Danos por extração de argila, areia e minério
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
 - DNPM (Departamento Nacional de Produção Mineral)
Tel: (31) 3223-6399
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
- Desmatamento
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700

- **Erosão**
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Emater (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais) -
Tel: (31) 3349-8140 / 3349-8000
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
- **Garimpo**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
- **Incêndios florestais**
 - IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Corpo de Bombeiros
Tel: 193
- **Lixo hospitalar / lixões / bota-fora**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Prefeitura Municipal de Belo Horizonte/ SMMA
Tel: (31) 3277-5208 / 3277-5181
 - SLU (Superintendência de Limpeza Urbana de Belo Horizonte)
Tel.: (31) 3277-9388
 - Superintendência de Vigilância Sanitária Estadual
Tel: 0800 310171
- **Loteamentos irregulares/ em encostas, áreas de risco ou que provocam ameaça a áreas florestadas**
 - Prefeitura Municipal de Belo Horizonte/ SMMA
Tel: (31) 3277-5208 / 3277-5181
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
- Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
- IEF (Instituto Estadual de Florestas)
Tel: (31) 3219-5530 / 3219-5537
- Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
- **Extração Ilegal**
 - DNPM (Departamento Nacional de Produção Mineral)
Tel: (31) 3223-6399
- **Mortandade de peixes**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Igam Instituto Mineiro de Gestão das Águas
Tel: (31) 2101-3355
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
- **Poluição atmosférica provocada por indústrias**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
- **Poluição de cursos d'água ou lagoas por despejo de esgoto e resíduos industriais**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200
 - Cia. da Polícia Militar de Meio Ambiente de MG
Tel: (31) 2123-1613 / 2123-1600
 - Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)
Tel: (31) 3299-0700
- **Poluição visual**
 - Prefeitura Municipal de Belo Horizonte/ SMMA
Tel: (31) 3277-5208 / 3277-5181
- **Queima de pneus**
 - Feam (Fundação Estadual do Meio Ambiente)
Tel: (31) 0800 2836200

Apêndice K. Como Selecionar e Enviar Amostras de Peixe de Piscicultura (cortesia de T. L. Wellborn, Mississippi State University Cooperative Extension Service)

Selecionar e Enviar Amostras de Peixe para Ajudar a Determinar a Causa da Morte de Peixes.



Você deve enviar a melhor amostra possível, embalada da melhor maneira possível e o mais rápido possível, para um patologista. É uma boa política telefonar antes de enviar a amostra, de forma que a pessoa responsável possa esperar por ela. Os patologistas são interessados no bem estar dos peixes, e ficarão muito felizes em participar da identificação e erradicação do problema.

Diagnóstico de Amostras

1. Peixe exibindo sintomas como:

- Ficando letargicamente nas áreas mais rasas e não se movendo rapidamente quando estimulado.
- Mantendo-se indiferente na superfície da água e não saindo rapidamente quando estimulado; e quando vai para o fundo, retorna rapidamente à superfície.
- Nadando rapidamente, em círculo, de uma forma errática.

Por esses peixes, algumas vezes, serem mais difíceis de se encontrar e de se capturar do que os outros, a maioria dos fazendeiros desiste de capturá-los. Eles, então, recorrerão a um peixe mais fácil de ser pego. Entretanto, é necessário gastar mais tempo para obter este tipo de amostra, mesmo quando se necessita de rapidez para se identificar os problemas.

EXCELENTE AMOSTRA: Provavelmente, a chance de identificar a causa da morte é grande.

2. Peixes vivos que exibem outros sintomas físicos como:

- Dor evidente.
- Palidez nas áreas erodidas, em frente às nadadeiras dorsais ou outras partes do corpo.
- Áreas amareladas dentro da cavidade bucal.
- Áreas erodidas e finas nas brânquias.
- Brânquias inchadas, fundidas ou claviformes.
- Brânquias escoriadas e hemorrágicas.

Esses são sintomas que podem indicar o que se pesquisar.

EXCELENTE AMOSTRA: A probabilidade de encontrar a causa da morte é grande.

3. Peixes mortos que ainda tem brânquias avermelhadas e muco de cor e em quantidade normal.

Amostra razoável: probabilidade de identificar a causa da morte depende do tempo que o peixe já morreu. Quanto maior o período de permanência do peixe morto na água, pior a qualidade da amostra, devido à quebra dos tecidos e putrefação por bactérias.

4. Vários peixes coletados sem critério algum em rede de pesca:

Amostra pobre: baixa probabilidade de solução da causa de morte, já que grande parte dos peixes do lago pode estar saudáveis. Em alguns casos, um indicador da causa pode ser achado, quando examinados os peixes e grande número de espécies de parasitas.

5. Peixes capturados com anzol em diferentes partes do lago:

Amostra pobre: a probabilidade de identificação da causa das mortes é muito baixa. Peixes saudáveis, usualmente, mordem mais que os enfraquecidos. Desta forma, os pescados estarão livres de parasitas e organismos patogênicos. Ocasionalmente, como exemplificado no número 4, você pode ter um indicador da causa pela variedade e o número de organismos patógenos. Isto é especialmente verdade se o peixe examinado apresentar o mesmo nível de infecção.

6. Peixe morto que tenha perdido coloração e muco e apresente brânquias brancas e danificadas:

Amostra ruim: Poupe tempo e não se preocupe com essa amostra. Mesmo assim, a remoção diária dos indivíduos mortos no lago é fundamental para a manutenção da qualidade da água, determinar a velocidade e aumento da mortalidade, assim como estimar sua perda na produção.

7. Amostra de água do lago que contém peixes doentes:

Amostra ruim. Uma amostra de água não tem valor em um diagnóstico de mortalidade, a não ser que haja alguma substância tóxica suspeita. Nesse caso, colete boa quantidade da água em recipientes limpos, enchendo-os por completo e enviando-os, junto à amostra de peixe, ao especialista. Caso queira tratar a água com químicos, cuja toxicidade varia com a dureza da água, envie uma amostra da água, junto com a de peixe, ao especialista.

Determinando fatores na mortalidade de peixes

Se possível, envie estas informações com as amostras ao especialista.

1. Número de perdas desde o começo da mortalidade.
2. Número aproximado de perdas diárias.
3. Início da mortalidade (data e horário).
4. Dimensão do criadouro.
5. Profundidade média do criadouro.
6. Densidade populacional.
7. Transparência da água:

Boa - o lago tem visibilidade de 45 centímetros na coluna d'água, e não apresenta acumulação de algas no fundo e nos cantos do criadouro.

Média - O lago tem visibilidade de 38 centímetros, e possui acumulação moderada de algas no fundo e nos cantos do criadouro.

Ruim - O lago possui uma visibilidade de 30 centímetros ou menos.

8. Última ocasião em que o criadouro foi tratado, o porquê do tratamento e qual tratamento químico foi utilizado.

Transporte e envio das amostras

1. Coloque o peixe vivo em um plástico e feche. Coloque o plástico dentro de um isopor contendo gelo em cubo ou escama.
2. Em curtas distâncias, o peixe pode ser transportado vivo em um contêiner ou isopor com água bem oxigenada e um pouco de gelo para mantê-la fresca.
3. Amostras congeladas devem ser evitadas por dificultar o trabalho, a não ser para análise de agrotóxicos.
4. Resfriar rapidamente todas as amostras aceitáveis, para retardar o dano à integridade dos tecidos da amostra.