



ECOTOX – Brazil

J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 4, n. 1-3, 2009, 37-48  
doi: 10.5132/jbse.2009.01.006

JBSE

## Toxicidade do Sulfato de Cobre ao Mexilhão Dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), em Água Bruta

M. DE F. SOARES<sup>1\*</sup>, D. PEREIRA<sup>2</sup>, C. P. DOS SANTOS<sup>2</sup>,  
M. C. D. MANSUR<sup>2</sup>, M. PIRES<sup>3</sup>, J. O. BREINTENBACH<sup>4</sup> & C. GRESPAN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Inorgânica, Instituto de Química,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre

<sup>2</sup>Laboratório de Malacologia, Museu de Ciências e Tecnologia;

<sup>3</sup>Laboratório de Química Analítica e Ambiental, Faculdade de Química (PUCRS),  
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

<sup>4</sup>Instituto Ciências Exatas e Tecnológicas, Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, Brasil

(Received May 13, 2009; Accepted November 12, 2009)

### RESUMO

Testes buscando avaliar a toxicidade do sulfato de cobre ao mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) foram realizados em laboratório, com o objetivo de se encontrar a dose letal (CE<sub>50</sub> e CE<sub>95</sub> 48 h) para o controle do molusco. Avaliaram-se também os níveis de resíduos de cobre nas águas testadas, nas conchas e tecidos dos moluscos, empregando espectrofotometria de absorção atômica de chama, (LD 0,0012 mg L<sup>-1</sup> para cobre). Amostras de água e de exemplares de mexilhão dourado foram coletados no Lago Guaíba na cidade de Porto Alegre, RS. *L. fortunei* foi exposto às concentrações de 1,24; 2,33; 3,88; 5,43; 7,76; 10,08; 13,19 e 15,50 mg L<sup>-1</sup> de cobre através de soluções correspondentes de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O). Os organismos testes (1,8-2,0 mm de comprimento) foram aclimatados (20 °C ± 1, 24 horas) em aquários com oxigenação e submetidos a testes agudos (48 horas). Para cada teste realizado, grupos controle (sulfato de cobre ausente) foram submetidos as mesmas condições. A concentração média de Cu, o erro padrão, os valores mínimos e máximos obtidos para conchas e tecidos do mexilhão dourado foram 3,502 ± 0,056 (3,240-3,970) e 27,560 ± 2,406 (20,360-40,700) mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Valores médios, mínimos e máximos de CE<sub>50</sub> e CE<sub>95</sub> nas concentrações de Cu testadas foram 2,16 (1,70 e 2,65) e 4,86 (3,97 e 6,47) mg L<sup>-1</sup>. As concentrações testadas explicaram 90,8% da mortalidade. As concentrações letais verificadas nesse estudo são superiores àquelas indicadas para o controle do mexilhão dourado em captadoras de água para abastecimento da cidade de Porto Alegre (0,5 a 2,0 mg L<sup>-1</sup>). De acordo com os testes estatísticos dos indicadores de comportamento e letalidade, após a exposição ao cobre, os mexilhões diminuíram a atividade de filtração, a mobilidade e a reação ao toque, demonstrando um estado letárgico.

*Palavras-chave:* invasor biológico, controle químico, cobre, concentrações letais, mortalidade.

### ABSTRACT

#### Copper sulphate toxicity of to the golden mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), in untreated water

Bench tests were performed in order to evaluate copper sulphate toxicity for golden mussels (*Limnoperna fortunei*), aiming to discover its lethal dose (CE<sub>50</sub> and CE<sub>95</sub> 48 h) for mollusk control. Copper residue levels were also evaluated within the tested water volumes, shells and mollusk tissues through a flame atomic absorption spectrophotometry, (LD 0.0012 mg L<sup>-1</sup> for copper). Water and golden mussel specimen samples were gathered from the Guaíba Lake, in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul State, Brazil. *L. fortunei* was exposed to 1.24; 2.33; 3.88; 5.43; 7.76; 10.08; 13.19 and 15.50 mg L<sup>-1</sup> copper concentrations through analogous copper sulphate solutions (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O). Test organisms (1.8-2 mm in length) were

\* Corresponding author: Miriam de Freitas Soares, e-mail: mfs2002@hotmail.com

acclimatized ( $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ , 24 hours) in aquariums with air pumps and subjected to acute tests (48 hours). For each performed test, control groups (unexposed to copper sulphate) were submitted to the same conditions. The average Cu concentration, the standard error and minimum and maximum values obtained from golden mussel shells and tissues were  $3.502 \pm 0.056$  ( $3.240\text{-}3.970$ ) and  $27.560 \pm 2.406$  ( $20.360\text{-}40.700$ )  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectively. The average, minimum and maximum  $\text{CE}_{50}$  and  $\text{CE}_{95}$  values in tested Cu concentrations were 2.16 (1.70 and 2.65) and 4.86 (3.97 and 6.47)  $\text{mg L}^{-1}$ . The tested concentrations were responsible for 90.8% of the mortality. Lethal concentrations verified in this study are above those indicated for golden mussel control in water inlets supplying the city of Porto Alegre (0.5 to 2.0  $\text{mg L}^{-1}$ ). According to statistic tests concerning behavioral and lethality indicators, the mussels reduced their filtration activities, their mobility and their reaction to contact after being exposed to copper, presenting a lethargic state.

**Keywords:** biological invader, chemical control, copper, lethal concentrations, mortality.

## INTRODUÇÃO

O bivalve invasor de origem asiática *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), conhecido popularmente como mexilhão dourado, foi introduzido em ecossistemas aquáticos continentais do sul da América do Sul, no início da década de 1990. No Brasil foi registrado em 1998, tanto no Estado do Rio Grande do Sul como do Mato Grosso.

*L. fortunei* produz fios de bisso que possibilitam a formação de macroaglomerados sobre substratos duros (Mansur & Pereira, 2006). Além de se aglomerar sobre vegetação aquática e outros organismos, também forma incrustações em canais, tubulações, paredes de concreto, bombas, grades etc.

Darrigran & Mansur (2006) documentaram o impacto econômico causado pelas populações de *L. fortunei* que formam macro-incrustações em tubulações, grades de hidrelétricas, indústrias e estações de tratamento de água operantes na Argentina e Brasil.

O controle das populações de mexilhão dourado torna-se necessário à medida que a espécie impacta as construções humanas, mas requer métodos eficazes que não causem danos ao ambiente. Dentre as formas de controle da bioincrustação no ambiente límico, podemos citar o uso de substâncias químicas e ou métodos físicos. Fisher & Bernard (1991) mencionam caminhos químicos para o controle de espécies invasoras de moluscos bivalves produtoras de bisso e formadoras de macroaglomerações: um via substâncias moluscidas, que causam a mortalidade dos moluscos (extratos vegetais e sulfato de cobre), e outro, via substâncias que inibem a fixação de recrutas bissados sobre os substratos, como as tintas antiincrustantes adicionadas de cobre e zinco (Caprari, 2006; Brooks & Waldoock, 2009).

O sulfato de cobre foi amplamente utilizado como moluscida no controle de planorbídeos (Al-Sabri, 1993; Reddy et al., 2004), ampularídeos (Wada, 2004) e outros gastrópodes terrestres (Amusan, 2002) como também para o mexilhão zebra (*Dreissena polymorpha*) (Waller et al., 1993). O cobre disponível do meio aquático é facilmente incorporado pelos moluscos herbívoros, detritívoros, filtradores (Bendati, 2000; Callil & Junk, 1999; Guerrero & Kesten, 1993; Pip, 1990; Villar et al., 1999). Mas, quando altas concentrações estão disponíveis, o metal pode causar a morte de moluscos e outros invertebrados não alvo.

Segundo Claudi & Mackie (1994), diversos métodos de controle populacional de moluscos invasores foram desenvolvidos para o mexilhão zebra *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771): filtração mecânica, radiação ultravioleta, proteção catódica de superfícies, ultrassom, controle químico (dióxido de cloro, ozônio, sulfato de cobre), entre outros. Waller et al. (1993) avaliaram a toxicidade de diferentes moluscidas para *D. polymorpha* visando o controle desta invasora, inclusive o sulfato de cobre. No entanto, o uso desta substância como moluscida não foi recomendado por órgãos ambientais como a EPA (*United States Environmental Protection Agency*), devido à elevada toxicidade à biota aquática.

Para o controle do mexilhão dourado no estado do Rio Grande do Sul, especialmente na bacia do lago Guaíba, estão sendo empregados diversos métodos, entre os quais destaca-se a utilização do sulfato de cobre pelas captadoras de água (Colares et al., 2002a,b). No entanto, não há nenhum estudo que dimensione o impacto deste tratamento ao ecossistema, considerando em especial a formação de subprodutos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do sulfato de cobre em *L. fortunei* através de ensaios de laboratório, analisando a incorporação de resíduos do metal cobre as conchas, partes moles e na água.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Coleta de água e organismos testes*

A coleta de água bruta e os indivíduos adultos do mexilhão dourado para os testes, foi realizada no delta do rio Jacuí, na doca junto ao Sub-grupamento de Busca e Salvamento do Corpo de Bombeiros, no Cais do Porto, na cidade de Porto Alegre, RS. Os mexilhões encontravam-se fixados em pneus e estruturas metálicas de uma plataforma flutuante ancorada na referida doca. As amostras dos mexilhões foram transportadas ao laboratório em sacos plásticos sob temperatura ambiente. As amostras de água foram transportadas por meio de frascos esterilizados e conservadas em gelo.

### *Qualidade da água teste e dos organismos testes*

A água bruta utilizada nos testes foi analisada por meio de métodos laboratoriais descritos em APHA (2002). As variáveis

analisadas e os métodos empregados encontram-se descritos na Tabela 1. O background de cobre nos mexilhões coletados no delta do rio Jacuí foi verificado por meio de ensaios de determinação de Cu nas conchas e nos tecidos. Para a digestão das amostras dos moluscos, procedeu-se à secagem das conchas (trituras) e dos tecidos, previamente separados e pesados, em estufa a 105 °C por 24 horas, seguida de digestão em ácido nítrico concentrado (HNO<sub>3</sub>) em chapa elétrica até redução do volume da solução ácida. Após esfriamento, a solução foi diluída a um volume de 50 mL em água ultrapurificada (Milli-Q, Millipore) com 1% de HNO<sub>3</sub> e analisada por espectrofotometria de absorção atômica de chama (ar-acetileno). Foram empregadas curvas analíticas para a determinação da faixa linear para adequada quantificação do cobre. Os parâmetros de qualidade da curva ( $r > 0,9997$ ) mostraram que a faixa de trabalho (concentrações testadas) estava dentro da região linear. O limite de quantificação do cobre foi de 0,0012 mg L<sup>-1</sup>.

### Preparação e aclimação dos organismos testes

Com um paquímetro digital foram selecionados os indivíduos com comprimento entre 18 e 20 mm. Com um bisturi foram cortados os fios de bisso de *L. fortunei*, evitando-se a danificação do pé, e retirados os resíduos de bisso aderidos às superfícies das conchas. Os indivíduos com conchas quebradas ou deformadas foram descartados. Os organismos foram aclimatados por 24 horas em aquários (14,5 × 11,5 × 14,5 cm), com água da coleta (1,7 L) sob aeração e com monitoramento da temperatura (23,2 ± 0,1 °C). Em cada aquário foram acondicionados 20 indivíduos sadios de *L. fortunei*, selecionados segundo os critérios da Tabela 2. A temperatura da sala climatizada manteve-se constante durante os experimentos (22,0 ± 1,0 °C).

### Delineamento experimental

Foram realizados testes agudos (48 h de exposição) onde os organismos teste foram expostos a soluções de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) (Merck, 99% de pureza), em diferentes concentrações. Cada concentração e o controle foram testados em triplicata (20 indivíduos por réplica). *L. fortunei* foi exposto a distintas concentrações de sulfato de cobre (mg L<sup>-1</sup>), em três experimentos (Tabela 3): experimento 1 (0,000; 9,135; 21,318; 30,465; 39,573; 51,783; 60,900), realizado em 11/12/2006; experimento 2 (0,000; 4,872; 9,135; 15,225), em 8/1/2007 e experimento 3 (0,000; 4,872; 9,135; 15,225), em 23/1/2007.

Foram realizadas observações sobre o comportamento dos moluscos com base em indicadores comportamentais, adaptados de Morton (1973), e traduzidos em siglas com a respectiva definição na Tabela 2. As avaliações foram realizadas anteriormente à adição das soluções de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O com a finalidade de verificar se os organismos testes encontravam-se em condições adequadas para o experimento, ou seja, se eram viáveis, com sinais de vitalidade (mobilidade e filtração ativa). Estas avaliações foram realizadas aproximadamente 20 minutos antes da adição da solução (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O). Após a adição da solução novas avaliações foram realizadas (30 e 60 min., 24 h e 48 h de exposição). Após 48 h os organismos foram retirados dos aquários e acondicionados em frascos com aproximadamente 250 mL de água bruta do ambiente de coleta, com ausência de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O. Após 2 h os organismos foram avaliados no microscópio estereoscópio e, caso necessário, dissecados para confirmação da morte por meio da avaliação dos movimentos das brânquias, da reação ao toque de um alfinete entomológico e a da coloração dos tecidos.

**Tabela 1** – Qualidade da água bruta utilizada nos experimentos de bancada. Classificação segundo CONAMA (2005): classe 1 (C1), classe 2 (C2), classe 3 (C3) e classe 4 (C4).

Variáveis	Método	Experimentos					
		1		2		3	
		11/12/2006		11/1/2007		23/1/2007	
Temperatura (°C)	Termômetro	27,0	–	27,0	–	26,0	–
pH	Potenciométrico	6,78	C1	6,78	C1	6,78	C1
Condutividade (µS cm <sup>-1</sup> )	Condutometria	101,0	–	83,65	–	85,0	–
Turbidez (NTU)	Nefelometria	15,2	C1	10,6	C1	9,58	C1
Alcalinidade (mg L <sup>-1</sup> )	Titulometria	27,7	–	23,6	–	24,0	–
Dureza (mg L <sup>-1</sup> )	Titulometria	24,0	–	22,0	–	24,0	–
Oxigênio Dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	Titulometria	4,04	C3	3,69	C4	5,35	C2
DBO (mg L <sup>-1</sup> )	Manometria	7,0	C3	12,0	C4	59,8	C4
DQO (mg L <sup>-1</sup> )	Titulometria	13,0	–	22,0	–	8,2	–
Sulfatos (mg L <sup>-1</sup> )	Espectroscopia UV/VIS	10,87	C1	10,64	C1	2,82	C1
Cloretos (mg L <sup>-1</sup> )	Titulometria	6,2	C1	5,7	C1	–	–
Nitrogênio Amoniacal (mg L <sup>-1</sup> )	Nesslerização	0,08	C1	0,08	C1	2,61	C1
Nitratos (mg L <sup>-1</sup> )	Espectroscopia UV/VIS	1,63	C1	1,72	C1	0,40	C1
Fósforo Total (mg L <sup>-1</sup> )	Espectroscopia UV/VIS	0,154	C4	0,164	C4	0,01	C1
Sólidos Dissolvidos Totais (mg L <sup>-1</sup> )	Gravimetria	83,0	C1	151,0	C1	93,00	C1
Sólidos Suspensos Totais (mg L <sup>-1</sup> )	Gravimetria	12,5	–	15,2	–	10,81	–
Cobre (mg L <sup>-1</sup> )	Absorção Atômica	0,003	C1	0,01	C3	0,02	C4

**Tabela 2** – Definição de indicadores do comportamento e letalidade de *L. fortunei* em experimentos. Adaptado de Morton (1973).

Indicadores	Definição
MV	Número de indivíduos em deslocamento (MV) pela superfície de vidro do aquário.
IMV	Número de indivíduos sésseis (IMV) no aquário.
A	Número de indivíduos com valvas abertas (A).
F	Número de indivíduos com valvas fechadas (F).
DA	A densidade de indivíduos aglomerados (DA) foi obtida pelo somatório de indivíduos aglomerados dividido pelo número de aglomerados.
PE	Número de indivíduos com o pé exposto (PE).
PNE	Número de indivíduos com o retraído (PNE).
SE	Número de sífões expostos (SE) indicam filtração ativa; os sífões são considerados expostos quando ultrapassam a borda posterior da concha.
SNE	Número de sífões retraídos (SNE) indicam filtração não ativa; os sífões são considerados não expostos quando não ultrapassam a borda posterior da concha.
RTP	Número de indivíduos com reação ao toque positiva (RTP). A reação ao toque positiva é indicada pela movimentação das valvas ou pela retração do pé ou sífões, por meio do contato com a extremidade de um palito de madeira.
RTN	Número de indivíduos com reação ao toque negativa (RTN). A reação ao toque negativa é indicada quando as valvas não se fecham ou o pé e sífões não se retraem por meio do contato com a extremidade de um palito de madeira.
V	Número de indivíduos vivos (V). Os indivíduos vivos retraem o pé e sífões, fechando as valvas, quando tocados com a extremidade de um palito de madeira; quando as valvas estão fechadas, via dissecação se observa a movimentação das brânquias ou retração do pé, quando tocados com a extremidade de uma agulha histológica; os indivíduos vivos apresentam uma cor amarela ou marrom é intensa.
MO	Número de indivíduos mortos (MO). Os indivíduos mortos não retraem o pé e sífões, nem fecham as valvas, quando tocados com a extremidade de um palito de madeira; quando as valvas estão fechadas, via dissecação não se observa movimentação das brânquias ou retração do pé, quando tocados com a extremidade de uma agulha histológica ou de um bisturi; a cor dos indivíduos mortos é esbranquiçada.

**Tabela 3** – Concentrações (mg L<sup>-1</sup> e %) de sulfato de cobre, com valores correspondentes em cobre, aplicadas nos experimentos (E1, E2 e E3) de toxicidade ao *L. fortunei*.

Tratamentos	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O		Cu		E1 11/12/2006	E2 11/1/2007	E3 23/1/2007
	(mg L <sup>-1</sup> )	%	(mg L <sup>-1</sup> )	%			
Controle	0,000	0,000	0,000	0,000	x	x	x
Concentração 1	4,872	0,487	1,240	0,124	–	x	x
Concentração 2	9,135	0,913	2,330	0,233	x	x	x
Concentração 3	15,225	1,522	3,880	0,388	–	x	x
Concentração 4	21,318	2,131	5,430	0,543	x	–	–
Concentração 5	30,465	3,045	7,760	0,776	x	–	–
Concentração 6	39,573	3,958	10,080	1,008	x	–	–
Concentração 7	51,783	5,176	13,190	1,319	x	–	–
Concentração 8	60,900	6,090	15,500	1,551	x	–	–

### **Resíduos de Cu nos compartimentos do experimento (água, conchas e partes moles)**

Para a verificação dos resíduos do controlador estudado (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), após o término do experimento, foram avaliados os teores de cobre (Cu) nas águas utilizadas nos testes, segundo método descrito em APHA (2002), e nas conchas e partes moles dos moluscos, de acordo com o mesmo método utilizado para análise do background nos organismos testes.

### **Análise e interpretação dos dados**

Os dados obtidos (mortalidade e % dos resíduos do Cu) foram submetidos ao teste *Kolmogorov-Smirnov* para uma amostra ( $\alpha = 0,05$ ), com a finalidade de verificar se os dados seguiam distribuição normal ou não. Para a análise de dados que seguiram distribuição normal foram escolhidos testes

paramétricos, já para os dados que não seguem este tipo de distribuição, optou-se pelos testes não paramétricos.

Por meio do Teste *U* ( $\alpha = 0,05$ ) foram comparadas as concentrações de Cu, nas conchas e nos tecidos dos mexilhões coletados no delta do Jacuí para a avaliação do background de cobre nos mexilhões. Por meio da análise de variância (ANOVA, *Dunnet a posteriori*), com nível de significância de 5%, foram comparados os tratamentos e os controles quanto à mortalidade. O cálculo das concentrações letais (CE<sub>50</sub> e CE<sub>95</sub>) foi realizado por meio de análise de regressão (*Probit*). Além desta análise, foram calculados as regressões lineares e os coeficientes de determinação, com base nos dados de mortalidade e concentrações de sulfato de cobre.

A análise estatística multivariada das observações do comportamento do mexilhão dourado frente à exposição ao controlador químico foi realizada em duas etapas: a primeira,

por meio da Análise de Componentes Principais (ACP) e análise de agrupamento (matriz de correlação de Pearson entre variáveis; agrupamento pelo método do centróide), com a finalidade de ordenar e agrupar as variáveis que melhor explicam o comportamento; a segunda, por meio de análise de discriminante (AD), com a finalidade de discriminar os diferentes tratamentos quanto aos padrões de comportamento. As análises multivariadas dos indicadores comportamentais e de letalidade foram realizadas somente com os dados do experimento 3, o qual apresentou maior valor de coeficiente de determinação para a regressão entre mortalidade e concentrações de sulfato de cobre.

Por meio do Teste de *Kruskal-Wallis* (*Student Newman Keuls – SNK a posteriori*;  $\alpha = 0,05$ ) foram comparadas as concentrações (%) residuais de Cu em diferentes compartimentos do experimento nos controles e tratamentos: água teste, conchas e tecidos.

A ferramenta utilizada para a ANOVA, Teste *U*, *Probit*, ACP, agrupamento hierárquico e AD foi o *software* SPSS 11.3 (Licença: UBEA/PUCRS n. 3877940), já para o teste de *Kruskal-Wallis* (*SNK a posteriori*) foi utilizado o *software* BioEstat 4.0 (livre).

## RESULTADOS

### Concentrações de cobre (background)

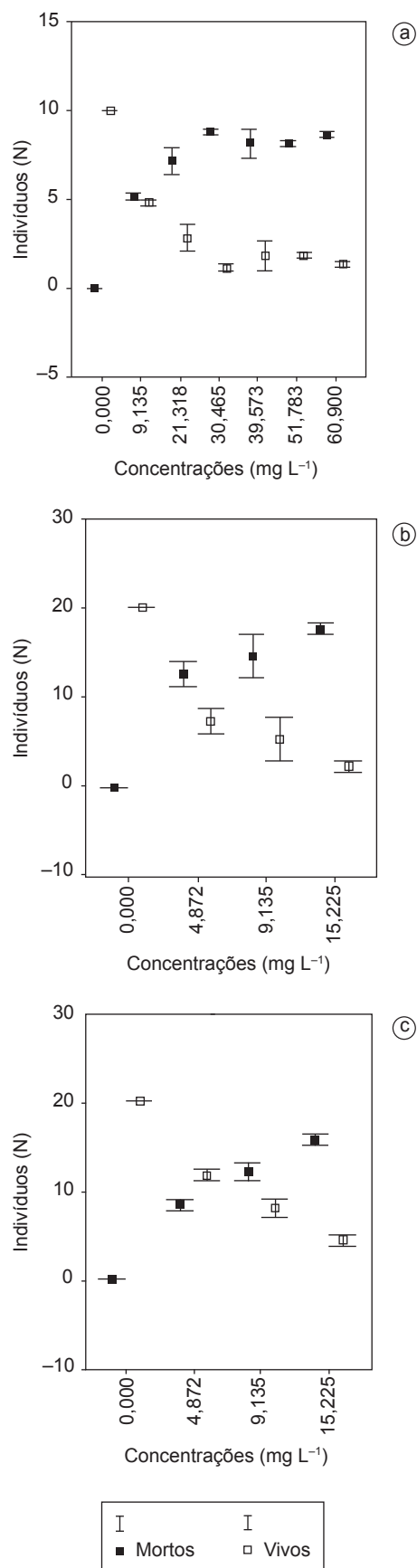
A concentração média de Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), o erro padrão, os valores mínimos e máximos para as conchas e tecidos do mexilhão dourado são: conchas,  $3,502 \pm 0,056$  (3,240-3,970) e tecidos,  $27,560 \pm 2,406$  (20,360-40,700). Foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,0001$ ) entre as concentrações de Cu nas conchas (maiores concentrações) e nos tecidos dos mexilhões coletados no lago Guaíba por meio do Teste *U*.

### Qualidade da água teste

Os valores das variáveis de qualidade da água bruta utilizada nos ensaios de laboratório para avaliar a toxicidade do sulfato de cobre ao mexilhão dourado e os padrões definidos pela resolução n. 357 do CONAMA (2005) para enquadramento das águas brutas superficiais encontram-se discriminados na Tabela 1. A qualidade da água bruta utilizada pode ser enquadrada na classe 1 do CONAMA com base nas seguintes variáveis: pH, turbidez, sulfatos, cloretos, nitrogênio amoniacal, nitratos e sólidos dissolvidos totais. Já as variáveis, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio, fósforo total e cobre dissolvido permitiram o enquadramento na classe 4. Os valores de temperatura da água nos aquários utilizados para a realização dos experimentos encontram-se discriminados na Tabela 4.

### Mortalidade de *L. fortunei*

Os números médios  $\pm$  o erro padrão de indivíduos mortos e vivos verificados nos experimentos 1, 2 e 3 podem ser verificados na Figura 1. Em nenhum dos experimentos foi



**Figura 1** – Valores médios  $\pm$  erro padrão de indivíduos mortos e vivos de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) expostos as diferentes concentrações de sulfato de cobre (48 h de exposição): experimento 1 (a); experimento 2 (b) e experimento 3 (c).

verificada mortalidade nos grupos controle. No experimento 1 em concentrações > 30 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de cobre não foi verificado incremento na mortalidade. No mesmo experimento, a menor concentração testada (9,135 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de cobre) apresentou maior número médio de indivíduos mortos (10,33 ± 0,57) do que indivíduos vivos (9,67 ± 1,45). No experimento 2, a menor concentração testada (4,872 mg L<sup>-1</sup>) também apresentou maior número médio de indivíduos mortos (12,67 ± 2,52) do que vivos (9,67 ± 1,45). No experimento 3, a menor concentração testada (4,872 mg L<sup>-1</sup>) apresentou maior número médio de indivíduos vivos (11,67 ± 1,15) do que mortos (9,67 ± 1,45). No mesmo experimento, a segunda concentração testada (9,135 mg L<sup>-1</sup>) apresentou maior número médio de indivíduos mortos (12,00 ± 1,73) do que vivos (8,00 ± 1,73).

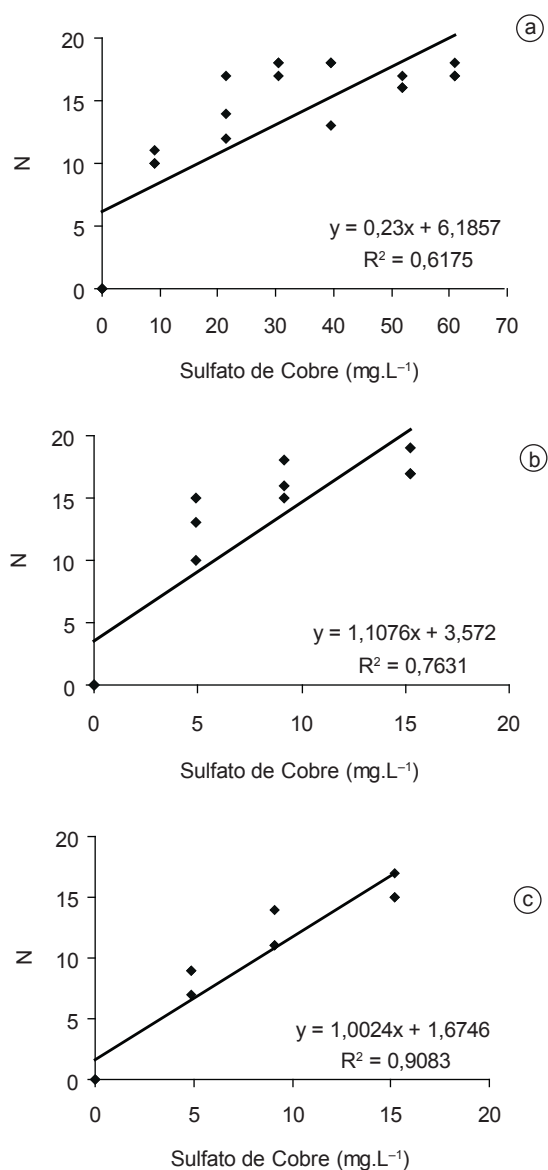
Por meio da análise de variância (ANOVA, *Dunnet a posteriori*), foram verificadas diferenças significativas ( $\alpha = 0,05$ ) entre o controle (sem adição de sulfato de cobre, com mortalidade nula) e os tratamentos (distintas concentrações de sulfato de cobre, com mortalidade) em todos os experimentos (1, 2 e 3).

No experimento 1 (Figura 2), a regressão entre a mortalidade (N) e as concentrações de sulfato de cobre (mg L<sup>-1</sup>) demonstrou que 61,7% da mortalidade foi explicada pela adição de sulfato de cobre. No experimento 2, 76,3% da mortalidade foi explicada adição de sulfato de cobre. Já no experimento 3 a relação linear explicou, 90,8% da variabilidade total.

#### Concentração Efetiva (CE<sub>50</sub> e CE<sub>95</sub>; 48 h)

Foram verificados os seguintes valores de CE<sub>50</sub> (limite de confiança: 95%; 48 h) e CE<sub>95</sub> (limite de confiança: 95%; 48 h) de sulfato de cobre (Figura 3a): experimento 1, CE<sub>50</sub> = 16,44 mg L<sup>-1</sup> (limite inferior, 5,23 e limite superior,

23,92 mg L<sup>-1</sup>) e CE<sub>95</sub> = 62,59 mg L<sup>-1</sup> (limite inferior, 50,71 e limite superior, 87,27 mg L<sup>-1</sup>); experimento 2, 6,09 mg L<sup>-1</sup> (3,00 e 8,68 mg L<sup>-1</sup>) e 15,33 mg L<sup>-1</sup> (11,82 e 24,81 mg L<sup>-1</sup>), e experimento 3, 8,48 mg L<sup>-1</sup> (6,69 e 10,42 mg L<sup>-1</sup>) e 19,08 mg L<sup>-1</sup> (15,58 e 25,43 mg L<sup>-1</sup>). Quando consideradas as concentrações testadas expressas em cobre foram encontrados os seguintes valores de CE<sub>50</sub> (limite de confiança: 95%; 48 h) e CE<sub>95</sub> (limite de confiança: 95%; 48 h) (Figura 3b): experimento 1, 4,18 mg L<sup>-1</sup> (1,33 e 6,09 mg L<sup>-1</sup>) e 15,93 mg L<sup>-1</sup> (12,91 e 22,21 mg L<sup>-1</sup>); experimento 2, 1,55 mg L<sup>-1</sup> (0,76 e 2,21 mg L<sup>-1</sup>), e 3,90 mg L<sup>-1</sup> (3,01 e 6,31 mg L<sup>-1</sup>) e experimento 3, 2,16 mg L<sup>-1</sup> (1,70 e 2,65 mg L<sup>-1</sup>) e 4,86 mg L<sup>-1</sup> (3,97 e 6,47 mg L<sup>-1</sup>).



**Figura 2** – Equações de regressão e coeficientes de determinação obtidos por diagrama de dispersão dos valores de mortalidade (N) do mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), sob diferentes concentrações de sulfato de cobre (48 h de exposição): experimento 1 (a); experimento 2 (b) e experimento 3 (c).

**Tabela 4** – Valores médios e erro padrão das medidas da temperatura da água dos aquários utilizados nos testes de toxicidade do sulfato de cobre ao mexilhão dourado. Número de aquários monitorados em cada concentração de sulfato de cobre testado (N).

Experimentos	Concentrações de sulfato de cobre (ppm)	N	Temperatura (°C)	
			Média	Erro padrão
Experimento 1	0	3	23,20	0,11
	9,135	3	23,20	0,11
	21,318	3	23,20	0,11
	30,465	3	23,20	0,11
	39,573	3	23,20	0,11
	51,783	3	23,20	0,11
Experimento 2	60,900	3	23,20	0,11
	0	3	23,20	0,11
	4,872	3	23,20	0,11
	9,135	3	23,40	0,13
Experimento 3	15,225	3	23,40	0,13
	0	3	22,80	0,20
	4,872	3	22,80	0,20
	9,135	3	23,40	0,13
	15,225	3	23,13	0,13

### Comportamento do *L. fortunei* em distintas concentrações de cobre

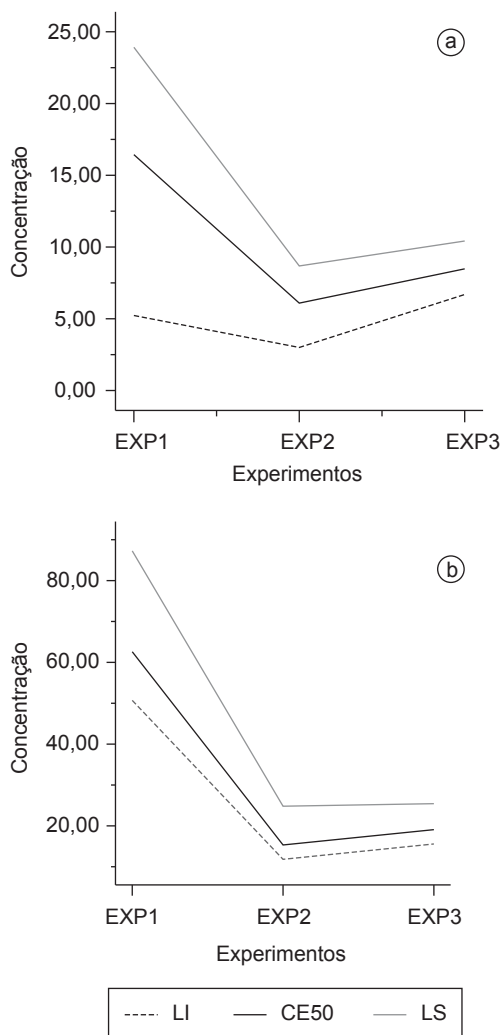
Os dados referentes à estatística descritiva dos indicadores de comportamento e letalidade do mexilhão dourado encontram-se discriminados na (Tabela 5).

Por meio da ACP (Figura 4a), os componentes 1 e 2 responderam por 55,96% da variância dos indicadores comportamentais e de letalidade. O componente 1 (35,05%) apresentou forte correlação positiva com o número de indivíduos

com sífões expostos – SE (0,935); com o número de indivíduos com valvas abertas – A (0,926); com a densidade de indivíduos aglomerados – DA (0,604) e o número de indivíduos com reação ao toque positiva – RTP (0,573). Também apresentou forte correlação negativa com o número de indivíduos com sífões não expostos – SNE (-0,935); o número de indivíduos com valvas fechadas – F(-0,926); com o número de indivíduos com reação ao toque negativa – RTN (-0,641) e com concentrações de sulfato de cobre utilizadas – C (-0,600). O componente 2

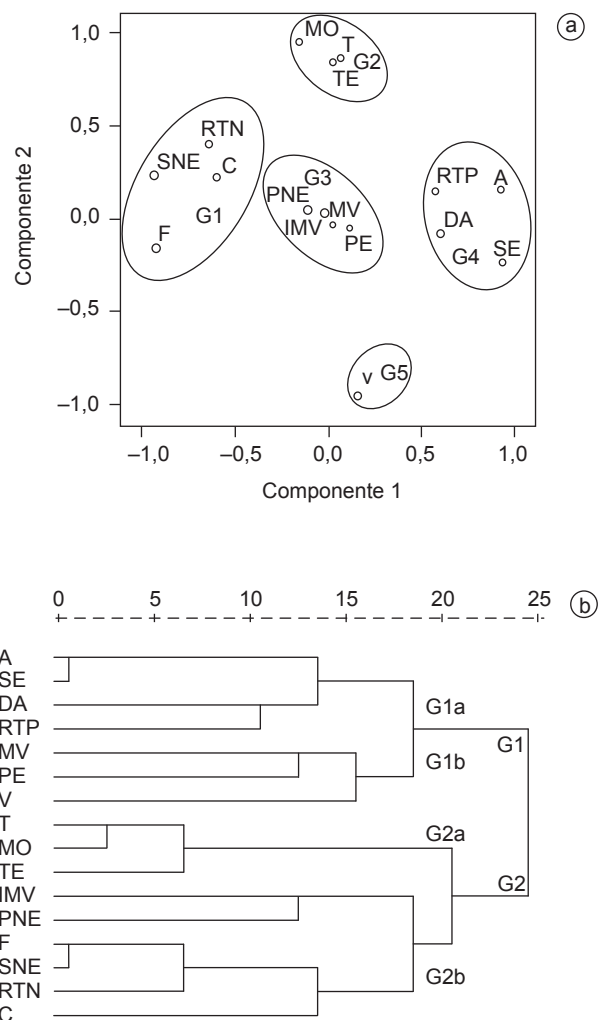
**Tabela 5** – Estatística descritiva dos indicadores do comportamento e letalidade de *L. fortunei* (experimento 3).

Indicadores	Concentrações (mg L <sup>-1</sup> )	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo
MV	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00
	4,872	0,07	0,07	0,00	1,00
	9,135	0,00	0,00	0,00	0,00
	15,225	0,00	0,00	0,00	0,00
IMV	0,000	20,00	0,00	20,00	20,00
	4,872	19,93	0,07	19,00	20,00
	9,135	20,00	0,00	20,00	20,00
	15,225	20,00	0,00	20,00	20,00
A	0,000	17,47	1,02	8,00	20,00
	4,872	3,13	1,63	0,00	17,00
	9,135	6,00	1,86	0,00	18,00
	15,225	7,13	1,84	0,00	19,00
F	0,000	2,53	1,02	0,00	12,00
	4,872	16,87	1,63	3,00	20,00
	9,135	14,00	1,86	2,00	20,00
	15,225	12,87	1,84	1,00	20,00
DA	0,000	7,60	0,98	5,00	18,00
	4,872	4,72	0,41	3,00	7,00
	9,135	4,05	0,12	3,30	5,30
	15,225	4,66	0,46	3,00	7,50
PE	0,000	0,07	0,07	0,00	1,00
	4,872	0,07	0,07	0,00	1,00
	9,135	0,20	0,20	0,00	3,00
	15,225	0,20	0,20	0,00	3,00
PNE	0,000	19,93	0,07	19,00	20,00
	4,872	19,93	0,07	19,00	20,00
	9,135	19,80	0,20	17,00	20,00
	15,225	19,80	0,20	17,00	20,00
SE	0,000	16,60	1,29	6,00	20,00
	4,872	3,47	1,85	0,00	18,00
	9,135	3,27	1,75	0,00	18,00
	15,225	3,20	1,74	0,00	19,00
SNE	0,000	3,40	1,29	0,00	14,00
	4,872	16,53	1,85	2,00	20,00
	9,135	16,73	1,75	2,00	20,00
	15,225	16,80	1,74	1,00	20,00
RTP	0,000	17,20	1,01	8,00	20,00
	4,872	13,87	4,48	0,00	40,00
	9,135	3,53	1,91	0,00	20,00
	15,225	3,20	1,74	0,00	19,00
RTN	0,000	2,80	1,01	0,00	12,00
	4,872	27,47	5,46	3,00	60,00
	9,135	16,27	2,00	0,00	20,00
	15,225	16,80	1,74	1,00	20,00



**Figura 3** – Valores de Concentração Efetiva (A,  $CE_{50}$  e B,  $CE_{95}$ ) de sulfato de cobre ( $mL^{-1}$ , 48 h de exposição) para o mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), e respectivos limites de confiança, inferior e superior (95%), obtidos por meio da análise de *Probit*, com base nos experimentos 1, 2 e 3.

(20,91%) apresentou forte correlação positiva com o número de indivíduos mortos – MO (0,949); com a temperatura do aquário – T (0,865) e com o tempo de exposição – TE (0,844). Este componente também apresentou forte correlação negativa com o número de indivíduos vivos – V (-0,949). A ACP (Figura 4a) demonstrou a formação de cinco grupos de indicadores ( $G_1$  a  $G_5$ ) de comportamento e letalidade de *L. fortunei*:  $G_1$  (F, SNE, RTN e C);  $G_2$  (MO, T e TE);  $G_3$  (número de indivíduos com o pé retraído – PNE, número de indivíduos com o pé exposto – PE, número de indivíduos sêsses – IMV e o número de indivíduos em deslocamento – MV);  $G_4$  (RTP, DA, A e SE) e  $G_5$  (V). O  $G_1$  reuniu as variáveis que indicaram filtração inativa e altas concentrações de sulfato de cobre. Ao contrário do  $G_1$ , o  $G_4$  reuniu variáveis que indicaram filtração ativa e a formação de aglomerados. O  $G_2$  reuniu variáveis que indicaram a mortalidade ao longo do tempo associada ao aumento da



**Figura 4** – Análise multivariada dos indicadores comportamentais e de letalidade de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) com base no experimento 3: Ordenação (ACP) (grupos 1 a 4:  $G_1$  a  $G_4$ ) dos indicadores (a); agrupamento hierárquico (método do centróide) com base em matriz de correlação (Pearson) entre os indicadores comportamentais e de letalidade (b) (grupos 1 e 2:  $G_1$  e  $G_2$ ).

temperatura nos aquários. O  $G_3$  reuniu variáveis relacionadas à mobilidade, que não contribuíram para a descrição dos padrões de comportamento dos organismos testes. Os mexilhões apresentaram pouca mobilidade durante os experimentos. O  $G_5$  refere-se os organismos vivos.

A análise de agrupamento hierárquico (Figura 4b) formou dois grandes grupos: um ( $G_1$ ) foi formado pelas variáveis que indicam vitalidade, com filtração ativa e mobilidade e outro ( $G_2$ ) por aquelas que indicam mortalidade, filtração inativa, imobilidade, elevadas concentrações de sulfato de cobre e elevado tempo de exposição.

Por meio da AD (Figura 5), as funções 1 e 2 responderam 94,8% da variância dos tratamentos quanto aos indicadores comportamentais e de letalidade. A função 1 (67,8%) apresentou forte correlação positiva com a variável discriminante RTN (0,464)

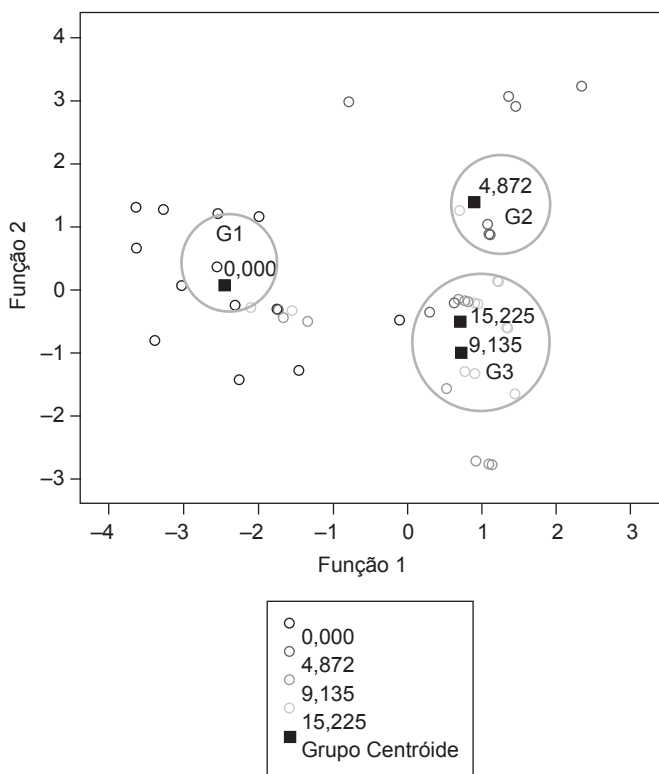
e negativa com A (-0,600). A função 2 (27,0%) apresentou forte correlação positiva com a variável discriminante RTP (0,488) e negativa com TE (-0,331). A AD (Figura 5) demonstrou a formação de três grupos (G<sub>1</sub> a G<sub>3</sub>): G<sub>1</sub>, respectivo ao controle (sem adição de sulfato de cobre); G<sub>2</sub>, ao tratamento 4 (4,872 mg L<sup>-1</sup>) e G<sub>3</sub>, aos tratamentos 2 (9,135 mg L<sup>-1</sup>) e 3 (15,225 mg L<sup>-1</sup>).

**Recuperação Cu dos compartimentos do experimento (tecidos, concha e água teste)**

Os números médios ± o erro padrão de indivíduos das concentrações (%) de cobre nos distintos compartimentos do experimento 1, 2 e 3 podem ser verificados na Figura 6.

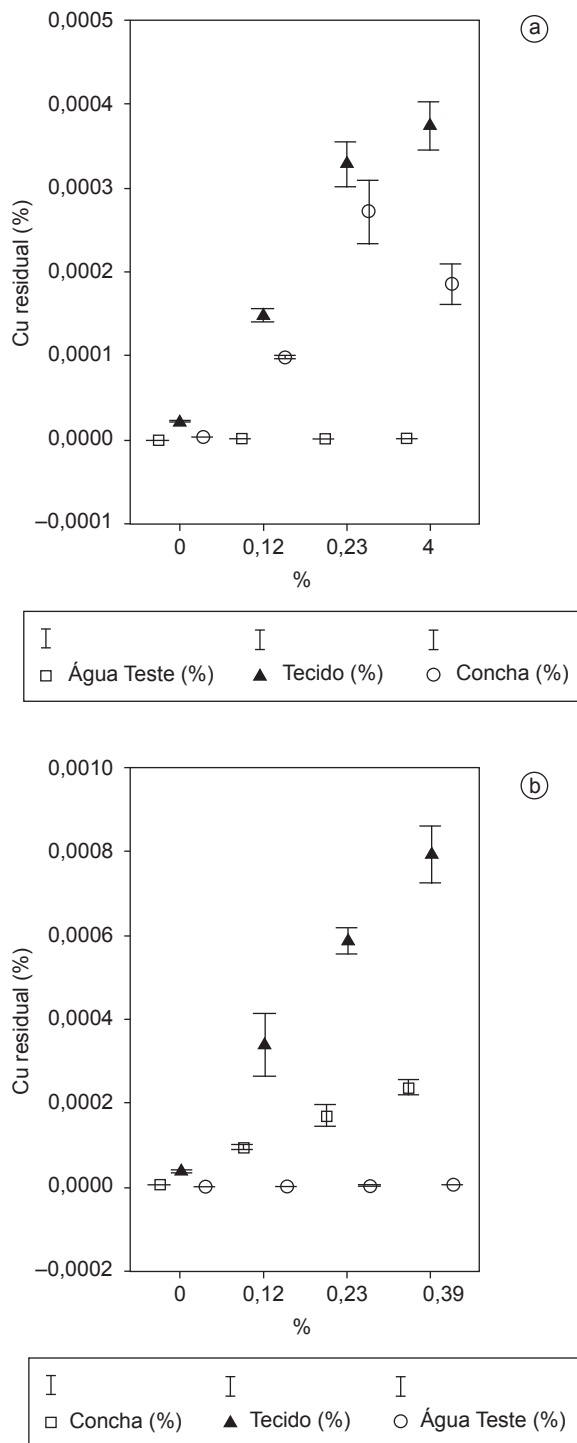
Nos experimentos 1, 2 e 3 não foram verificadas diferenças significativas entre as concentrações de Cu na concha e nos tecidos por meio do teste de *Kruskal-Wallis* (*SNK*, α = 0,05). No entanto, foram verificadas diferenças entre as concentrações de Cu na concha e na água teste, assim como entre os tecidos e na água teste. Os valores encontrados nas conchas e nos tecidos foram superiores aos encontrados nas águas testes.

Água teste: No experimento 1 não foram verificadas diferenças significativas entre as concentrações de cobre na água teste do controle e os resíduos nos tratamentos 0,23% e 0,54%, por meio do teste de *Kruskal-Wallis* (*SNK*, α = 0,05). No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos. Nos experimentos 2 e 3 não



**Figura 5** – Ordenação (análise de discriminante) das concentrações (mg L<sup>-1</sup>) e controles quanto aos indicadores (grupos 1 a 3: G<sub>1</sub> a G<sub>3</sub>) dos indicadores de comportamento e letalidade de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) com base no experimento 3.

foram verificadas diferenças significativas entre as concentrações de cobre na água teste do controle e os resíduos no tratamento 0,12%. No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos, e entre o tratamento 0,12% e os demais.



**Figura 6** – Valores médios ± erro padrão de Cu residual (%) dissolvido na água teste e acumulados nas conchas e nos tecidos de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos diferentes tratamentos: A) Experimento 2 e B) Experimento 3.

Conchas: No experimento 1 não foram verificadas diferenças entre concentrações de cobre nas conchas do controle e o cobre acumulado nas conchas em concentrações de 0,23% e 0,54%, por meio do teste de *Kruskal-Wallis* (*SNK*,  $\alpha = 0,05$ ). No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos. Nos experimentos 2 e 3 não foram verificadas diferenças significativas entre concentrações de cobre nas conchas dos moluscos do controle e cobre acumulado nas conchas dos moluscos expostos a uma concentração de 0,12% de cobre. No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos.

Tecidos: No experimento 1 não foram verificadas diferenças entre as concentrações de cobre nos tecidos no controle e o cobre acumulado nos tecidos dos moluscos em concentrações de 0,26%; 0,54% e 0,78%, por meio do teste de *Kruskal-Wallis* (*SNK*,  $\alpha = 0,05$ ). No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos. Nos experimentos 2 e 3 não foram verificadas diferenças significativas entre as concentrações de cobre nos tecidos dos moluscos do controle e o cobre acumulado nos tecidos dos moluscos expostos ao cobre em concentração de 0,12%. No entanto foram verificadas diferenças significativas entre o controle e os demais tratamentos, e entre o tratamento 0,12% e os demais.

## DISCUSSÃO

Os teores de cobre verificados nos tecidos (20,360 e 40,700 mg kg<sup>-1</sup> de Cu) do mexilhão dourado no presente estudo situaram-se dentre os valores encontrados por Villar et al. (1999) (12,05 e 42,0 mg kg<sup>-1</sup> de Cu) no mexilhão dourado do rio Paraná. Em outras espécies de pequenos bivalves filtradores (entre 1 e 4 cm de comprimento da concha) foram verificadas as seguintes concentrações de cobre nos tecidos: *Cyanocyclas limosa* (Maton, 1811), 5,20 ± 2,81 mg kg<sup>-1</sup> (Guerrero & Kesten, 1993); *C. limosa*, entre 7,03 e 28,39 mg kg<sup>-1</sup> (Bendati, 2000); *Mytella falcata* (Orbigny, 1846), 7,30 ± 1,80 mg kg<sup>-1</sup> (Carvalho et al., 2000). Em bivalve de maior tamanho (comprimento da concha em torno de 10 cm), *Anodonta grandis* Say, 1829, Pip (1990) verificou os valores de cobre (45,30 ± 3,10 mg kg<sup>-1</sup>) nos tecidos comparáveis aos verificados no mexilhão dourado neste experimento. Segundo Sylvester et al. (2005), o mexilhão dourado tem uma capacidade de filtração muito elevada quando comparado aos demais bivalves de água doce, provável razão da elevada concentração de cobre nos tecidos do mexilhão analisado.

Os valores de cobre verificados nas conchas foram relativamente baixos e podem ser oriundos da deposição do mesmo na superfície das valvas, durante o período de teste. Não foram encontradas referências sobre a incorporação de cobre na concha de moluscos bivalves.

Durante todo o experimento com o mexilhão dourado, a água teste não foi renovada e não foi adicionado alimento aos organismos. Mesmo assim, não foi verificada a mortalidade dos mexilhões do grupo controle, demonstrando alta resistência do animal na falta de alimento. De acordo com Silva (2006) *Limnoperna fortunei* é uma espécie bastante tolerante à ausência

de alimento, podendo sobreviver por até 63 dias em condições de laboratório sem alimentação. Segundo a autora, essa resistência em condições extremas parece ser uma característica comum a alguns moluscos aquáticos invasores.

A partir do experimento 1 foi possível verificar preliminarmente a faixa de concentrações mínimas para causar a mortalidade de aproximadamente 50% dos mexilhões nos aquários. O experimento 3 apresentou a melhor relação entre mortalidade e a concentração da substância testada, demonstrando maior confiabilidade dos resultados, com menor variabilidade dos dados de mortalidade entre réplicas e tratamentos.

O cobre é um íon essencial que é requerido por todos os organismos em seus processos celulares (Brooks & Waldok, 2009). No entanto, quando em concentrações muito elevadas pode afetar o crescimento, a reprodução, o comportamento e a sobrevivência (Salazar & Salazar, 2007). Também pode provocar mutações nas células, com formação de tumores, que podem causar efeitos letais ou sub-letais no organismo (Arnaiz, 1997). No presente estudo, o experimento 3 demonstrou mortalidade para 50% dos organismos expostos ao sulfato de cobre na concentração de 8,48 mg L<sup>-1</sup>. Villela et al. (2006) verificou danos celulares significativos na hemolinfa *L. fortunei* após 48 h de ao sulfato de cobre em concentrações igual ou superior a 3,75 mg L<sup>-1</sup> e alterações nos valores do índice de danos no DNA, em concentrações igual ou superior a 7,5 mg L<sup>-1</sup>.

Considerando a concentração efetiva (2,16 mg L<sup>-1</sup> de cobre) necessária para causar a mortalidade de 50% da população do mexilhão dourado, em testes de bancada (experimento 3,  $r^2 = 0,908$ ), observa-se que esta é superior ao padrão permitido para lançamentos de efluentes líquidos (0,5 mg L<sup>-1</sup> de cobre) em águas superficiais segundo resolução n. 128 do CONSEMA (2006) e ao padrão para águas de classe 3 (0,013 mg L<sup>-1</sup> de cobre) segundo resolução n. 357 do CONAMA (2005). O sulfato de cobre é um produto comumente utilizado como fungicida, bactericida, inseticida, moluscida e herbicida em atividades agrícolas, mas seus efeitos sobre a biota aquática podem causar drásticas reduções nas populações de macroinvertebrados (EPA, 1986; Doudoroff & Katz, 1853).

As concentrações letais verificadas nesse estudo são superiores àquelas indicadas por Colares et al. (2002b) no controle do mexilhão dourado em captadoras de água para abastecimento da cidade de Porto Alegre (0,5 a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de cobre) pelo Departamento Municipal de Águas e Esgotos. O cálculo da concentração de um moluscida a ser aplicado em uma captadora deve considerar a vazão e a diluição da substância moluscida (Souza, 1995). Além disso, o modo de aplicação do controlador químico (intermitente, contínuo ou semicontínuo) deve ser considerado no dimensionamento do tratamento (Darrigran & Damborenea, 2005).

Quando comparadas com as concentrações letais destinadas ao controle de outros moluscos (CE<sub>50</sub>; 48 h), os valores verificados por meio deste estudo para o controle do mexilhão dourado também são elevados. Orme e Kegley (2006) citaram para os moluscos a seguir os seguintes valores: *Corbicula manilensis* (Müller, 1774), 0,1 mg L<sup>-1</sup>, em 84 horas; *Biomphalaria alexandrina* (Ehrenberg, 1831), 0,005 mg L<sup>-1</sup>, em 8 horas; *Lymanaea natalensis* Krauss, 1848, 0,8 mg L<sup>-1</sup>, em 24 horas;

*Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (0,003 mg L<sup>-1</sup>; 8 horas) e *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774), 0,1 a 0,2 mg L<sup>-1</sup>, em 24 horas; *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), 2,5 mg L<sup>-1</sup>, em 48 horas (Barosa et al., 2003).

A avaliação comportamental do mexilhão durante os experimentos permitiu definir parâmetros de comportamento para o entendimento do efeito moluscida da substância testada. Os organismos quando expostos reagiram imediatamente fechando as valvas. Após alguns minutos abriam as valvas e iniciavam novamente a atividade de filtração de forma pouco intensa, como pode ser observado por meio do nível de exposição dos sífões. No entanto, com o passar do tempo de exposição, o efeito das concentrações sobre os moluscos inibiu a atividade de filtração e a mobilidade dos mexilhões. A análise multivariada demonstrou claramente a distinção entre grupos de filtração ativa e inativa. Após a exposição ao cobre os mexilhões diminuíram a atividade de filtração, a mobilidade e a reação ao toque, demonstrando um estado letárgico. Outros indivíduos mantiveram as valvas fechadas. Esse comportamento indicou provavelmente um mecanismo de reação do bivalve diante da sinalização da presença de uma substância de elevada toxicidade. Ainda com base nestes indicadores foi possível distinguir o grupo controle dos demais tratamentos. E entre os tratamentos distinguiram-se as maiores e as menores concentrações.

A avaliação proposta por meio de indicadores de comportamento e letalidade do mexilhão dourado, durante os testes de toxicidade consistiu num complemento eficiente da avaliação da toxicidade do sulfato de cobre ao mexilhão dourado.

Os bivalves de água doce são utilizados como monitores ambientais pelo fato de acumularem metais em seus tecidos devido à alta capacidade de filtração. A utilização de água do local de coleta contendo material em suspensão pode ter contribuído para a incorporação do cobre nos tecidos do mexilhão dourado. Callil & Junk (1999) verificaram que indivíduos de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) e *Castalia ambigua* (Lamarck, 1819) expostos ao Hg<sup>0</sup> em meio enriquecido com material em suspensão, apresentaram teores de Hg<sup>0</sup> nos tecidos superiores aos indivíduos dos mesmos bivalves expostos ao Hg<sup>0</sup> em meio desprovido de material em suspensão.

A aplicação do sulfato de cobre como controlador químico em sistemas abertos, sem posterior tratamento da água para a remoção de resíduos de cobre e sem a devida remoção e acondicionamento dos mexilhões mortos em aterros sanitários, causaria a contaminação dos corpos hídricos e de toda a sua biodiversidade por meio da cadeia trófica. As dosagens são elevadas e podem resultar em resíduos superiores aos padrões estabelecidos pela legislação ambiental.

*Agradecimentos* – Ao CNPq pelo financiamento. Edital Universal, Processo 4803337/2004-7.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 2002. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21a ed., Washington, D. C., 1268p e CD-ROM.
- AL-SABRI, I.Y.N., SMITH, J.D. & THOMAS, D. 1993. Copper molluscicides for control of Schistosomiasis. 3 Adsorption by clay and suspensions. *Environ. Sci.*, 27:2999-303.
- AMUSAN, A.A.S., ANYAELE, O.O. & LASISI, A.A. 2002. Effects of copper and lead on growth, feeding and mortality of terrestrial gastropod *Limnicolaria flammea* (Müller, 1774). *Afri. J. Biomed. Res.*, 5:47-50.
- ARNAIZ, R.R. 1997. Las toxinas ambientales y sus efectos genéticos. La Ciencia para Todos, Fondo de Cultura Económica, México. 95p.
- BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B. & SOUZA, I. 2003. Teste de toxicidade do sulfato de cobre para o mexilhão mediterrâneo *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck), em água do mar. Universidade de Algarve, Faro, 13p.
- BENDATI, M.M. 2000. Avaliação da concentração de metais pesados em moluscos no lago Guaíba. *ECOS*, 17:1-9
- BENDATI, M.M.A., SCHWARZBACH, M.S., MAIZONAVE, C.R.M., BRINGHENTI, M.L. & ALMEIDA, L.B. 2003. Avaliação da qualidade da água do Lago Guaíba: subsídios para a gestão da bacia hidrográfica. *Ecos*, 7: 1-34.
- BROOKS, S. J. & WALDOCK, M. 2009. Copper biocides in the marine environment. In: Arai, T.; Harino, H.; Ohji, M. & Langston, W. J. (eds.) Ecotoxicology of antifouling biocides. 437p. Springer, Tokyo.
- CAPRARI, J. J. 2006. Pinturas antiincrustantes. In: Darrigran, G. & Damborenea, C. (Eds). Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. 218p. Edulp, Buenos Aires, Argentina.
- CARVALHO, G.P., CAVALCANTE, P.R.S. CASTRO, A.C.L. & ROJAS, M.O.A.I. 2000. Preliminary assessment of heavy metal levels in *Mytella falcata* (Bivalvia Mytilidae) from Bacanga River Estuary, São Luiz, State of Maranhão, Northeastern of Brazil. *Rev. Bras. Biol.*, 60:11-16.
- CALLIL, C.T. & JUNK, W.J. 1999. Concentração e incorporação de mercúrio por Moluscos Bivalves (*Anodontites trapesialis* Lamarck, 1819 e *Castalia ambigua* LAMARK, 1819) do Pantanal de Poconé - MT, Brasil. *Biociências*, 7:3-28.
- CLAUDI, R. & MACKIE, G.L. 1994. Practical manual for zebra mussel monitoring and control. Boca Raton, Lewis Publishers. 240p.
- COLARES, E.R.C., BENDATI, M.M.A. & SUMINSKY, M. 2002a. Impactos da presença do mexilhão dourado em sistemas de abastecimento de água. *ECOS*, 22:30-35.
- COLARES, E.R.C., SUMINSKY, M. & BENDATI, M.M.A. 2002b. Diagnóstico e controle do mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei*, em sistemas de tratamento de água em Porto Alegre (RS, Brasil). ABES, Porto Alegre, 4p.
- CONAMA. 2005. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em: 19/agosto/ 2008.
- CONSEMA. 2006. Resolução nº 128 de 24 de novembro de 2006. Disponível em: <[http://www.mp.rs.gov.br/areas/ambiente/arquivos/boletins/bola\\_leg08\\_06/iig128.pdf](http://www.mp.rs.gov.br/areas/ambiente/arquivos/boletins/bola_leg08_06/iig128.pdf)> Acesso em: 19/agosto/ 2008.
- DARRIGRAN, G.E. & MANSUR, M.C.D. 2006. Distribuição, Abundância e Dispersão, pp. 93-110. In: G.E. Darrigran & C. Damborenea (eds.). Bio-invasión Del mejillón dorado en el continente americano. Edulp, La Plata. 226p.
- DARRIGRAN, G.E. & DAMBORENEA, C. 2005. El mejillón dorado *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) en la Cuenca del Plata, pp. 40-102. In: P.E. Penchaszadeh (Org.). Invasores: invertebrados exóticos en el Rio de La Plata y Región Marina Aledaña. Eudeba, Buenos Aires. 384p.

- EPA. 1986. Guidance for registration of pesticide products containing copper sulfate. Office of Pesticide Programs, Whashington. G-31.
- FISHER, S.W. & BERNARD, D.O. 1991. Methods for evaluating zebra mussel control products in laboratory and field studies. *J. Shellfish. Res.*, 10:367-371.
- GUERRERO, N.R.V. & KESTEN, E.M. 1993. Levels of heavy metals in biota from the La Plata River. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 8:335-344.
- MANSUR, M.C.D. & PEREIRA, D. 2006. Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veneroidea e Mytiloidea). *Rev. Bras. Zool.*, 23:1123-1147.
- MORTON, B. 1973. Some aspects of the biology and functional morphology of the organs of feeding and digestion of *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Bivalvia: Mytilacea). *Malacologia*, 12:265-281.
- ORME, S. & KEGLEY, S. 2006. PAN pesticide database, Disponível em: <[http://www.pesticideinfo.org/Detail\\_Chemical.jsp?Rec\\_Id=PC33703](http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33703)> Acesso em: 19/agosto/ 2008.
- PIP, E. Copper, Lead and Cadmium concentrations in a sample of Lake Winnipeg *Anodonta grandis*. *The Nautilus*, 103:140-142.
- SALAZAR, M. H. & SALAZAR, S. M. 2007. Linking bioaccumulation and biological effects to chemicals in water and sediment: a conceptual framework for freshwater bivalve ecotoxicology. In: Farris, J. L.; Hassel, J. H. van (eds.) Freshwater bivalve ecotoxicology. 375p. SETAC/CRC Press, Belgium.
- SILVA, D.P. 2006. Aspectos bioecológicos do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (bivalvia, mytilidae) (Dunker, 1857). Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná (UFP), Curitiba, 138p.
- SYLVESTER, F., DORADO, J., BOLTOVSKOY, D. JUAREZ, A & CATALDO, D. 2005. Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of size and temperature. *Hydrobiologia*, 534: 71-80.
- SOUZA, C.P. 1995. Molluscicide control of snail vectors of schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 90:165-168.
- REDDY, A., PONDER, E.L. & FRIED, B. 2004. Effects of copper sulfate toxicity on cercariae and metacercariae of *Echinostoma caproni* and *Echinostoma trivolvis* and on the survival of *Biomphalaria glabrata* snails. *Journal of Parasitology*, 90: 1332-1337.
- VILLAR, C., STRIPEKIS, J., D'HUICQUE, L. & TUDINO, M. 1999. Cd, Cu, and Zn concentration in sediments and the invasive bivalves *Limnoperna fortunei* and *Corbicula fluminea* at the Rio de La Plata basin, Argentina. *Hydrobiologia*, 416:41-49.
- VILLELA, I.V., OLIVEIRA, I.M., SILVA, J. & HENRIQUES, J.A.P. 2006. DNA damage and repair in haemolymph cells of golden mussel (*Limnoperna fortunei*) exposed to environmental contaminants. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environ. Mutag.*, 697: 78-86.
- WADA, T. 2004. Strategies for controlling the Apple Snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck) (Gastropoda: Ampullaridae) in Japanese direct-Sown Paddy Fields. *JARQ*, 38:75-80.
- WALLER, D.L., RACH, J.J., COPE, G. & MARKING, L.L. 1993. Toxicity of candidate molluscicides to zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and selected nontarget organisms. *J. Great Lakes Res.*, 19:695-702.