UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

JULIANA SUNDFELD-PENIDO

**Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e
sedimento do ribeirão Limeira – Piquete/Lorena-SP**

Lorena
2010

JULIANA SUNDFELD-PENIDO

**Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e
sedimento do ribeirão Limeira – Piquete/Lorena-SP**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de conversão de biomassa

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Teresa Cristina Brazil de Paiva

Lorena
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação
Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Sundfeld-Penido, Juliana

Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do ribeirão Limeira – Piquete/Lorena-SP / Juliana Sundfeld-Penido ; orientadora Teresa Cristina Brazil de Paiva. – Lorena: 2010.

147 p. : il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo.

1. Qualidade da Água (ribeirão Limeira/SP) 2. Limnologia 3. Ecotoxicologia 4. Ensaios de toxicidade 4. Ensaios *in situ*. I. Título

628.16 - CDU

Dedico este trabalho ao Vô Luiz (*in memoriam*),
pelo exemplo de vida; aos meus pais Andrea e
Rubens, meu irmão Vinícius e ao meu marido
Sérgio, amores da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me iluminar, dar força e sabedoria necessárias para a realização deste trabalho.

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao CNPQ pelo auxílio financeiro no projeto do Ribeirão Limeira.

À Prof^a. Teresa Paiva e ao Prof. Flávio Teixeira, pela oportunidade e confiança depositada para a realização deste trabalho.

Aos alunos que fizeram parte, em algum momento, do laboratório de ecotoxicidade, pela companhia, auxílio e dedicação na execução das análises das amostras e a manutenção dos cultivos. Obrigada Filipe, Lívia, Débora, Gabriela, Gabriele, Telma, Natalie, e Tayrone.

Aos funcionários Ângelo e Gabriel, pelo auxílio e companhia durante as coletas.

Ao José Moreira, pelo auxílio na elaboração das câmaras de ensaios.

Ao José Carlos (Zé), pelos cafezinhos deliciosos.

Aos funcionários da biblioteca, sempre muito gentis e prontos a ajudar nas incansáveis buscas de livros e artigos, especialmente, Joel, pelos treinamentos; e Regina Horta, pelos esclarecimentos, revisões e principalmente seu alto astral, sempre pronta a ajudar.

Aos funcionários das secretarias, André, Sandra e Bia, pelo auxílio nas diversas etapas burocráticas durante a pós-graduação.

Aos Professores Ana Lúcia e Rui Ribeiro, pelos esclarecimentos e preciosas sugestões dadas durante a pesquisa.

Ao Prof. Sérgio e Prof^a. Mirian, pela colaboração em análises desse trabalho.

Aos colegas de Departamento, pela companhia e momentos de descontração, que sempre renovaram nossas forças para continuarmos nossa batalha. Em especial ao Fernando (Budaia), Gina, Flávio (Nardoni) e Paulinha.

Aos companheiros Elaine, Juliana Furlani, Bruno, e Daniel pela paciência em discutir os dados desse trabalho, pelo apoio e amizade durante todo o nosso convívio.

À Lucinha, pela amizade, compreensão, companheirismo, conselhos e auxílio em todos os momentos desse trabalho e de minha estada nesta cidade.

Ao Sr. Chico, por permitir que os ensaios *in situ* fossem realizados em sua propriedade e pela disposição em nos ajudar durante os testes.

A todos que, de uma forma ou de outra contribuíram, torceram e acreditaram nesse trabalho.

Aos meus grandes amigos Carol, Laila, Gui e Ju Fernandes, por serem verdadeiramente amigos!

A família Moreira, pelo carinho e torcida.

A minha amada família, tios e tias, primos e primas, que sempre incentivaram meus estudos e minha carreira, compreendendo minha ausência nos diversos encontros e eventos familiares. Em especial a mãezinha Coraly e Vô Luiz, por serem nossos referenciais de amor e educação; e a mãezinha Iraídes, por me acolher em sua casa logo no início da minha carreira científica.

Ao meu irmão, Vinícius, por ser meu referencial de calma, serenidade, paciência e alegria. Obrigada pelo seu amor, carinho e apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao meu marido Sérgio que, no meio dessa jornada entrou em minha vida, me enchendo de esperanças, alegrias e amor. Por toda sua paciência e ajuda, nos momentos em que tudo parecia preto e branco você me mostrou novamente a beleza das cores.

Aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado e dividiram todos os momentos de alegrias e dificuldades, mostrando que a família sempre será o meu porto seguro. Obrigada pela amizade, e o melhor de tudo, por serem meus pais...

"Não haverá borboletas se a vida não passar
por longas e silenciosas metamorfoses."

Rubem Alves

RESUMO

SUNDFELD-PENIDO, J. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do ribeirão Limeira – Piquete/Lorena-SP.** 2010. 147p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

O ribeirão Limeira nasce em Piquete – SP e deságua no rio Paraíba do Sul, em Lorena – SP. Em sua bacia hidrográfica existem indústrias de materiais bélicos e abrasivos, plantações de eucalipto e áreas de pastagem. Para avaliar possíveis impactos do uso e ocupação da área, este estudo avaliou as condições limnológicas e ecotoxicológicas do ribeirão, entre set/07 e jul/08. Ao longo do ribeirão, foram estabelecidos sete pontos amostrais, da nascente até a foz. A água e sedimento foram avaliados quanto à toxicidade aguda e crônica através de bioensaios com os cladóceros *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* e a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* para a água; e *C. silvestrii*, *D. similis* e o quironomídeo *Chironomus xanthus* para o sedimento. Os parâmetros limnológicos analisados na água foram: turbidez, condutividade, OD, pH, DQO, DBO, nitrato, nitrito, fósforo total, sólidos totais dissolvidos, dureza, metais (Ag, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Pb e Zn) e coliformes termotolerantes. Os parâmetros físico-químicos do sedimento analisados foram: fósforo total, matéria orgânica, granulometria, metais totais e frações biodisponíveis. Bioensaios *in situ* foram realizados utilizando câmaras de PVC, em pontos previamente selecionados, baseados nos resultados de ecotoxicidade do período de set/07 a jul/08. A sazonalidade influenciou na dinâmica deste ambiente e nas variáveis analisadas, também ocorreu variação espacial indicando influência de ações antrópicas no ribeirão. Conforme os parâmetros analisados na água, alguns pontos amostrais estiveram fora dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (Classe I e II) em alguns meses. Fontes de poluição difusa dificultaram a identificação das possíveis substâncias causadoras de toxicidade. Ao longo do ribeirão, certos pontos apresentaram valores de metais no sedimento fora dos limites preconizados pela *Canadian Council of Ministers of the Environment*. O ribeirão Limeira apresentou a qualidade da água regular, segundo o índice para a manutenção da vida aquática (IVA). Os ensaios *in situ* indicaram que o sedimento do ponto P4 apresentou toxicidade. Esses bioensaios no ambiente se mostraram mais eficientes que os ensaios laboratoriais, refletindo uma melhor realidade em relação à possível presença de substâncias tóxicas no ecossistema aquático.

Palavras-chave: Qualidade da Água (ribeirão Limeira/SP), Limnologia, Ecotoxicologia, Ensaios de toxicidade, Ensaios *in situ*.

ABSTRACT

SUNDFELD-PENIDO, J. **Limnological and ecotoxicological studies with water and sediment samples of the Limeira stream - Piquete / Lorena-SP.** 2010. 147p. Thesis (Doctoral of Sciences) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

The Limeira stream is born in Piquete - SP and flows into the Paraíba do Sul river, in Lorena - SP. In this basin there are military and abrasives industries, eucalyptus plantations and pasture areas. To evaluate potential impacts of the use and occupation of the area, this study assessed the ecotoxicological and limnological conditions of the stream between September 2007 and July 2008. Seven sampling points were established along the river from the source to the mouth. The acute and chronic toxicity were evaluated both in the water and sediment, using the cladocerans *Daphnia similis* and *Ceriodaphnia silvestrii*, algae *Pseudokirchneriella subcapitata* for the water and *C. silvestrii*, *D. similis* and chironomids *Chironomus xanthus* for the sediment. The limnological parameters analyzed in water were: turbidity, conductivity, dissolved oxygen, pH, COD, BOD, nitrate, nitrite, total phosphorus, total dissolved solids, hardness, metals (Ag, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Pb and Zn) and fecal coliform; and the physical-chemical parameters of sediment were: total phosphorus, organic matter, granulometry, metals and bioavailable fractions. The *in situ* bioassays were conducted using PVC chambers at previously selected points, based on the results of ecotoxicity. The results showed that seasonality influenced both the dynamics of the environment and the analyzed variables. The spatial variation indicated influence of human activities along the stream. In some months, the analyzed parameters of water were outside the parameters established by CONAMA Resolution 357/05 for Class I and II. Diffuse pollution sources made it difficult to identify the potential toxicity-causing substances. In some points along the river, the values of metals in sediment were outside the limits recommended by the Canadian Council of Ministers of the Environment. According to the index for the maintenance of aquatic life (VAT), the river showed regular water quality due to the results of acute and chronic toxicity observed in some points.

Keywords: Water quality (Limeira stream /SP), Limnology, Ecotoxicology, toxicity assay, *In situ* assay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Resumo dos elementos que compõem o CQS.....	31
Figura 2.2	Biodisponibilidade dos poluentes e níveis de manifestações nos organismos...	38
Figura 4.1	Mapa de localização da bacia do ribeirão Limeira	45
Figura 4.2	Ponto P0 do ribeirão Limeira	46
Figura 4.3	Ponto P1 do ribeirão Limeira	46
Figura 4.4	Ponto P2 do ribeirão Limeira	46
Figura 4.5	Ponto P3 do ribeirão Limeira	46
Figura 4.6	Ponto P5 do ribeirão Limeira	47
Figura 4.7	Foz do ribeirão Limeira, ponto P6	47
Figura 4.8	Microcrustáceo <i>C. silvestrii</i> , aumento de 40x em microscópio óptico	58
Figura 4.9	Microcrustáceo <i>D. similis</i> , aumento de 40x em microscópio óptico	59
Figura 4.10	Cristalizadores contendo cultivo de <i>C. silvestrii</i> e <i>D. similis</i>	59
Figura 4.11	Larva de <i>C. xanthus</i> , aumento de 20x em microscópio estereoscópico (lupa) ..	59
Figura 4.12	Bandeja de cultivo de <i>C. xanthus</i> com tela, para retenção dos adultos emergentes.....	60
Figura 4.13	Câmara de ensaio <i>in situ</i> para <i>C. xanthus</i>	66
Figura 4.14	Câmara de ensaio <i>in situ</i> para <i>C. silvestrii</i> e <i>D. similis</i>	67
Figura 4.15	Suporte de plástico com as câmaras de ensaio sendo implantadas 24h antes do início do ensaio, ribeirão Limeira	68
Figura 4.16	Suporte de plástico com os recipientes-controle	68
Figura 5.1	Dados pluviométricos da região de Guaratinguetá/Lorena no ano de 2007 e 2008.....	77
Figura 5.2	Valores de pH da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	79
Figura 5.3	Valores de condutividade da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	79
Figura 5.4	Valores de dureza da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	79
Figura 5.5	Valores de sólidos totais dissolvidos da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	79
Figura 5.6	Valores de temperatura da água do ribeirão Limeira set/07 a jul/08	81
Figura 5.7	Valores de oxigênio dissolvido das águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.....	81
Figura 5.8	Valores da demanda bioquímica de oxigênio na água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	82
Figura 5.9	Valores de turbidez da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	82
Figura 5.10	Valores de coliformes termotolerantes nas águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	84
Figura 5.11	Composição granulométrica dos pontos amostrais no período de elevada precipitação, mês de fevereiro de 2008	91
Figura 5.12	Composição granulométrica dos pontos amostrais no período de estiagem, mês de março de 2008	92

Figura 5.13	Matéria orgânica no sedimento do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	93
Figura 5.14	Concentração de fósforo no sedimento do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08..	94
Figura 5.15	Resultados dos ensaios de toxicidade aguda do sedimento total com <i>D. similis</i> , ribeirão Limeira set/07 a jul/08	106
Figura 5.16	Ensaio de toxicidade aguda do elutriado com <i>C. silvestrii</i> no ribeirão Limeira de nov/07 a jul/08	109
Figura 5.17	Resultados dos ensaios de toxicidade aguda no sedimento com <i>C. xanthus</i> no ribeirão Limeira em nov/07	110
Figura 5.18	Ensaio de toxicidade crônica do sedimento com <i>C. xanthus</i> no ribeirão Limeira de fev/08 a jul/08	110
Figura 5.19	Dendograma de análise de agrupamento com base nos valores de PCA. Dissimilaridade definida pela Distância Euclidiana e pela combinação de agrupamento, baseada no método <i>Ward</i>	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Índices aplicados nas classificações de ambientes aquáticos no Estado de São Paulo (CETESB, 2009).....	31
Tabela 2.2	Normas referentes aos testes de toxicidade padronizados por órgãos brasileiros, ABNT e CETESB	37
Tabela 4.1	Variáveis e métodos utilizados na caracterização da qualidade da água e do sedimento do ribeirão Limeira	49
Tabela 4.2	Tamanho da malha das peneiras utilizadas para a análise granulométrica	54
Tabela 4.3	Variáveis, métodos e referências utilizados na caracterização da qualidade da água e do sedimento do ribeirão Limeira durante o ensaio <i>in situ</i>	55
Tabela 4.4	Composição e preparo do meio L.C.Oligo.....	57
Tabela 4.5	Classificação do Estado Trófico para rios segundo Índice de Carlson Modificado e a ponderação	69
Tabela 4.6	Parâmetros componentes do IPMCA e suas ponderações, de acordo com os três níveis de qualidade	70
Tabela 4.7	Categorias do IPMCA e suas ponderações	71
Tabela 4.8	Valores de classificação da categoria e ponderação do IVA	72
Tabela 5.1	Valores de parâmetros conforme classificação do CONAMA 357/05 para águas de Classe I e II	77
Tabela 5.2	Valores da demanda química de oxigênio (DQO) expressos em mg.L ⁻¹ nas águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	85
Tabela 5.3	Variação mínima e máxima (faixa), média e desvio padrão das variáveis físico-químicas da água nos pontos amostrados (P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6) no ribeirão Limeira, período de setembro de 2007 a julho de 2008	87
Tabela 5.4	Limites para valores de metais na água segundo o CONAMA 357/05 Classe I e II.....	88
Tabela 5.5	Valores de metais (expressos em mg/L) encontrados na água do ribeirão Limeira no período de set/07 a jul/08	89
Tabela 5.6	Valores de referência de metais totais para o sedimento TEL (Threshold Effect Level), PEL (Probable Effect Level) e Thomas (1987)	95
Tabela 5.7	Valores de metais totais (expressos em mg/Kg) encontrados no sedimento do ribeirão Limeira no período de set/07 a jul/08.....	97
Tabela 5.8	Porcentagem de metais biodisponíveis em relação à concentração de metais totais no sedimento do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08)	100
Tabela 5.9	Ensaio de toxicidade aguda da água com <i>D. similis</i> no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	101
Tabela 5.10	Resultados dos ensaios de toxicidade com amostras de água com <i>C. silvestrii</i> no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	103
Tabela 5.11	Valores de CI ₅₀ (% , 96h) dos ensaios de toxicidade crônica com amostras de água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08 para <i>P. subcaptata</i>	103
Tabela 5.12	Ensaio de toxicidade aguda do sedimento com <i>D. similis</i> no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08	105
Tabela 5.13	Ensaio de toxicidade crônica do sedimento total com <i>C. silvestrii</i> no ribeirão	

	Limeira de set/07 a fev/08	107
Tabela 5.14	Resultado dos ensaios de toxicidade (agudos e crônicos) realizados na água e no sedimento do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08).....	112
Tabela 5.15	Resultados do IVA para o ribeirão Limeira, referente ao período de set/07 a jul/08	113
Tabela 5.16	Autovalores, proporção e cumulativa dos autovalores para as 22 variáveis da PCA	115
Tabela 5.17	Resumo dos oito (8) componentes principais, as variáveis físico-químicas e processos dominantes que podem interferir nas águas superficiais.....	116
Tabela 5.18	Médias geradas para cada ponto amostral através das 42 observações.....	116
Tabela 5.19	Matriz de dissimilaridade definida pela distância Euclidiana	117
Tabela 5.20	Parâmetros físicos e químicos da água, amostragem de agosto de 2010, ensaios <i>in situ</i>	119
Tabela 5.21	Valores dos íons analisados no sedimento, amostragem agosto de 2010, ensaios <i>in situ</i>	119
Tabela 5.22	Resultados de matéria orgânica, fósforo total e granulometria do sedimento dos pontos A, AFL, B e P4, agosto de 2010.....	120
Tabela 5.23	Valores dos íons analisados no sedimento, amostragem agosto de 2010, ensaios <i>in situ</i>	120
Tabela 5.24	Ensaio de toxicidade <i>in situ</i> no ribeirão Limeira e em laboratório com amostras de água e sedimento.	121

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	21
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1	Qualidade do ambiente aquático	24
2.2	Avaliação limnológica de ambientes lóticos	28
2.3	Sedimento	33
2.4	Toxicidade aquática	35
2.5	Bioensaios <i>in situ</i>	40
3.	OBJETIVOS	43
4.	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	Caracterização da área de estudo: bacia hidrográfica do ribeirão Limeira	44
4.1.1	Pontos amostrais	45
4.2	Amostragens da água e do sedimento	47
4.3	Análises físicas, químicas e biológicas das amostras de água	48
4.3.1	Oxigênio dissolvido (Método Winkler)	49
4.3.2	Demanda Química de Oxigênio (DQO) (baixo teor - Método Hach adaptado)	50
4.3.3	Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO _{5,20}) (baixo teor)	50
4.3.4	Nitrato (NO ₃ ⁻)	50
4.3.5	Nitrito (Método da sulfanilamida e N-(1-Naftil) Etilenodiamia)	51
4.3.6	Fósforo total (Método do ácido ascórbico)	51
4.3.7	Dureza	51
4.3.8	Metais	52
4.3.9	Determinação da turbidez	52
4.3.10	Coliformes termotolerantes	53
4.4	Análises físicas e químicas do sedimento	53
4.4.1	Matéria orgânica (MO)	53
4.4.2	Fósforo total	53
4.4.3	Granulometria	54
4.4.4	Metais no sedimento	54
4.4.4.1	Metais totais	55
4.4.4.2	Metais biodisponíveis	55
4.5	Análises físico-químicas dos ensaios <i>in situ</i>	55
4.5.1	Determinação de íons	56
4.6	Ensaio ecotoxicológicos	56
4.6.1	Manutenção e cultivo dos organismos	56
4.6.1.1	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	57

4.6.1.2	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	58
4.6.1.3	<i>Daphnia similis</i>	58
4.6.1.4	<i>Chironomus xanthus</i>	59
4.6.2	Testes de sensibilidade com os organismos-teste	61
4.6.2.1	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	61
4.6.2.2	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	61
4.6.2.3	<i>Daphnia similis</i>	61
4.6.2.4	<i>Chironomus xanthus</i>	62
4.7	Determinação da Toxicidade em amostras de água	62
4.7.1	Ensaio de toxicidade crônica com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	62
4.7.2	Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis claus</i>	63
4.7.3	Ensaio de toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	63
4.8	Determinação da toxicidade do sedimento.....	64
4.8.1	Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis claus</i>	64
4.8.2	Ensaio de toxicidade crônica com <i>Chironomus xanthus</i>	64
4.8.3	Ensaio de toxicidade aguda com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	65
4.9	Ensaio ecotoxicológicos <i>in situ</i>	65
4.9.1	Câmaras para os ensaios <i>in situ</i>	66
4.10	Metodologia de análise dos dados	69
4.10.1	Aplicação do índice de estado trófico (IET)	69
4.10.2	Aplicação de proteção de vida aquática (IVA)	70
4.10.3	Análise dos ensaios ecotoxicológicos	72
4.10.3.1	Testes de sensibilidade	72
4.10.3.2	Cálculo da toxicidade aguda	72
4.10.3.3	Cálculo da toxicidade crônica	73
4.10.4	Análise estatística	73
4.10.4.1	Análise de agrupamento – <i>cluster</i> (CA)	73
4.10.4.2	Análise dos componentes principais (PCA)	74
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1	Parâmetros físicos e químicos da água do ribeirão Limeira	77
5.2	Metais na água do ribeirão Limeira	88
5.3	Parâmetros físicos e químicos do sedimento	90
5.3.1	Metais no sedimento do ribeirão Limeira	94
5.4	Ensaio de toxicidade do ribeirão Limeira	101
5.4.1	Toxicidade da água	101
5.4.2	Toxicidade do sedimento	105
5.5	Análise dos dados	112

5.5.1	Índice de estado trófico (IET) e do índice de proteção de vida aquática (IVA)	112
5.5.2	Análise de agrupamento (CA) e Análise de Componentes Principais (PCA)...	114
5.6	Bioensaios <i>in situ</i>	118
6	CONCLUSÕES	123
	RECOMENDAÇÕES	124
	REFERÊNCIAS	125
	ANEXO A	137
	ANEXO B	141

1. INTRODUÇÃO

Globalmente, os problemas com a qualidade e quantidade da água têm se tornado ainda mais sérios, em função principalmente do aumento populacional e crescimento industrial, gerando como consequência uma crescente produção e liberação de substâncias químicas indesejáveis ao meio ambiente. No entanto o mundo não está ficando sem água, mas muitos milhões de pessoas mais vulneráveis vivem em regiões sujeitas a uma crescente pressão sobre os recursos hídricos, como bacias fluviais em que a utilização da água ultrapassa as taxas de recarga. A água sustenta os sistemas ecológicos e contribui para os sistemas de produção que mantêm os meios de subsistência, estando presente em todos os aspectos do desenvolvimento humano (PNUD, 2006).

A situação delicada em que se encontra o planeta Terra em relação à água nos leva a tomar atitudes mais severas quando se diz respeito à qualidade desse bem, seja através de novas técnicas, que estão sendo desenvolvidas para tratamento de efluentes, rios e reservatórios degradados; de metodologias mais eficientes de avaliação dos ambientes aquáticos; e, de elaboração e revisão de Leis.

Avaliações de ambientes lóticos são utilizadas para verificar a real situação que se encontram as bacias hidrográficas de diversas regiões e os reais impactos causados por efluentes, uso e ocupação da área de drenagem da bacia, estado de conservação das áreas de proteção dos rios e suas nascentes.

Com relação a essas avaliações, os ensaios ecotoxicológicos representam um dos avanços na proteção, recuperação e monitoramento de mananciais. Tais avaliações, foram adotadas como medidas legais por vários países, no Brasil, somente em 2005, foi sancionada uma Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente, revogando a resolução anterior de 1986 e, a partir de então, contemplando análises ecotoxicológicas para diferentes classes de uso da água.

Os ensaios ecotoxicológicos são realizados com diversos organismos: produtores primários como algas e plantas aquáticas; consumidores como rotíferos, ciliados, microcrustáceos e peixes; organismos bentônicos como quironomídeos e oligoquetas; e também bactérias, obtendo-se respostas de aspectos ligados à biologia dos organismos frente à exposição aos compostos tóxicos e outras amostras ambientais. Atualmente, ensaios ecotoxicológicos *in situ* são realizados principalmente nos Estados Unidos, Europa e Brasil. O maior desafio até o momento é reduzir os custos desses ensaios, adequar ao uso de outros organismos e aprimorar a técnica reduzindo interferências de predadores.

Assim, para uma caracterização limnológica e ecotoxicológica de um ambiente aquático, devem-se abordar as tradicionais análises físico-químicas juntamente com ensaios ecotoxicológicos laboratoriais e *in situ*, favorecendo uma visão mais abrangente dos fatores que envolvem os problemas de contaminação e poluição dos corpos hídricos, que interferem tanto no equilíbrio do ecossistema como no bem-estar humano.

O presente estudo se refere à avaliação limnológica e ecotoxicológica do ribeirão Limeira, afluente da margem esquerda do rio Paraíba do Sul, que tem sua nascente e foz nos municípios de Piquete e Lorena (SP), respectivamente.

Este trabalho é parte do Projeto Auxílio à Pesquisa CNPq/CT-Hidro/CT-Agronegócio 05/2006 Proc.500172/2006-4, intitulado “Diagnóstico e Monitoramento Ecotoxicológico do ribeirão Limeira: ações estruturadoras voltadas à proteção e recuperação da microbacia em área urbana e peri-urbana”. Segundo Paiva (2009), o impacto antropogênico na área objeto desse estudo, resultou na perda da cobertura vegetal primitiva. Historicamente, foram diferentes os ciclos econômicos implantados nessa bacia hidrográfica: cana-de-açúcar, café e gado. Por toda a bacia observa-se a inadequada utilização das terras, com problemas decorrentes do acentuado processo de desmatamento e eliminação de matas ciliares. Há predominância de pastagens, com culturas de subsistência: milho, feijão, mandioca e cana-de-açúcar. De forma geral, a pecuária bovina, com técnica extensiva, prevalece sobre a lavoura, sendo que a maior parte das terras é degradada e improdutiva. Algumas áreas são ocupadas pela monocultura do eucalipto, cuja plantação em expansão aproxima-se das margens do ribeirão Limeira.

Ao longo do ribeirão Limeira situam-se pequenas propriedades rurais, não havendo tratamento de esgoto na região, sendo comum o uso de fossas e o lançamento direto dos efluentes domésticos e de origem agropecuária diretamente no ribeirão. Nessa bacia hidrográfica existem ainda três empresas químicas, duas voltadas para a fabricação de explosivos e uma de abrasivos.

No que se refere à este ambiente, ensaios ecotoxicológicos, esta tese de doutorado contribuiu para o conhecimento da qualidade do ribeirão Limeira através da aplicação de ensaios ecotoxicológicos e aprimoramento de bioensaios *in situ*. A utilização de ferramentas como análise estatística para interpretação dos dados; realização de ensaios *in situ* e integração das informações desses ensaios com os ensaios laboratoriais; e a avaliação do real papel de testes laboratoriais em estudos de ecotoxicidade em programas de monitoramento e avaliação ambiental; favoreceram o aprimoramento e o desenvolvimento de técnicas de monitoramento para ambientes aquáticos, contribuindo para a melhoria dos

serviços de fiscalização e controle dos órgãos competentes, dando respaldo à formulação de novas diretrizes legais, amparando a legislação e as tomadas de decisão de forma mais eficaz.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Qualidade do ambiente aquático

O crescimento populacional, a urbanização, o desenvolvimento industrial e as necessidades da agricultura aumentam a demanda pelo uso da água. A utilização excessiva tem causado a diminuição dos lençóis freáticos, redução do volume de água dos rios e os ecossistemas que têm por base a água estão rapidamente sendo degradados. A contaminação da água potável, por descartes indevidos de resíduos perigosos e destruição da fauna causada pela poluição, também são destacados quando se trata de problemas relacionados à qualidade da água. Essa problemática constitui um dos maiores desafios da humanidade relativos à utilização racional da água e à conservação dos mananciais (MANAHAN, 2000; PNUD, 2006).

É crescente o interesse da sociedade pelo controle da poluição das águas, principalmente os despejos que contaminam os corpos hídricos. As indústrias brasileiras vêm reduzindo a geração de efluentes, em função da melhoria dos processos produtivos, visto que passam a tratar os efluentes para reuso da água nos processos industriais.

Algumas das diversas causas dos impactos gerados pelo homem nos sistemas aquáticos continentais brasileiros são: desmatamento, mineração, urbanização, descarte de esgotos, descarga de efluentes industriais e agrícolas e disposição inadequada de resíduos sólidos nas bacias hidrográficas. Esses impactos, juntamente com o aumento da exploração dos recursos hídricos, são responsáveis por grande parte da carga de poluição dos ambientes aquáticos, resultando na degradação da qualidade da água, habitat físico e integridade biológica do sistema lótico (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008).

As fontes de poluição da água são divididas em duas categorias principais, as que são mais facilmente identificáveis no espaço e no tempo, chamadas de fontes pontuais, como os efluentes industriais e domésticos. E as fontes não-pontuais de poluição, provenientes de áreas mais amplas e relativamente difíceis de identificar e monitorar, como exemplo os solos de uso agropecuário em que são aplicados fertilizantes e defensivos agrícolas (MANAHAN, 2000; MOZETO; ZAGATTO, 2006).

Dessa forma, a contextualização dos conceitos de poluição e contaminação são importantes e, conforme Lenzi (2009), Manahan (2000), Mozeto e Zagatto (2006), podem ser definidos como:

- Poluição - entrada de agentes no ambiente (matéria e/ou energia), que possam causar alterações adversas aos ecossistemas ou à saúde humana. Os

poluentes podem ser de origem natural e não apenas proveniente de ação antrópica.

- Contaminação - entrada de substância(s), orgânica ou inorgânica, ou organismos patogênicos, em um sistema que naturalmente é isento deles, ou os contém em quantidades menores que aquelas inseridas. Sendo consideradas contaminantes as referidas substâncias, em estado sólido líquido ou gasoso, e que são incorporadas aos ecossistemas aquáticos e terrestres. No entanto, se estas substâncias não alterarem as relações ecológicas ali existentes ao longo do tempo, esta contaminação não caracteriza poluição.

Dada a necessidade de regulamentar as questões relativas aos problemas de poluição ambiental, o Estado de São Paulo, em sua Lei nº 997/76, dispõe sobre a prevenção e controle da poluição que é entendida como:

“a presença, o lançamento ou a liberação, nas águas, no ar ou no solo, de toda e qualquer forma de matéria ou energia, com intensidade, em quantidade, de concentração ou com características em desacordo com as que forem estabelecidas em decorrência desta Lei ou que tornem ou possam tornar as águas, o ar ou o solo: impróprios, nocivos ou ofensivos à saúde; inconvenientes ao bem-estar público; danosos aos materiais, à fauna e à flora; prejudiciais à segurança, ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade”.

Até meados da década de 1980, somente monitoramento químico era utilizado no controle de poluentes em efluentes líquidos e corpos hídricos. A Resolução CONAMA 20/86, que vigorou no período de 1986 a 2005, contemplava a classificação dos corpos de água, diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelecia as condições e padrões de lançamento de efluentes por meio do monitoramento dos parâmetros físico-químicos. Essa Resolução se tornou obsoleta e foi revogada pela Resolução CONAMA 357/05, a qual cobriu falhas da anterior e acrescentou o monitoramento ecotoxicológico. Percebeu-se que apenas o monitoramento dos parâmetros físicos-químicos não era garantia de adequação dos efluentes aos padrões de lançamento e da não ocorrência de impacto no corpo receptor. Em função disso, os órgãos ambientais têm exigido a adequação dos parâmetros que, eventualmente, não atendam à legislação vigente.

Um dos acréscimos que constam na Resolução CONAMA 357/05 está relacionado aos efeitos tóxicos causados à biota aquática pelos efluentes ou despejos nos corpos d'água. No Capítulo III dessa Resolução, Seção I e II, está explícito:

“As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.”

E ainda, as águas superficiais doces classificadas em Classe I e II não podem apresentar efeitos tóxicos crônicos, e para águas de Classe III o efeito tóxico agudo deve ser ausente. Essa Resolução descreve também com relação a efeitos tóxicos, as condições e padrões de emissões dos efluentes nos corpos d'água no Artigo 34, § 1º e 2º:

“§ 1º O efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

§ 2º Os critérios de toxicidade previstos no § 1º devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos, e realizados no efluente. ”

Os efeitos da poluição podem ser verificados, além de alterações dos parâmetros físicos e químicos da água (KÜHL et al., 2010; MARQUES et al., 2003), pelas características e dinâmica das populações (reprodução, migração, restabelecimento, morbidade e mortalidade), estrutura e função das comunidades (alteração na diversidade de espécies, modificações na relação predador-presa) (BARGHIGIANI et al., 2001; KANGUR et al., 2007; MADONI, 2005) e pela função do ecossistema, quando se verifica alterações nos processos de respiração e fotossíntese e no fluxo de nutrientes (MITCHELL et al., 2007; MORETTO; NOGUEIRA, 2003).

Diversos estudos demonstraram que os ensaios de toxicidade são ferramentas imprescindíveis para a avaliação do ambiente, uma vez que somente as análises físico-químicas, tradicionalmente realizadas, não eram capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial risco ambiental dos contaminantes. Contudo, os ensaios

ecotoxicológicos não substituem as análises químicas tradicionais. Enquanto as análises químicas identificam e quantificam as concentrações de substâncias químicas, os testes de toxicidade avaliam o efeito de tais substâncias sobre sistemas biológicos (BUIKEMA JR. et al., 1989; COSTA et al., 2008; LANNO, 1997; MINAGH et al. 2009; WORBOYS et al., 2002).

As análises de qualidade da água são, portanto, utilizadas como indicadores das condições do sistema aquático, avaliando o estado de poluição, degradação ou conservação de lagos, represas, estuários, áreas alagadas e rios. Para cada tipo de uso, do ponto de vista legal, são estabelecidas condições de qualidade (parâmetros descritivos como toxicidade, resíduos, óleos e graxas e/ou com valor em faixas, concentração como pH, DBO, OD) e padrões de qualidade (concentração máxima permissível de substâncias orgânicas, metais, densidade e de clorofila) (CETESB, 2008).

Outro compartimento do ecossistema aquático que indica a qualidade desse ambiente são os sedimentos, os quais são considerados reservatórios naturais de detritos físicos, biológicos e de uma ampla variedade de compostos químicos, servindo como fonte de materiais orgânicos e inorgânicos, onde ocorrem processos de ciclagem de matéria orgânica e de importantes elementos (por exemplo N, P e S), influenciando assim todo o metabolismo do sistema (BURTON JR. et al., 2002; ESTEVES, 1998).

Em alguns casos, o sedimento representa uma fonte poluidora não-pontual para os ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1998; SIQUEIRA, 2003). Muitas das substâncias que podem se acumular nesse compartimento são de origem antropogênicas e consideradas potencialmente poluidoras, como por exemplo, pesticidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), organoclorados e metais (BURTON JR. et al., 2002; MANAHAN, 2000).

Quando contaminados, os sedimentos podem afetar negativamente um ecossistema. A contaminação pode ser evidente, mais discreta ou desconhecida. Por exemplo, a comunidade de invertebrados bentônicos pode ser totalmente perdida ou deixar de serem espécies sensíveis à poluição e se tornarem tolerantes (BURTON JR. et al., 2002). Os efeitos deletérios provocados pela ação dos contaminantes nos organismos podem se propagar pelos demais componentes do ecossistema (LEBLANC, 2004). Por conta disso, é importante também o estudo do sedimento para se obter uma melhor avaliação da composição, contaminação e impacto no ecossistema aquático.

2.2 Avaliação limnológica de ambientes lóticos

Diversas mudanças do ambiente aquático provêm da intervenção direta do homem, como é o caso das barragens, reservatórios e canais, inadequada ocupação de áreas para construções, utilização da terra para cultura e retirada de vegetação ciliar.

As alterações de uso do solo, em especial nas áreas com atividades agrícolas, podem ser fontes de contaminantes para o ambiente aquático, em especial nas áreas com atividades agrícolas, através da lixiviação no solo de quantidades de defensivos organoclorados, organofosforados, carbamatos e de muitos outros defensivos agrícolas, abrangendo os herbicidas, inseticidas e fungicidas que são conhecidos por sua alta toxicidade (BARBOSA, 1995; PEDLOWSKI, 2006; PRIMEL et al., 2005), além do excesso de nutrientes que também estão presentes nos solos de áreas agrícolas, devido à aplicação de fertilizantes (BARBOSA, 1995).

Trabalhos de avaliação da qualidade ambiental e da água dos rios são realizados em diversos países (BARGHIGIANI et al., 2001; BHAKDISONGKHRAM, 2007; MOSKOVCHENKO et al., 2009, ZHANG, 2009). No Brasil, bacias hidrográficas importantes vêm sendo estudadas e caracterizadas quanto à qualidade da água e aos impactos que recebem (BERE, 2010; CARMO et al., 2005; CALIJURI et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2009; LINDE-ARIAS et al., 2008; TERRA et al., 2008).

Salomoni e colaboradores (2007) caracterizaram limnologicamente o rio Gravataí, cidade Rio Grande do Sul - RS, no período de setembro de 2000 a agosto de 2002. Este rio apresentou duas porções distintas: a primeira mais preservada, e a outra, no trecho inferior do rio, impactada devido à entrada de despejos orgânicos de origem antropogênica. Quando comparado aos anos anteriores (LEITE, 1994 *apud* SALOMONI, 2007), os autores verificaram a ocorrência de mudanças na última década neste rio sendo caracterizadas como um acelerado processo de eutrofização.

Estudos sobre a geoquímica das águas da Bacia Hidrográfica do rio Descoberto, Brasília – DF revelaram alcalinidade, concentrações de fosfato e amônia acima da média em relação aos outros estudos em ambientes aquáticos no Distrito Federal, indicando a influência de despejos domésticos. Carmo e colaboradores (2005) atribuíram a variação na concentração de alguns parâmetros físico-químicos e elementos-traço registradas (principalmente em áreas agrícolas e urbanas) às mudanças climáticas. Esses autores alertam para uma deterioração progressiva devido ao aumento de descarga de poluentes, resultantes do crescimento da população, atividades agrícolas e outros fatores, comprometendo a qualidade do manancial.

Esses trabalhos indicam a degradação da qualidade da água, do habitat físico e da integridade biológica do sistema lótico, os quais são causados por fontes de poluição como os efluentes industriais e domésticos, alterando consideravelmente a qualidade da água nas regiões mais povoadas e industrializadas.

Efluentes domésticos lançados aos corpos d'água, devido ao aumento de descarga de poluentes, resultantes do crescimento da população, atividades agrícolas e outros fatores, alteram ambientes lóticos também em áreas de Cerrado no Brasil (CARMO et al., 2005). Os efluentes domésticos são conhecidos por apresentar altos valores de DBO, carbono orgânico dissolvido, condutividade, turbidez, altas cargas orgânicas, amônia, nitrito, nitrato, fósforo e microrganismos patogênicos (GHOUALEM; KHOUIDER, 2008; SILVA; JARDIM, 2007). Enquanto os efluentes industriais, geralmente, contêm altas concentrações de sólidos em suspensão, compostos nitrogenados, alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), fenóis, sulfatos, cloretos, organoclorados, metais, derivados do petróleo e interferentes endócrinos (BARBOSA, 1995; BARRETO-RODRIGUES, 2007; GHISELLI; JARDIM, 2007; WILKE et al., 2008).

Tendo em vista os impactos causados nos ambientes aquáticos que, geralmente, são o destino final dos poluentes e dos efluentes (tratados ou não), diversas técnicas estão sendo desenvolvidas e aplicadas a fim de reduzir os impactos sobre os cursos d'água, através de tratamentos mais eficientes de efluentes (BARGHIGIANI et al., 2001; BHAKDISONGKHRAM, 2007; MOSKOVCHENKO et al., 2009, SALOMONI et al., 2007; ZHANG, 2009).

Estudos recentes também têm demonstrado que além das interferências causadas pelo homem, variações climáticas influenciam de forma significativa os ecossistemas aquáticos tropicais. Carneiro e colaboradores (2009) demonstraram através de um estudo da sincronia espacial das variáveis limnológicas realizado no rio Meia Ponte, em Goiás, que, além da intervenção humana, os parâmetros físicos e químicos dos ecossistemas são influenciados pelas variações climáticas e sazonalidade de forma diferente a cada ano. Os autores relataram que o período chuvoso demonstrou forte influência sobre a distribuição da matéria orgânica, cor, turbidez e temperatura da água devido à desestabilização do sistema pelo aumento no volume de água e velocidade durante a estação chuvosa, e consequentemente um aumento nos valores de sincronia entre os pontos. Estes resultados sugerem que o sistema aquático apresentou uma resposta semelhante à um amplo conjunto de alterações climáticas ou a deposição atmosférica. Em uma escala macro, o padrão

regular, caracterizado por variáveis ambientais poderia ter o poder preditivo para outros ecossistemas.

Já as projeções do modelo elaborado por Hamilton (2010) sugerem que futuras alterações substanciais do clima irão afetar as complexas interações que controlam os balanços hídricos, descargas fluviais e os processos biogeoquímicos. Segundo o autor, as mudanças mais importantes provavelmente envolverão: (1) regimes térmicos aquáticos, com implicações para plantas e animais, taxas de transformações microbiana, estratificação de densidade dos corpos d'água e depleção de oxigênio dissolvido; (2) descarga de regimes hidrológicos e de inundação de várzeas, que determinam a estrutura e funções ecológicas dos rios e planícies aluviais e da extensão e sazonalidade dos ambientes aquáticos, e (3) gradientes de água doce às águas do mar, afetando os processos biogeoquímicos dos ambientes marinhos, estuarinos e da zona costeira.

Para avaliar os ambientes lóticos em relação ao impacto e poluição gerados por atividades antrópicas, às mudanças climáticas e até mesmo aos processos naturais, são utilizados índices para integrar os parâmetros em um único número, combinando as diferentes unidades de medida. Este índice, de certa forma, facilita a comunicação da qualidade de um determinado corpo hídrico aos atores institucionais de uma bacia hidrográfica, sejam eles a população, as prefeituras, os órgãos de controle ambiental, os comitês das bacias hidrográficas, as organizações não-governamentais, entre outros, colaborando com a construção de um sistema de suporte à tomada de decisão em uma bacia hidrográfica (CETESB, 2003; LERMONTOV et al., 2009).

Um dos índices mais utilizados é o IQA (Índice de Qualidade de Água), voltado à qualidade da água para fins de abastecimento público. É calculado pelo produto ponderado da qualidade de água correspondente aos parâmetros: temperatura da amostra, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio (5 dias, 20°C), coliformes termotolerantes, nitrogênio total, fósforo total, resíduo total e turbidez. Foi o primeiro índice utilizado no Brasil, lançado no ano de 1975 (CETESB, 2003).

A partir de 2002, a CETESB (Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo) passou a publicar em seus relatórios outros índices (Tabela 2.1), como por exemplo, o Índice de Qualidade das Águas para Proteção da Vida Aquática (IVA) (CETESB, 2008). Tal índice é ferramenta que integra ensaios ecotoxicológicos com parâmetros físico-químicos, capazes de fornecer informações que contribuam para preservação da vida aquática. Com o intuito de fornecer uma informação de fácil compreensão para o público, essa Companhia utiliza, desde 2002, outros índices específicos, que refletem a qualidade

das águas para diversos usos, como por exemplo, o IAP – índice de qualidade das águas para fins de abastecimento público; o IET – índice do estado trófico.

Tabela 2.1 – Índices aplicados nas classificações de ambientes aquáticos no Estado de São Paulo (CETESB, 2009).

Índice de qualidade	Variáveis de qualidade
IQA	Temperatura, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio, coliformes termotolerantes, nitrogênio total, fósforo total, resíduos totais e turbidez.
IAP	Temperatura, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio, coliformes termotolerantes, nitrogênio total, fósforo total, resíduos totais e turbidez, ferro dissolvido, manganês, alumínio dissolvido, cobre dissolvido, zinco, potencial de formação de trihalometanos, número de células de cianobactérias, cádmio, chumbo, cromo total, mercúrio e níquel.
IET	Clorofila a e fósforo total.
IVA	Oxigênio dissolvido, pH, toxicidade, cobre, zinco, chumbo, cromo, mercúrio, níquel, cádmio, surfactantes, fenóis, clorofila a e fósforo total.
CQS	Valores de TEL, PEL, toxicidade comunidade bentônica

TEL - *Threshold Effect Level* - baixa probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à vida aquática.

PEL - *Probable Effect Level* - alta probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à vida aquática.

Em 2008 foi implantado na rede de monitoramento da CETESB o critério de avaliação da qualidade dos sedimentos (CQS), que leva em consideração a concentração de substâncias químicas, ecotoxicidade, mutagenicidade e comunidade bentônica. A Figura 2.1 apresenta, resumidamente, os elementos que compõem a caracterização do CQS (CETESB, 2009).

Figura 2.1 - Resumo dos elementos que compõem o CQS.

A formulação de um IQA pode ser simplificada se considerar apenas as variáveis determinadas como críticas para um determinado corpo d'água. Os índices são considerados mais confiáveis do que as variáveis isoladas. Um problema com o processo de indexação é a possibilidade de que alguns parâmetros tenham influência desproporcional sobre o resultado final, produzindo um índice distorcido (SILVA; JARDIM, 2006).

Técnicas de análise estatística multivariada foram aplicadas sobre resultados de parâmetros obtidos quanto a variações espaciais e temporais da qualidade da água, os quais resultaram em numerosas e complexas informações, gerando uma matriz de dados composta por um grande número de parâmetros físicos e químicos, muitas vezes de difícil interpretação e poucas conclusões significativas (BERGQUIST et al., 2009; CHANG, 2008; JAMES et al., 2009; SZYMANOWSKA et al., 1999).

A aplicação de diferentes análises multivariadas, tais como análise de cluster (CA), análise de componentes principais (PCA), análise de fator (FA) e a análise discriminatória (DA), ajudam na interpretação das matrizes de dados complexos para uma melhor compreensão da qualidade da água e dados ecológicos de diversos ambientes (BERGQUIST et al., 2009; CHANG, 2008; KAZI, 2009). Essas técnicas auxiliam a identificação de possíveis fontes de contaminação do sistema e oferecem uma ferramenta valiosa para o gerenciamento de recursos hídricos, bem como uma possível solução para problemas de poluição (KAZI, 2009; REGHUNATH et al., 2002; SIMEONOV et al., 2004).

Incertezas e subjetividades dos problemas ambientais têm sido cada vez mais tratados por métodos de cálculo baseados em índices, análises multivariadas e, recentemente, inteligência artificial. Lermontov e colaboradores (2009) propuseram a criação de um novo índice de qualidade da água baseado na lógica *fuzzy*, o índice de qualidade da água *fuzzy* (FWQI). O desempenho do índice proposto foi avaliado por meio de uma comparação com vários índices de qualidade de água (IQA), sugeridos na literatura, usando dados de levantamentos hidrográficos do rio Ribeira de Iguape, localizado na parte sudoeste do Estado de São Paulo (período de 2004-2006). Os primeiros resultados foram promissores. Esse novo índice apresentou boa correlação com o IQA tradicionalmente calculado. No entanto, essa metodologia ainda está em desenvolvimento, de forma que seja possível inserir outros parâmetros como metais tóxicos e também parâmetros relacionados ao sedimento, para uma avaliação mais realista dos corpos

hídricos e, futuramente, comparar com outros estudos em diferentes tipos de bacias hidrográficas.

2.3 Sedimento

O sedimento pode ser considerado o compartimento resultante da integração de todos os processos que ocorrem em um ecossistema aquático. Do ponto de vista de ciclagem de matéria e fluxo de energia, o sedimento é um dos compartimentos mais importantes dos ecossistemas aquáticos continentais (ESTEVEZ, 1998). Devido à importância na dinâmica do ecossistema aquático, além da qualidade da água, torna-se necessária a avaliação da qualidade do sedimento de forma abrangente, através de análises físicas, químicas e toxicológicas, para que forneçam dados sobre o grau de contaminação e os possíveis efeitos na biota (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

A concentração, o transporte, a transformação e a disposição final de um dado contaminante introduzido no ambiente aquático dependem, principalmente, das propriedades do ambiente e das características do contaminante (RAND et al, 1995). As propriedades do sedimento são influenciadas e variam muito em função do local, formação rochosa da região, uso e ocupação do solo, eventual presença de indústrias na bacia de drenagem, dentre outros fatores. Essas características do ambiente influenciam na relação entre a composição mineral e concentração da matéria orgânica no sedimento (ARAÚJO et al., 2006; BAIRD, 2007). Sua composição é tipicamente uma mistura de partículas de argila, areia, sais minerais e matéria orgânica, que exerce grande influência no destino final dos contaminantes, pois estes podem se associar às partículas, sofrer transformações (originando formas mais ou menos tóxicas), migrar do sedimento para os organismos bentônicos ou para a coluna d'água (ARAÚJO et al., 2006). Os contaminantes no sedimento são geralmente liberados do leito do sedimento devido a alterações nas condições ambientais e físico-químicas (pH, potencial redox, ação microbiana, dentre outras), podendo contaminar o meio hídrico e outros sistemas ambientais, afetando a qualidade da água e levando à bioacumulação através da transferência na cadeia trófica (FROEHNER, 2008).

Uma vez no ambiente, esses contaminantes estão sujeitos a uma combinação de processos que podem afetar seu destino e comportamento (HOLT, 2000; SHEA, 2004). Esses processos podem ser: sedimentação; precipitação, complexação e bioacumulação, os quais, por sua vez, são influenciados por inundação, fluxo, manipulação ou carreamento pluvial (DELISTRATY, 2007).

Muitos contaminantes são relativamente insolúveis em água e são conhecidos por adsorver a partículas orgânicas em suspensão e, geralmente, acabam se depositando no sedimento de fundo. A matéria orgânica ocupa um pequeno volume, mas é um importante componente do sedimento, pois regula a sorção e biodisponibilidade de diversos contaminantes (POWER; CHAPMAN, 1992).

Del Grande e colaboradores (2003) destacam que vários fatores que regem a distribuição e o comportamento de compostos orgânicos no ambiente aquático estão diretamente relacionados à matéria orgânica (MO) e ácidos húmicos (AH) nos sedimentos. Esse estudo foi realizado na bacia hidrográfica do rio Piracicaba, em Limeira – SP, onde foram contemplados a represa do Tatu e os rios Jaguari, Piracicaba e Atibaia. Na represa do Tatu o sedimento se mostrou com as maiores porcentagens de MO e AH e, características argilosas quando comparadas aos rios Jaguari, Piracicaba e Atibaia, onde o sedimento apresentou maiores quantidades de areia do que argila e menores quantidades de MO e AH. Isso é indicativo de que as próprias características geológicas e sedimentares, juntamente com correntes de água e processos climatológicos, interferem nas características físicas e químicas dos sedimentos, dificultando as interações e interferindo nos processos de sedimentação de xenobióticos. Em represas ou lagoas a sedimentação é mais efetiva do que em rios, onde os sedimentos são constantemente “lavados” e o processo de sedimentação é menor.

Outro fator que influencia o acúmulo ou não de substâncias orgânicas e metais no sedimento é a sua característica granulométrica. Esta é uma variável importante para os sistemas aquáticos, sedimentos com frações grosseiras conferem característica típica de substrato arenoso, enquanto substratos argilosos apresentam frações finas. Essas características irão determinar os padrões e distribuição das comunidades biológicas, além de estarem relacionados com a quantidade de energia do sistema, tipos de uso e ocupação do solo, composição química de substratos e os efeitos diretos e indiretos sobre a fauna bentônica (BARBOSA, 2000; PASCHOAL, 2002).

Os metais depositados no sedimento podem ser adotados como indicadores eficientes de contaminação, mesmo quando mais adsorvidos no sedimento e não prontamente disponíveis para organismos aquáticos. A variação de algumas características físicas e químicas (pH, salinidade, potencial redox e o conteúdo de quelantes de origem biológica) da coluna d'água podem provocar a liberação de metais para a fase aquosa, tornando-os poluentes. Por essas razões, o sedimento se apresenta como uma fonte de poluição por metais (IDRIS, 2008). Alguns metais como Cu, Zn, Cr e Fe, são essenciais

para sistemas biológicos, mas em concentrações mais elevadas do que o necessário podem produzir efeitos tóxicos nos organismos. Metais como, por exemplo, o Hg, que não tem nenhuma função biológica, pode ser altamente tóxico (ALKARKHI et al., 2009; BARGHIGIANI et al., 2001; MOSKOVCHENKO et al., 2009; SHEN, 2007).

Os metais estão envolvidos em diversos processos industriais, agrícolas e em emissão de resíduos de veículos automotores. Metais provenientes de ações antropogênicas podem ser encontrados no ar, água, solo, sedimentos. A ocorrência natural de metais em ambientes aquáticos e sua circulação através do ciclo hidrológico são manifestadas em vários lugares e gera uma complexidade na avaliação da origem desses metais quando encontrados no ambiente (IDRIS, 2008).

A toxicidade desses elementos depende da forma química que assumem no ambiente aquático. Há evidências de que processos capazes de reduzir a concentração dos íons metálicos livres como, por exemplo, reações de complexação, podem diminuir significativamente sua toxicidade (COSTA et al., 2008).

A determinação da concentração de metais presentes no sedimento por meio de análises químicas, pura e simples, oferece pouca informação sobre os possíveis efeitos para as comunidades biológicas, devido aos fatores abióticos e bióticos que interferem na biodisponibilidade dos mesmos. No entanto, a avaliação ecotoxicológica dos sedimentos fornece um indicativo do seu nível de contaminação. A porção biodisponível de um contaminante é a parte dos poluentes químicos disponíveis no ambiente na forma que os organismos têm contato e podem assimilar (SPACIE, 1995). Através de avaliação ecotoxicológica e quantificação dos metais, tanto da água quanto do sedimento, é possível verificar o nível de impacto já ocorrido no ambiente aquático e, desta forma, aplicar medidas de conservação e/ou recuperação do ambiente.

2.4 Toxicidade aquática

Ecotoxicologia é a ciência em que são abordados os efeitos de compostos químicos sobre os ecossistemas e seus componentes não-humanos. Historicamente, a toxicologia tem se concentrado nos efeitos adversos dos xenobióticos sobre os seres humanos e animais domésticos, após exposição direta (FERNICOLA, 2004). Já a toxicologia aquática é o estudo dos efeitos de substâncias químicas naturais e substâncias e/ou atividades de origem antropogênicas, em organismos aquáticos nos seus diversos níveis de organização, desde estruturas celulares até indivíduos, populações, comunidades e ecossistemas (RAND et al., 1995).

O princípio fundamental dos testes de toxicidade é baseado no reconhecimento da resposta dos organismos vivos à presença (exposição) de agentes tóxicos e da concentração (nível de exposição) desses agentes. Usando este princípio, os testes de toxicidade aquática são projetados para descrever uma dose-resposta, descrito através de uma curva de dose-resposta quando o efeito é medido/plotado graficamente com a concentração (ADAMS; ROWLAND, 2003).

Para os ensaios de toxicidade são utilizados organismos sensíveis a uma diversidade de agentes químicos. Essa sensibilidade deve ser relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo boa repetibilidade e reprodutibilidade dos testes. De acordo com a *United State Environmental Protection Agency* (1994) e Calow (1993), os organismos-teste devem ser de fácil cultivo e manutenção em laboratório, ter representatividade ecológica, informações em relação à biologia e à ecologia da espécie e estabilidade genética. Outro critério para a utilização dos organismos em ensaios de toxicidade é a utilização preferencial de espécies autóctones ou representativas do ecossistema em estudo. Não existe uma espécie que atenda a todos esses quesitos. Devido a tais dificuldades é recomendável a utilização de espécies com ampla distribuição geográfica (RAND et al., 1995; VARGAS, 2002; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Existem métodos para os ensaios de toxicidade padronizados por uma série de organizações e agências de normalização, incluindo a *American Public Health Association* (APHA), *American Society for Testing and Materials* (ASTM), USEPA, *Association française de Normalisation* (AFNOR), Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), *International Organisation for Standardization* (ISO) e *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD), onde vários procedimentos e espécies são recomendados para bioensaios (NOVELLI, 2005; VARGAS, 2002).

No Brasil, diversas espécies possuem metodologias padronizadas (Tabela 2.2) pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT e CETESB, como por exemplo, Cladóceros, *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, algas Chlorophyceae, peixe *Danio rerio*, misidáceos, bactéria *Vibrio fischeri*, anfípoda *Hyalella*, para testes com água e/ou sedimento.

Tabela 2.2 – Normas referentes aos testes de toxicidade padronizados por órgãos brasileiros, ABNT e CETESB.

	N ^o . Norma	Referência
Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras	ABNT - NBR 15469	ABNT (2007a)
Toxicidade aguda – Método de ensaio com <i>Daphnia</i> spp. (Crustacea, Cladocera)	ABNT – NBR 12713	ABNT (2004a)
Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)	ABNT – NBR 12648	ABNT (2005a)
Toxicidade crônica – Método de ensaio com <i>Ceriodaphnia</i> spp. (Crustacea, Cladocera)	ABNT – NBR 13373	ABNT (2006)
Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes	ABNT – NBR 15088	ABNT (2004b)
Toxicidade aguda – Método de ensaio com misidáceos (Crustácea)	ABNT – NBR15308	ABNT (2005c)
Toxicidade em sedimento - Método de ensaio com <i>Hyalella</i> spp (Amphipoda)	ABNT - NBR 15470	ABNT (2007b)
Água do mar – teste de toxicidade crônica de curta duração com <i>Lytechinus variegatus</i>, Lamarck, 1816 (Echinodermata: Echinoidea)	CETESB – L5.250	CETESB (1999)
Teste de toxicidade com a bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i> (met. de ensaio)	CETESB – L5.227	CETESB (2001)

Outros organismos também utilizados na avaliação do sedimento são *Chironomus*, *Lumbriculus*, *Hydra*. Estes gêneros ainda não possuem padronização (normas) no Brasil, mas os protocolos para os ensaios já estão bem consolidados e diversos estudos demonstraram sucesso na utilização destes em ensaios ecotoxicológicos (BLAISE, 1997; BLAISE, 2000; DELLAMATRICE, 2006; DORNFELD, 2006; MEREGALLI et al., 2000; PÉRY, et al., 2004).

Os organismos aquáticos podem ser expostos a agentes químicos, amostras de água, sedimento e alimentos. Contaminantes solúveis em água penetram nos organismos aquáticos por meio da superfície do corpo (exposição dérmica) e por tecidos respiratórios. Quando presentes em alimentos, os contaminantes são ingeridos (exposição oral) e absorvidos pelo trato gastrointestinal. Os contaminantes adsorvidos em partículas e sedimentos podem penetrar no organismo por exposição dérmica ou respiratória, à medida que vão sendo desorvidos para a água que está em contato com o organismo aquático (COSTA et al., 2008).

Estudos sobre ecotoxicidade dos efluentes e seus impactos têm sido relatados por vários autores no Brasil e no mundo (ALI; SREEKRISHNAN, 2001; BARRETO-RODRIGUES et al., 2007; KOVACS et al., 2002; PABLOS et al., 2009; SIMS; STEEVENS, 2008; SOTERO-SANTOS, 2005; WILKE, 2008). Os bioensaios integram os efeitos de todos os contaminantes incluindo os efeitos aditivos, antagônicos e sinérgicos, nas amostras de água, sedimento e efluentes.

Além de estudos sobre os impactos dos efluentes, avanços no sistema de classificação de perigos GHS (*Global Harmonized System*) têm ocorrido no Brasil. Em 2001, foi lançada a primeira versão da norma ABNT 14725, aceitando qualquer sistema de classificação de perigos e, em agosto de 2009, foi publicada a revisão da norma ABNT 14725 (Parte 2), que incorpora o GHS como sistema nacional de classificação de perigo de substâncias e produtos químicos para o ambiente aquático (MATTA; PINHEIRO, 2009).

Muitas substâncias químicas quando no ecossistema aquático, apresentam efeitos tóxicos, no entanto esses efeitos são dependentes da fração biodisponível dos poluentes (Figura. 2.2). As concentrações e os locais de destino incluem uma variedade de manifestações, desde efeitos moleculares que se propagam até a sobrevivência dos organismos (FENT, 2004).

Figura. 2.2 – Biodisponibilidade dos poluentes e níveis de manifestações nos organismos (FENT, 2004).

Testes de toxicidade aguda são normalmente realizados a fim de avaliar a relação dose-resposta do organismo, destinados a avaliar os efeitos de agentes tóxicos sobre espécies aquáticas durante um período de sua vida. Os testes de toxicidade aguda são de curta duração (entre 24 e 96 horas) e avaliam os efeitos sobre a sobrevivência (ADAMS; ROWLAND, 2003). Um exemplo de organismo muito utilizado em testes agudos é o microcrustáceo *Daphnia sp*, onde a resposta avaliada dos organismos após exposição à amostra é a imobilidade/mortalidade, é expressa quantitativamente pela Concentração Efetiva a 50% dos organismos (CE_{50}) ou qualitativamente como efeito tóxico ou não tóxico (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

As avaliações agudas são pontuais, independentes de períodos contínuos, ou variações pluviométricas, pois o valor tóxico se constitui pela interação química gerada por

substâncias químicas e/ou orgânicos, não tendendo a grandes variações dos resultados obtidos. Além de se constituir de uma abordagem exploratória para evidenciar um problema de qualidade de corpos hídricos (BERTOLETTI, 1989).

Já os testes crônicos avaliam os efeitos subletais, tais como crescimento, reprodução, comportamento, alterações teciduais ou efeitos bioquímicos e, geralmente, são projetados para fornecer uma estimativa da concentração que não produz efeitos adversos (ADAMS; ROWLAND, 2003). Os resultados são expressos de forma quantitativa, através da maior concentração que não causa efeito estatisticamente significativo aos organismos teste (CENO), menor concentração que causa efeito estatisticamente significativo (CEO), valor crônico (VC), que é obtido pela média geométrica entre CEO e CENO; qualitativamente os resultados são expressos como tóxico ou não tóxico. No ambiente aquático, a concentração de poluentes nem sempre é alta o suficiente para causar mortalidade, requerendo-se a utilização complementar de ensaios crônicos, os quais detectam efeitos mais sutis, como alterações fisiológicas e reprodução (DOMINGUES et al., 2008).

Ensaios do potencial genotóxico de amostras de água (CARDOZO et al., 2006; LEMOS et al., 2009; UMBUZEIRO et al., 2001; VARGAS et al., 2008;) e de sedimentos (HORN et al., 2004; LEMOS et al., 2009; TAGLIARI et al., 2004; VARGAS et al., 2001) têm sido bastante utilizados para avaliar o impacto das atividades agrícolas, urbanas e industriais, configurando-se apropriados para avaliação de risco ambiental, ao evidenciar os danos ao DNA e posteriores alterações em organismos aquáticos em nível molecular, celular e tecidual.

Estudos recentes demonstram que através da análise computadorizada, é possível se obter um “instrumento de resposta rápida” avaliando a sensibilidade da motilidade espermática do ouriço do mar *Paracentrotus lividus*, em eventos ou acidentes com contaminações que possam afetar o ecossistema aquático. A metodologia consiste no registro da VCL (velocidade curvilinear), VSL (velocidade em linha reta), VAP (velocidade média de percurso) e a porcentagem de espermatozóides rápidos através de um sistema de gravação denominado “*Sperm Class Analyzers*”. O ensaio requer pequenos volumes e pouca manipulação das amostras de sedimento e pode ser, facilmente, estendido para muitas outras espécies bioindicadoras. Esse sistema mostrou alta sensibilidade e capacidade de discriminação, a um grau comparável com o ponto de desenvolvimento larval, *endpoint* do tradicional teste de toxicidade de espermática para *P. lividus*. Os testes foram realizados em matrizes de sedimento através da água intersticial, o local analisado

foi uma lagoa mediterrânea impactada pela agricultura, Lago Varano (Itália). Paralelamente, dois bioensaios padronizados também foram realizados como controle: o de toxicidade espermática para *P. lividus* e teste com *Vibrio fischeri* (Microtox). O teste da sensibilidade da motilidade, além de ser mais rápido e fácil de realizar, não apresenta resposta subjetiva, favorecendo uma avaliação mais confiável do limiar de toxicidade (FABBROCINI et al., 2010).

Outro teste que têm se mostrado promissor é o de multiespécies para água doce (*Multispecies Freshwater Biomonitor* - MFB®). O princípio desse método é medir e analisar, *online*, diferentes tipos de comportamento das espécies aquáticas com base no registro de alterações provocadas pelos movimentos dos organismos em suas câmaras de ensaio (GERHARDT et al, 1994; GERHARDT, 1999). Em comparação com a sobrevivência como um ponto final, os parâmetros comportamentais têm se mostrado entre 10-100 vezes mais sensíveis. A maioria dos estudos consideram a natação, a ventilação e o comportamento de forrageamento (respostas biológicas em diferentes níveis de organização biológica plotados *versus* escala de tempo para os tempos de resposta). Este método demonstrou ser uma valiosa ferramenta de biomonitoramento usando crustáceos (daphnias, camarões, anfípodos) (ALONSO et al., 2009; GERHARDT et al, 2007; KIRKPATRICK et al., 2006), larvas de insetos (quironomídeos), peixes, girinos e nematódeos (GERHARDT, 2002).

Além dos testes citados, é importante também o uso de índices como o Índice de estado trófico (IET), Índice de Proteção de Vida Aquática (IVA), índice de Qualidade de Água (IQA) entre outros, para melhor integrar as informações obtidas e visualizar a real situação dos ambientes aquáticos. Muitas vezes, os critérios de qualidade comumente adotados, não levam em consideração a manutenção da vida aquática nestes corpos hídricos, mas apenas a qualidade de sua água para potabilidade. Tal prática pode criar distorções quando se estipulam valores máximos permitidos para alguns parâmetros de monitoração rotineira (SILVA; JARDIM, 2006).

2.5 Bioensaios *in situ*

Bioensaios tradicionais de laboratório podem não expressar tão precisamente a toxicidade presente na amostra e/ou ambiente, já que as condições ambientais afetam o comportamento de contaminantes e, conseqüentemente, sua toxicidade (PEREIRA, 2000).

Incertezas surgem ao extrapolar os resultados laboratoriais para situações de campo e, muitas vezes, não é possível prever a extensão dos efeitos negativos dos poluentes a um

nível aceitável de precisão através de pequenas amostras. Os processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem no ambiente aquático não podem ser reproduzidos fielmente em laboratório. A intensidade e distribuição espacial da luz natural, o fluxo, turbidez, temperatura e oxigênio são alguns dos parâmetros difíceis de reproduzir em laboratório (CHAPPIE; BURTON JR., 1996; HOPKIN, 1993).

Os ensaios *in situ* são, portanto, reconhecidos como um meio para explorar o problema da relevância ecológica em avaliação de risco ecológico. Devido a essa realidade, nos últimos anos, ocorreu um aumento no número de pesquisas sobre o desenvolvimento de metodologias de ensaio *in situ* utilizando vários organismos aquáticos: fitoplâncton (CULP et al, 2000; MOREIRA-SANTOS, 2002, 2004a, 2004b), anfípodos (CHAPPIE; BURTON, 1997; MALTBY et al., 1990), cladóceros (LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2002), peixes (CASTRO et al., 2004; MOREIRA et al., 2010; SMOLDERS et al., 2004), quironomídeos (CASTRO et al., 2003; CHAPPIE; BURTON, 1997; CONRAD et al., 1999; FARIA et al., 2008; SOARES et al., 2005; WARREN, 1998), camarões (GRAÇA, 2002) e zooplâncton (PEREIRA et al., 1999).

Apesar de ser reconhecido como ferramenta valiosa para a avaliação de ambientes quanto a substâncias perigosas, os ensaios *in situ* ainda não foram amplamente implementados, tanto em avaliações de risco ecológico como em programas de monitoramento, principalmente devido à sua complexidade e custos elevados (DOMINGUES et al., 2008; MOREIRA-SANTOS et al., 2004).

O estudo realizado com algas por Moreira-Santos e colaboradores (2004 a) enfocou a adaptação e avaliação de procedimentos com câmaras de bioensaios *in situ* com microalgas em ambientes lênticos de água doce. Para isso, espécies de microalgas de água doce foram selecionadas e testadas no sistema aquático da mina de São Domingos, localizada no sudeste de Portugal, local impactado por despejos ácidos da drenagem de cobre e pirita. O outro objetivo do estudo foi o de integrar as informações oriundas dos ensaios *in situ* e dos ensaios de laboratório e avaliar o real papel de testes laboratoriais em avaliações de riscos ecológicos. A alga *P. subcapitata* apresentou bom desenvolvimento em esferas de alginato de cálcio, de acordo com os critérios de aceitabilidade. Segundo o autor, a aplicação de ensaios *in situ* com algas para uma abordagem de avaliação de risco, integrada com ensaios laboratoriais e parâmetros de qualidade da água, aumentará o realismo ecológico para as decisões ambientais. Essa abordagem é particularmente relevante para ambientes moderadamente impactados, onde o estabelecimento de coerência

entre a exposição e os efeitos são mais complexos (CLEMENTS; KIFFNEY, 1994; PEREIRA et al, 1999;. CHERRY et al., 2001).

Pesquisas foram realizadas com quironomídeos em ensaios *in situ*, enfocando, principalmente, avaliação de riscos ecológicos, disponibilidade de metais, avaliação de áreas com impactos urbanos e com escoamentos de áreas rurais e agrícolas (CHAPPIE; BURTON, 1997; Crane et al, 1995; SOARES et al., 2005).

Portanto, têm-se os ensaios *in situ* como uma nova estratégia para estudos de ecotoxicidade, avaliação de risco ambiental e monitoramento, sendo necessário desenvolvimento de câmaras de fácil elaboração e implantação e baixo custo. É importante também o desenvolvimento de estudos com novos organismos e em diferentes ambientes.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o ribeirão Limeira, importante ribeirão com determinada influência antrópica (indústrias e agropecuária) e afluente do Rio Paraíba do Sul, por intermédio de parâmetros limnológicos e ensaios ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), utilizando amostras de água e sedimento do ribeirão.

Os objetivos específicos foram:

- ✓ Avaliar a qualidade da água do ribeirão Limeira através dos parâmetros físicos e químicos, quanto à variação espacial e sazonal.
- ✓ Determinar o índice de estado trófico – IET e o índice de preservação da vida aquática – IVA.
- ✓ Analisar amostras de água e sedimento quanto à presença de metais e comparar com os níveis estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05.
- ✓ Caracterizar o sedimento por meio de análises granulométricas, matéria orgânica, fósforo total e metais totais e nas frações biodisponíveis.
- ✓ Avaliar a toxicidade das amostras de água, por meio de ensaios de toxicidade aguda utilizando *Daphnia similis* e crônica *Ceriodaphnia silvestrii* e *Pseudochironomus subcapitata*.
- ✓ Avaliar a toxicidade das amostras de sedimento por meio de ensaios de toxicidade aguda utilizando *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* e crônica *Chironomus xanthus*.
- ✓ Avaliar estatisticamente, a similaridade ou dissimilaridade, entre os trechos amostrados do ribeirão, através dos parâmetros físicos e químicos e ecotoxicológicos.
- ✓ Avaliar através de ensaios *in situ* o ponto (P4) que apresentou maior toxicidade ao longo do ribeirão.
- ✓ Comparar os resultados das análises *in situ* com ensaios laboratoriais, realizados simultaneamente.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo: bacia hidrográfica do ribeirão Limeira

Faz parte da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul a sub-bacia do ribeirão Limeira (Figura 4.1), área de estudo desta pesquisa. As primeiras nascentes do ribeirão Limeira se encontram no município de Piquete - SP, bairro das Posses, nas encostas da Serra da Mantiqueira, num fragmento de Mata Atlântica localizado em área particular de propriedade da Fábrica Presidente Vargas - Indústria de Material Bélico do Brasil. Tal trecho é bastante acidentado, com solo pedregoso e elevada declividade, portanto, sujeito a perda de cobertura do solo e erosão. A sub-bacia do ribeirão Limeira abrange ainda o município de Lorena – SP. Suas águas drenam para o rio Paraíba do Sul (PAIVA, 2009).

Por toda a sub-bacia, observa-se impacto antropogênico: inadequada utilização das terras, problemas decorrentes do acentuado processo de desmatamento e eliminação de matas ciliares, resultando na perda da cobertura vegetal original. De forma geral, a pecuária extensiva prevalece como atividade econômica. A contínua exposição do solo, naturalmente pouco profundo, intensificou os processos erosivos. Áreas ocupadas pela monocultura de eucalipto, atividade em expansão na sub-bacia, invadem as margens do ribeirão. As pequenas propriedades são esparsas ao longo do ribeirão Limeira com plantio de cana-de-açúcar, milho, feijão, capineiras, mandioca, dentre outras culturas menos expressivas, e os efluentes domésticos gerados são tratados através do uso de fossas e/ou lançados diretamente no leito do ribeirão (PAIVA, 2009).

Nessa área existem três empresas químicas: duas voltadas para a fabricação de explosivos e materiais bélicos e uma de abrasivos. Na região de Lorena, o ribeirão Limeira corre por um terreno com pouca declividade. Próximo à foz, encontram-se as instalações do Campus I da Escola de Engenharia de Lorena – (EEL) USP na margem direita, e na margem esquerda verifica-se a presença de mata ciliar em estágio avançado de regeneração (Figura 4.1).

Na região dessa sub-bacia o clima possui características definidas, inverno seco e baixa precipitação e verão com elevados índices de chuva. O período seco compreende os meses de março a setembro, e o período chuvoso de outubro a fevereiro.

Figura 4.1 – Mapa de localização da bacia do ribeirão Limeira

4.1.1 Pontos amostrais

Os pontos amostrais foram determinados desde as proximidades das nascentes até a foz, com base em mapas de uso e ocupação do solo da região e visitas prévias para constatação de possíveis áreas impactadas ao longo do ribeirão. Sete locais foram estabelecidos e denominados: P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6.

Abaixo são descritas algumas características dos pontos amostrais:

Ponto 0 (22°62'32.4S; 045°19'99.9W) – Localiza-se próximo à região das principais nascentes do ribeirão Limeira. Na margem direita há uma área de pastagem que passou por recomposição da vegetação ciliar no segundo semestre de 2007, período em que foram iniciados estes estudos para avaliação da água e sedimento no ribeirão. A margem esquerda possui mata nativa, sem impactos aparentemente visíveis sobre a vegetação. A calha do ribeirão é estreita e sua profundidade não passa de 50 cm; o leito apresenta solo pedregoso (Figura 4.2).

Ponto 1 (22°62'59.7S; 045°18'73.2W) – Localizado na propriedade de uma indústria de materiais bélicos e explosivos. Esta área no passado era utilizada para descarte de resíduos

sólidos. As duas margens são utilizadas, atualmente, como pasto e sustentam pouca vegetação ciliar, apresentando alguns pontos de erosão (Figura 4.3).

Figura 4.2 - Ponto P0 do ribeirão Limeira

Figura 4.3 - Ponto P1 do ribeirão Limeira

Ponto 2 (22°63'39.5S; 045°16'90.3W) – O ribeirão passa por uma propriedade particular com áreas de pastagens nas duas margens, onde o gado tem acesso direto às águas. A área é impactada devido à passagem de estrada e construção de uma ponte a cerca de cinco metros acima do ponto de amostragem (Figura 4.4).

Ponto 3 (22°64'31.1S; 045°15'89.9W) – Ribeirão represado com formação de uma queda d'água alguns metros após o ponto de coleta. Localiza-se dentro de uma fazenda com monocultura de eucalipto, plantado há mais de três anos, na margem direita. A estrada de acesso é de chão batido (antiga estrada de ferro Central do Brasil, Lorena – Piquete) e acompanha a margem esquerda do ribeirão. À montante do ponto P3, existem propriedades com criação de animais (suinocultura e piscicultura - Figura 4.5).

Figura 4.4 - Ponto P2 do ribeirão Limeira

Figura 4.5 - Ponto P3 do ribeirão Limeira

Ponto 4 (22°66'64.4S; 045°13'83.1W) – Localizado na propriedade de uma indústria de materiais bélicos (proibido registros fotográficos). Não há descarte de efluentes no ribeirão Limeira. Os efluentes líquidos tratados dessa indústria são descartados em outra microbacia. Na margem esquerda tem-se um pomar e em alguns trechos apresentam erosão do solo. A margem direita também apresenta erosão e algumas árvores.

Ponto 5 (22°69'41.4S; 045°11'72.7W) – Área com diversos trechos apresentando erosões e a calha do ribeirão se encontra assoreada. Na margem direita uma indústria de abrasivos e na esquerda remanescentes de vegetação arbórea nativa (Figura 4.6). Trecho do rio com fácil acesso devido à proximidade de uma estrada de terra, localizada a aproximadamente 30 m à jusante do ponto de amostragem.

Ponto 6 (22°69'88.7S; 045°11'71.2W) – Localiza-se a alguns metros da foz do ribeirão, que deságua no rio Paraíba do Sul. Amostragens foram realizadas a partir de uma ponte, devido à dificuldade de acesso às margens. Margem esquerda reconstituída com vegetação ciliar e margem direita, instalações da EEL-USP (Figura 4.7).

Figura 4.6 - Ponto P5 do ribeirão Limeira

Figura 4.7 – Foz do ribeirão Limeira, ponto P6 (PAIVA, 2009)

4.2 Amostragens da água e do sedimento

Foram realizadas seis amostragens bimestrais, entre setembro de 2007 e julho de 2008, nos sete pontos amostrais (P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6).

A coleta das amostras de água e preservação para análises seguiram os critérios estabelecidos na Norma Técnica da NBR 9898/87 – “Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores” (ABNT, 1987). Amostras de água foram coletadas e armazenadas em recipientes plásticos e de vidro, conservadas a 4°C até o início das análises físicas, químicas e microbiológicas.

Para a determinação da demanda química de oxigênio (DQO), nitrato, nitrito e fósforo, as amostras foram coletadas em frascos de vidro e conservadas a 4°C com adição de 2,0 mL de ácido sulfúrico (P.A.) para cada litro de amostra. As amostras de água utilizadas para análises de metais foram preservadas em laboratório com 1,5 mL de ácido nítrico concentrado. E para as análises microbiológicas foram utilizados frascos de vidro previamente esterilizados.

O procedimento de coleta e estocagem das amostras de sedimento baseou-se nos critérios da USEPA (1994). Foram utilizados, conforme a necessidade e profundidade do local, um amostrador em aço-inox e/ou uma draga de Van Veen (MOZETO, 2006). Uma alíquota das amostras foi armazenada em sacos plásticos e conservadas a 4°C e a outra alíquota congelada.

As amostras de água utilizadas em ensaios ecotoxicológicos foram filtradas em malha de 0,45µm, armazenadas em recipientes plásticos, e conservadas a 4°C até o início dos bioensaios de toxicidade.

As amostras de sedimento para ensaios ecotoxicológicos foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas a fim de eliminar a fauna do sedimento e evitar a predação dos organismos-teste.

4.3 Análises físicas, químicas e biológicas das amostras de água

As variáveis da água (pH, temperatura, condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos) foram determinadas em campo com uma sonda multiparamétrica, HANNA modelo HI 991300. Os parâmetros analisados, metodologias e respectivas referências utilizadas para a caracterização da água são apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Variáveis e métodos utilizados na caracterização da qualidade da água e do sedimento do ribeirão Limeira.

Variável	Metodologia	Referência
Água		
pH	-	-
Temperatura da água	-	-
Condutividade	-	-
Sólidos totais dissolvidos	-	-
Oxigênio dissolvido	Titulometria	WINKLER, CETESB (1978)
DQO	Espectrofotômetro	APHA (1999)
DBO	Winkler / Incubação	APHA (1999)
Nitrato	Espectrofotometria	APHA (1999)
Nitrito	Espectrofotometria	APHA (1999)
Fósforo total	Espectrofotometria	APHA (1999)
Dureza	Titulometria	APHA (1999)
Metais	Absorção atômica	APHA (1999)
Turbidez	TB 1000 (turbidímetro)	-
Coliformes termotolerantes	Tubos múltiplos	CETESB (1992)
Sedimento		
Matéria orgânica	Espectrofotometria	TRINDADE (1980)
Fósforo total	Espectrofotometria	ANDERSEN (1976)
Granulometria	Peneiramento	SUGUIO (1973)
Metais totais	Absorção atômica	ROTHERY (1988)
Metais biodisponíveis	Absorção atômica	SILVÉRIO (2000)

4.3.1 Oxigênio dissolvido (Método Winkler)

A determinação do oxigênio dissolvido seguiu a metodologia descrita na Norma Técnica L5.169 da CETESB (1978). A coleta das amostras foi realizada em triplicatas; em campo adicionou-se 2 mL da solução 1 (sulfato manganoso) e 2 mL da solução 2 (reagente alcali-iodeto-azida), homogeneizou-se a amostra garantindo a reação completa dessas soluções com a amostra. Em laboratório, acrescentou-se 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, após homogeneização transferiu-se 100 mL da amostra para um Erlenmeyer. Foram adicionadas algumas gotas de solução indicadora de amido e titulou-se com tiossulfato de sódio 0,025N. Os resultados foram expressos em mg.L^{-1} de O_2 , conforme equação abaixo:

$$[\text{mg} / \text{LO}_2] = \frac{V_1 * F * 0,025N * 8000}{V_2}$$

Onde:

V_1 = Volume de tiossulfato de sódio gasto na titulação (mL)

F = Fator do tiossulfato de sódio

V_2 = Volume de amostra (mL)

4.3.2 Demanda Química de Oxigênio (DQO) (baixo teor - Método Hach adaptado)

A metodologia utilizada para análise da DQO foi segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Analysis* (APHA, 1999). Foram adicionados 2,0 mL da amostra em uma ampola (de 10 mL), 1,2 mL da solução digestora (10,12 g de dicromato de potássio; 33,3g de sulfato de mercúrio II; 167 mL de H₂SO₄, avolumados para 1000 mL com água destilada) e 3,5 mL de solução catalítica (5,5 g de AgSO₄/Kg de H₂SO₄). Após o fechamento da ampola, esta foi mantida em estufa a 150°C por 2 horas. A amostra foi mantida ao abrigo da luz e após seu esfriamento, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-visível (HITACHI U-2001) a 420 nm.

O método Hach geralmente é utilizado quando as concentrações de DQO são inferiores a 150 mg.L⁻¹. Acima ou abaixo desta faixa, a curva perde a linearidade e o método perde a precisão. Foi necessário determinar um limite inferior, pois muitas vezes os resultados se apresentaram abaixo do limite de detecção do método (<150 mg.L⁻¹). Os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ O₂.

4.3.3 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_{5,20}) (baixo teor)

A metodologia utilizada para análise da DBO foi segundo a norma L5.120 CETESB (1991). A determinação foi obtida pela diferença da concentração de oxigênio dissolvido, antes e após a incubação das amostras a 20 ± 1 °C, ao abrigo da luz, por 5 dias. A determinação de OD foi feita conforme o item 4.3.1.

Cálculo:

$$DBO [mg.LO_2] = OD_1 - OD_5$$

Onde:

OD₁ = concentração de oxigênio dissolvido no 1º dia (antes da incubação)

OD₅ = concentração de oxigênio dissolvido no 5º dia (após a incubação)

4.3.4 Nitrato (NO₃⁻)

O método utilizado para a determinação de nitrato foi do ácido fenoldissulfônico, norma L5.137 (CETESB, 1978), o qual consiste na leitura em meio básico da absorbância (λ = 410 nm) do complexo formado de ácido fenoldissulfônico e o nitrato presente. Uma alíquota de 100 mL de amostra foi acidificada com H₂SO₄, adicionou-se peróxido de hidrogênio e em seguida neutralizada com NaOH; após esse procedimento evaporou-se todo o volume em banho-maria. Todo o resíduo foi dissolvido com ácido fenoldissulfônico

acrescentando 20 mL de água destilada, de modo a evitar reação muito violenta ao adicionar hidróxido de amônio. Após a adição de aproximadamente 7 mL de hidróxido de amônio, a solução obtida foi avolumada em um balão volumétrico de 100 mL. Os resultados foram expressos em $\text{mg.L}^{-1}\text{N}$.

4.3.5 Nitrito (Método da sulfanilamida e N-(1-Naftil) Etilenodiamia).

A análise de nitrito foi realizada segundo *Standard Methods* nº 4500 $\text{NO}_2 - \text{B}$ – método da Sulfanilamida e N-(1-Naftil) Etilenodiamia (APHA, 1999), em triplicata. Primeiramente, 200 mL de amostra foram filtradas em membrana de $0,45\mu\text{m}$. Foi retirada uma alíquota de 50 mL do filtrado e adicionado 1 mL de reagente de sulfanilamida, e após um período de 2 a 8 minutos adicionou-se 1 mL de dicloreto de N - (1-naftil) etilenodiamina. Após a adição dos reagentes realizou-se a leitura em 540 nm (amostra, após o preparo, tem validade de até 2 horas). Os resultados foram expressos em $\text{mg.L}^{-1}\text{N}$.

4.3.6 Fósforo total (Método do ácido ascórbico)

A determinação foi conforme o método do ácido ascórbico (APHA, 1999). A análise foi realizada com 50 mL de amostra, adicionado 1 mL de H_2SO_4 concentrado e 5 mL de HNO_3 ; posteriormente, a solução obtida foi levada ao bloco digestor por 1 hora a 105°C . Após esfriar em temperatura ambiente, adicionou-se 1 gota de fenolftaleína e neutralizou-se com NaOH 6,5 N, avolumando essa solução em um balão de 100 mL. Após isso, foi retirado 25 mL de amostra, adicionado 8 mL da solução desenvolvedora de cor (100 mL de ácido sulfúrico 5 N; 10 mL de tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado, 1,3715 g para 500 mL de água destilada; 30 mL da solução de molibdato de amônio, 20 g para 500 mL de água destilada; e 60 mL de ácido ascórbico $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, 1,76 g para 100 mL; esta solução é estável por 4 horas) e feita a leitura em espectrofotômetro a 880 nm.

4.3.7 Dureza

Realizou-se a titulação com ácido diamino tetra acético (EDTA), onde se acrescentou 50 mL de amostra em um Erlenmeyer, 1 mL de solução tampão e algumas gotas de indicador negro de ericromo T; o ponto de viragem foi indicado pela cor azul. Os resultados foram expressos em mg.L^{-1} de CaCO_3 através da seguinte equação:

$$\text{Dureza } [\text{mg} / \text{LCaCO}_3] = \frac{V_1 * 1000 * F}{V_2}$$

Onde:

V_1 = Volume de EDTA gasto na titulação (mL)

V_2 = Volume de amostra (mL)

F = fator de correção EDTA

4.3.8 Metais

A determinação dos teores de metais foi realizada pelo Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Engenharia Química, Escola de Engenharia de Lorena - USP. Utilizou-se a metodologia descrita em APHA (1999) para a análise da água. Os metais totais analisados foram: prata (Ag), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), magnésio (Mg), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) em amostras de água e sedimento. Nas amostras do sedimento foram analisados os metais na sua concentração total e a fração biodisponível, portanto utilizou-se diferentes preparos para cada análise. As leituras foram feitas em espectrômetro de absorção atômica (PerkinElmer, modelo Analyst 800) com sistema integrado para operação com chama e forno de grafite.

Para a determinação dos elementos em amostras de água, utilizou-se a metodologia do *Standard Methods - 3000 - Metals* (APHA, 1999). Para a determinação dos elementos Fe, Mg, Mn, Zn, Cd e Pb utilizou-se 50 mL de amostra com o acréscimo de 2 mL de HNO_3 (P.A.) e 1 mL de HCl (P.A.), digerida em placa de aquecimento durante 30 minutos. O material concentrado foi filtrado em filtros de fibra de vidro (GFC - 0,45 μm de porosidade) e avolumado em balões volumétricos de 50 mL, os resultados foram expressos em mg.L^{-1} .

Nas análises dos elementos Cr, Cu, Ag e Ni foram utilizados 250 mL de amostra acrescentando-se 2 mL de HNO_3 (P.A.) e 2 mL de HCl (P.A.) e, em seguida, digerida em placa de aquecimento concentrando o volume para aproximadamente 20 mL. O material foi filtrado em filtros de fibra de vidro (0,45 μm de porosidade) e avolumado para balões volumétricos de 250 mL. Os resultados expressos em mg.L^{-1} .

4.3.9 Determinação da turbidez

A turbidez foi determinada com turbidímetro (TECNOPON mod. TB 1000). Para a calibração do equipamento utilizou-se padrões de 0,1 NTU, 0,8 NTU, 8 NTU, 80 NTU e 100 NTU. Os resultados foram expressos em unidades de turbidez NTU (*Nephelometric Turbidity Unit*).

4.3.10 Coliformes termotolerantes

Essa metodologia foi realizada segundo a Norma L5.406, CETESB (1992). Em tubos de ensaio, foram colocados tubos Durham invertidos e 10 mL de meio A1. Depois de preparados, os tubos são autoclavados (10 minutos a 121°C).

Os coliformes termotolerantes foram determinados a partir de 25 inoculações para cada amostra, sendo cinco inoculações para cada volume e/ou concentração diferente. São feitas inoculações com 10 mL e 1 mL de amostra concentrada, e 1 mL de três diluições de concentrações 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e quando necessárias, concentrações 10^{-4} e 10^{-5} .

A leitura foi realizada através da visualização da turvação dos tubos, sendo considerados positivos os que apresentaram aspecto turvo e acúmulo de gás.

4.4 Análises físicas e químicas do sedimento

Antes das análises o sedimento foi seco em estufa a 60°C (determinação de matéria orgânica e granulometria) e a 105-110°C (determinação de fósforo total), pulverizados e peneirados em peneira de 0,15 mm (100 mesh).

4.4.1 Matéria orgânica (MO)

Para essa análise, os cadinhos de porcelanas foram previamente levados vazios ao forno mufla a 550°C por 4 h; depois de frios, foram pesados.

Para cada ponto analisou-se três sub-amostras de 0,1 g de sedimento, pesadas em balança analítica precisão de 1,0000 g. Depois de pesadas em cadinhos de porcelana, as amostras foram levadas ao forno mufla 550°C (ignição) por 4 h. Após esfriar dentro de um dessecador, o conjunto (cadinho + amostra) foi novamente pesado. Para o cálculo da matéria orgânica utilizou-se a seguinte equação:

$$\% \text{ matéria orgânica} = \frac{(P_1 - P_2) \times 100}{P_1}$$

Onde:

P1 = Peso seco (g)

P2 = Peso após ignição (g)

4.4.2 Fósforo total

Para a análise do fósforo seguiu-se a metodologia da digestão por ácido perclórico, segundo Andersen (1976). Foram pesados 0,5 g de sedimento seco, adicionou-se 10 mL de água destilada e 2 mL de ácido nítrico concentrado. O Erlenmeyer foi levado à placa de

aquecimento até total evaporação. Posteriormente, adicionou-se 2 mL de ácido perclórico e a amostra foi fervida até o clareamento. Depois de resfriada, a amostra foi diluída em balão volumétrico de 100 mL. Uma alíquota de 25 mL foi retirada e adicionado 8 mL da solução desenvolvedora de cor (item 4.3.6). O branco preparado com água destilada recebeu o mesmo tratamento. A leitura em espectrofotômetro foi realizada em 880 nm.

4.4.3 Granulometria

O método utilizado para a análise granulométrica foi o peneiramento conforme Suguio (1973), pesando-se sub-amostras de 100 g de sedimento seco. Procedeu-se o peneiramento em um agitador mecânico com um conjunto de peneiras empilhadas, onde a peneira de maior diâmetro de malha foi colocada no topo e a de menor no fundo, acoplada em um recipiente final; as aberturas de malha variaram de 0,07 a 2,00 mm (Tabela 4.2). As amostras ficaram sob agitação durante 10 minutos. O material retido em cada peneira foi pesado em balança analítica.

O sedimento foi classificado em porcentagem como: areia grossa (2,0 a 0,2 mm), areia fina (0,2 a 0,07) e silte + argila (menor que 0,07 mm).

Tabela 4.2 – Tamanho da malha das peneiras utilizadas para a análise granulométrica.

Abertura em mm	Mesh
2,00	9
1,00	16
0,84	20
0,42	35
0,21	65
0,15	100
0,07	200

4.4.4 Metais no sedimento

Para análise de metais totais no sedimento seguiu-se a metodologia de Rothery (1988) e para metais biodisponíveis conforme Silvério (2000). Os elementos Ag, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Pb e Zn, foram determinados por espectrometria de absorção atômica com sistema integrado para operação com chama e forno de grafite.

4.4.4.1 Metais totais

Amostra de 0,5 g de sedimento, finamente pulverizado em almofariz, foi digerida utilizando 4 mL de HNO_3 (P.A.) e 2 mL de HClO_4 (P.A.) para análise de metais totais no sedimento. Após a digestão da amostra, a suspensão foi filtrada em membrana de acetato de celulose (0,45 μm) e o filtrado avolumado em balão de 50 mL. Os resultados foram expressos em mg.Kg^{-1} de sedimento seco (ROTHERY, 1988).

4.4.4.2 Metais biodisponíveis

Para a quantificação de metais biodisponíveis pesou-se 1,0 g de sedimento seco, previamente pulverizado em almofariz, transferiu-se para um Erlenmeyer onde foi adicionado 25 mL de HCl 0,1 M. Esta mistura foi submetida à agitação de 200 rpm por 2 horas, posteriormente, a suspensão foi filtrada em membrana de acetato de celulose (0,45 μm) e diluída em balão volumétrico de 100 mL (SILVÉRIO, 2000). Os resultados foram expressos em mg.Kg^{-1} de sedimento seco.

4.5 Análises físico-químicas dos ensaios *in situ*

Análises físico-químicas da água e do sedimento, complementares aos ensaios *in situ*, foram realizadas em campo e em laboratório, ver resumo das análises na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Variáveis, métodos e referências utilizados na caracterização da qualidade da água e do sedimento do ribeirão Limeira, em agosto de 2010, durante o ensaio *in situ*.

Variável	Metodologia	Obs.
Água		
pH	-	-
Condutividade	-	-
Sólidos totais dissolvidos	-	-
Oxigênio dissolvido	Titulometria	WINKLER, CETESB (1978)
DQO	Espectrofotometria	APHA (1999)
DBO	Winkler / Incubação	APHA (1999)
Dureza	Titulometria	APHA (1999)
Turbidez	TB 1000 (turbidímetro)	-
Íons	Cromatografia de Íons	
Cátions (sódio, amônio, potássio, Mg^{2+} e Ca^{2+})		-
Ânions (fluoretos, cloretos, brometos, nitrito, nitrato e sulfato)		
Temperatura da água		--\
Sedimento		
Matéria orgânica	Espectrofotometria (UV- Vis)	TRINDADE (1980)
Fósforo total	Espectrofotometria (UV- Vis)	ANDERSEN (1976)
Granulometria	Peneiramento	SUGUIO (1973)

Continuação

Tabela 4.3 - Variáveis, métodos e referências utilizados na caracterização da qualidade da água e do sedimento do ribeirão Limeira, em agosto de 2010, durante o ensaio *in situ*.

Íons	
Cátions (sódio, amônio, potássio, Mg^{2+} e Ca^{2+})	Cromatografia de Íons
Ânions (fluoretos, cloretos, brometos, nitrito, nitrato e sulfato)	Cromatografia de Íons

4.5.1 Determinação de íons

As análises de íons foram realizadas somente no mês de agosto de 2010, nos pontos onde foram realizados os ensaios *in situ*.

Para a determinação dos íons a amostra de água foi filtrada em filtro de 0,45 μm . Para análise do sedimento foi obtido o elutriato, onde foi preparado na proporção de 1:4 o sedimento com água destilada, deixado em agitação por 24 horas e seguido de sedimentação por um dia. Após esse período, o sobrenadante (elutriato) foi analisado. Quando necessário, efetuou-se a diluição da amostra (1:10 a 1:25). As amostras foram analisadas sem diálise, em um Cromatógrafo de Íons (METROHM, modelo 850 Professional IC).

Para análise de ânions foram injetados 10 mL de amostra em coluna de troca aniônica A Supp 5 – 150 mm, com fluxo de 0,7 mL. min⁻¹, isocrático, utilizando como fase móvel tampão Na₂CO₃ 3,2 mM e NaHCO₃ 1,0 mM. Os picos detectados com base no tempo de retenção foram identificados a partir de curva padrão previamente estabelecidos para os ânions analisados. O método de detecção foi por condutivimetria.

Para análise de cátions foram injetados 10 mL de amostra em coluna de troca catiônica C2 – 150 mm, com fluxo de 0,9 mL. min⁻¹, isocrático, utilizando como fase móvel tampão ácido oxálico 2,7 mM. O método de detecção foi por condutivimetria.

4.6 Ensaios ecotoxicológicos

Serão apresentadas neste item as condições do cultivo e manutenção dos organismos-teste, preparo do testes de sensibilidade e execução dos ensaios ecotoxicológicos.

4.6.1 Manutenção e cultivo dos organismos

Todos os organismos são cultivados no laboratório de ecotoxicidade da Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo.

4.6.1.1 *Pseudokirchneriella subcapitata*

A cultura inicial de alga foi adquirida na unidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) de Jaguariúna – SP. Para a manutenção da cultura algácea, preparou-se um meio de cultivo L.C. Oligo (Tabela 4.4) transferido-se 100 µL de inóculo algal para 100 mL do meio. Esse procedimento foi realizado semanalmente para manter o suprimento e a qualidade das células. A manutenção e o cultivo da alga *P. subcapitata* seguem os procedimentos da norma NBR 12648 (ABNT, 2005).

Tabela 4.4 – Composição e preparo do meio L.C.Oligo

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4 000	Dissolver e diluir em balão de 100 mL com água destilada
2	KNO ₃	10 000	
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	3 000	
4	K ₂ HPO ₄	4 000	
5	CuSO ₄ .5H ₂ O	30	Dissolver e diluir em balão de 1000 mL com água destilada
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	60	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	60	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	60	
	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	60	
	C ₆ H ₈ O ₂ .H ₂ O	60	
	H ₃ BO ₃	60	
6	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	1 625	Dissolver e diluir em balão de 1000 mL com água destilada
	FeCl ₃ .6H ₂ O	625	
	FeSO ₄ .7H ₂ O	625	
7	NaHCO ₃	15 000	Dissolver e diluir em balão de 1000 mL com água destilada

A transferência do inóculo, seja para manutenção da cultura ou para testes, é feita na fase exponencial de crescimento celular, de forma que a concentração inicial de algas esteja com, aproximadamente, 10⁵ células.mL⁻¹ no volume de 100 mL do meio ou amostra. A contagem das células é realizada em câmara de Neubauer sob microscópio óptico.

4.6.1.2 *Ceriodaphnia silvestrii*

Os cultivos foram mantidos em cristalizadores de vidro, contendo cerca de 60 fêmeas em 1 L de água de cultivo, sendo separados em três idades (1, 2 e 3 semanas). O alimento fornecido diariamente foi alimento composto (RL – ração e levedura) 20 µL por organismo e alga *P. subcapitata*, a quantidade fornecida é de 5×10^5 células por organismo. Os procedimentos de cultivo e manutenção foram baseados na norma NBR 13373/05 (ABNT, 2005).

A manutenção da água do cultivo foi realizada três vezes na semana (2^a., 4^a. e 6^a. feiras), sendo que na 6^a. feira era descartado o cultivo mais antigo (3 semanas), iniciado um novo cultivo (de 1 semana) e anotada a mudança de idade dos organismos. O início de novos cultivos foi feito com organismos jovens de *C. silvestrii* (Figura 4.8) com idade de 24h, aproximadamente.

No laboratório, os cultivos eram mantidos em água natural proveniente de uma mina d'água, com dureza (40 a 48 mg.L⁻¹ CaCO₃) e pH (7,0 a 7,6) ajustados, e em incubadoras a 23°C ±1 e fotoperíodo de 12h.

Figura 4.8 – Microcrustáceo *C. silvestrii*, aumento de 40x em microscópio óptico

4.6.1.3 *Daphnia similis*

Para a manutenção dos cultivos de *D. similis* (Figura 4.9), foram utilizados cristalizadores de vidro (capacidade de 2 L), onde era preenchido com 1,6 L de meio MS (KEATING, 1965), contendo cerca de 45 fêmeas. Os cultivos foram separados em três idades (1, 2 e 3 semanas). O alimento fornecido diariamente foi alimento composto RL 20 µL por organismo e alga *P. subcapitata* (5×10^5 células por organismo). Os procedimentos de cultivo e manutenção foram baseados na norma NBR 12713/04 (ABNT, 2004).

Figura 4.9 – Microcrustáceo *D. similis*, aumento de 40x em microscópio óptico

O início dos novos cultivos e a troca de água dos cultivos foram realizados da mesma forma que para a *C. silvestrii*. Os cultivos foram mantidos em incubadoras a $23^{\circ}\text{C} \pm 1$ e fotoperíodo de 12h (Figura 4.10).

Figura 4.10 – Cristalizadores contendo cultivo de *C. silvestrii* e *D. similis*

4.6.1.4 *Chironomus xanthus*

As larvas de *C. xanthus* (Figura 4.11) foram mantidas em bandejas de plástico (45x35x6cm), com estrutura de tela, para manter os adultos emergentes aprisionados. Foram colocados na bandeja 4 L de água de cultivo (a mesma utilizada para *C. silvestrii*) e areia (até aproximadamente 1 cm de altura). O procedimento de cultivo segue as metodologias descritas por Fonseca (1997) e Almeida (2002).

Figura 4.11 – Larva de *C. xanthus*, aumento de 20x em microscópio estereoscópico (lupa).

A água natural utilizada era filtrada, com a dureza ajustada entre 40 a 48 mL.L⁻¹ de CaCO₃, e o pH na faixa de 7,0 e 7,6. A areia usada, NBR 7214 (lote 43/07) de granulometria < 0,6 mm, foi adquirida no Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT). Antes do uso, a areia foi lavada repetidas vezes com água corrente e depois com água destilada, seguida de incineração em mufla a 550°C por 2 horas, para que a matéria orgânica fosse eliminada.

Os organismos receberam alimentação três vezes por semana, respeitando-se a proporção de 10 mL.L⁻¹ (40 mL por bandeja) de solução de ração para peixe (TETRAMIN®). Os organismos foram mantidos em sala com temperatura de 24°C ±2, sob aeração contínua e fotoperíodo de 12 horas.

A solução de ração de peixe foi preparada na concentração de 5 g.L⁻¹ e a água de cultivo completada, ao nível de 4 L, quando necessário.

Para o início de novos cultivos e obtenção de organismos para testes retirou-se desovas depositadas nas paredes das bandejas. As desovas foram mantidas em cristalizadores de 1L, onde se colocou 1 mL de suspensão de alga (*P. subcapitata*) e mantidas nas mesmas condições que os demais cultivos até sua eclosão (cerca de 48 horas). Após o período de eclosão esperava-se, aproximadamente, 3 a 5 dias para a montagem de nova bandeja, ou então aguardava o tempo necessário para que as larvas tivessem idade para realização dos ensaios ecotoxicológicos (entre 2º e 3º estágio). A seguir a estrutura de madeira e tela, para aprisionar os adultos emergentes (Figura 4.12).

Figura 4.12 – Bandeja de cultivo de *C. xanthus* com tela, para retenção dos adultos emergentes.

4.6.2 Testes de sensibilidade com os organismos-teste

Para avaliar a qualidade dos organismos cultivados em laboratório e garantir a confiabilidade dos bioensaios, foram feitos testes de sensibilidade com diferentes concentrações de substâncias químicas de referência.

4.6.2.1 *Pseudokirchneriella subcapitata*

O teste de sensibilidade das culturas algáceas de *P. subcapitata* foi realizado com solução de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), de acordo com os procedimentos descritos na NBR 12648/05 (ABNT, 2005). As concentrações de sulfato de zinco (0,03, 0,06, 0,12, 0,25 e 0,50 mg.L^{-1}) foram preparadas com água destilada a partir de uma solução-estoque (0,1 g.L^{-1} de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). O teste foi realizado nas mesmas condições que o ensaio com amostra. Os resultados expressos em Concentração de Inibição (CIp) à 50% dos organismos (mg.L^{-1}) e calculados conforme o *software* ICP (*The Inhibition Concentration Program*) versão 2.0.

4.6.2.2 *Ceriodaphnia silvestrii*

Para determinar a sensibilidade de *C. silvestrii* foi realizada a exposição de neonatos (com idade entre 6 e 24 h), durante 48 horas, à substância química de referência, cloreto de sódio. Para a realização do teste foram preparadas, com água de cultivo, concentrações de NaCl 1,0, 1,3, 1,6, 2,0 e 2,2 g.L^{-1} a partir de uma solução estoque de 5 g.L^{-1} preparada com água destilada. Foram utilizadas as mesmas condições de ensaio com amostras, conforme a norma NBR 13373/06 (ABNT, 2006). Observou-se, no final do teste, o efeito agudo aos organismos (mortalidade) e os resultados foram expressos a partir do cálculo da CE_{50} através do *software* *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977).

4.6.2.3 *Daphnia similis*

A sensibilidade das culturas de *D. similis* foi verificada mensalmente de acordo com os procedimentos descritos na NBR 12713/04 (ABNT, 2004). A solução-estoque de NaCl com concentração de 6,0 g.L^{-1} foi preparada em água destilada, e as diluições (1,6, 2,0, 2,3, 2,6 e 3,0 g.L^{-1}) para o teste preparadas a partir da solução estoque e completadas com água de cultivo. O procedimento para a realização do teste são os mesmos utilizados em ensaios com amostra.

As culturas consideradas adequadas para utilização em ensaios de toxicidade apresentaram valores de CE_{50} dentro da faixa estabelecida pelo Laboratório de Ecotoxicologia da EEL.

A CE_{50} 48 horas foi calculada através do método *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977) e os resultados expressos em $mg.L^{-1}$.

4.6.2.4 *Chironomus xanthus*

Foi avaliada a sensibilidade das culturas de *C. xanthus* através da exposição das larvas entre o 2º e 3º ínstar (estágio), durante 96 horas, à substância de referência, cloreto de potássio. Os testes foram alimentados no primeiro dia com 1,1 mL de solução de Tetramim®, utilizada para os cultivos. Observou-se ao final do teste o efeito agudo, através da mortalidade dos organismos. As concentrações (1,5; 2,5; 3,5; 5,0; 7,5 $g.L^{-1}$) foram preparadas a partir de uma solução estoque de 10 $g.L^{-1}$ de KCl e completadas com água de cultivo. Para cada concentração foram feitas 15 réplicas, contendo 50 mL de solução e um organismo por recipiente. Durante o teste, foram mantidas as mesmas condições estabelecidas para os ensaios (FONSECA, 1997).

Os resultados são calculados e expressos conforme citado anteriormente para o microcrustáceo *C. silvestrii* e *D. similis*.

4.7 Determinação da toxicidade em amostras de água

A toxicidade da água foi avaliada empregando-se: *Daphnia similis* para determinação de toxicidade aguda; *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Ceriodaphnia silvestrii*, para a determinação de toxicidade crônica. Ao início e final de cada ensaio eram realizadas medidas de pH e condutividade. Os ensaios foram realizados de acordo com as metodologias descritas a seguir.

4.7.1 Ensaio de toxicidade crônica com *Pseudokirchneriella subcapitata*

O método determina a toxicidade crônica das amostras de água através da inibição do crescimento das algas. Os ensaios foram efetuados de acordo com a metodologia descrita pela norma NBR 12648 (ABNT, 2005). O crescimento da pré-cultura foi desenvolvido em meio de cultura com agitação constante (100 rpm) e temperatura de $25 \pm 2^{\circ}C$, durante 7 dias, sob intensidade luminosa de 3500 Lux. Após este período, retirou-se 1 mL da pré-cultura em condições estéreis, para inocular nova cultura, servindo de inóculo

para os ensaios de toxicidade, depois de 3 a 7 dias de crescimento, sob as mesmas condições da pré-cultura.

O teste foi realizado em Erlenmeyer de 250 mL, no qual se adicionou a amostra, o meio de cultura e uma quantidade definida de alga (inóculo). Todo ensaio foi realizado em triplicata, durante 96 horas, à temperatura de 25 ± 2 °C, intensidade luminosa de 3500 Lux e agitação de 130 rpm.

Realizou-se controle comparativo do crescimento da alga, onde um controle constituiu de água destilada, meio de cultura e inóculo da alga. A contagem celular do crescimento algáceo foi realizada em câmara de Neubauer. A biomassa algácea foi determinada ao início e ao final do ensaio. O valor médio produzido em 96 horas foi obtido pela subtração da biomassa final da inicial.

Os resultados foram confirmados através da porcentagem de inibição do crescimento algáceo da amostra comparado com o controle, sendo expressos como tóxico ou não-tóxico.

4.7.2 Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis claus*

O método estabelece a toxicidade aguda da água, durante 48 horas de exposição dos organismos *D. similis*. As determinações foram feitas de acordo com o procedimento descrito na norma ABNT-NBR 12713 (2004).

Para o ensaio com o microcrustáceo *D. similis*, utilizou-se quatro réplicas contendo 20 mL de amostra e distribuídos, aleatoriamente, cinco organismos (idade entre 6 e 24 h), por recipiente. A duração foi de 48 h, com a temperatura mantida em 23 ± 2 °C, em incubadora com sistema de fotoperíodo de 12 h.

Ao final contou-se o número de organismos imóveis ou mortos. A mortalidade e/ou imobilidade dos organismos foi expressa como efeito tóxico ou não-tóxico. O controle foi preparado nas mesmas condições do ensaio, porém utilizou-se água de cultivo.

A água de cultivo é preparada conforme o meio MS (KEATING, 1985), mantendo a dureza entre 40 e 48 mg CaCO₃/L e o pH entre 7,0 a 7,6.

4.7.3 Ensaio de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia silvestrii*

O ensaio crônico realizado com *Ceriodaphnia silvestrii* visou avaliar o efeito das amostras na sobrevivência e reprodução dos organismos. Os procedimentos para a realização deste ensaio seguem a NBR 13373 (ABNT, 2006). Para sua execução, indivíduos jovens (com idade entre 6 e 24 horas) foram expostos a amostras de água,

utilizando-se 10 réplicas e um organismo por recipiente. Os testes foram mantidos em incubadora a 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) com fotoperíodo de 12 horas.

A duração do ensaio foi de 7 a 8 dias, com trocas de solução a cada dois dias e fornecimento diário de alimento, suspensão algácea e alimento composto (RL), aos organismos. A cada troca de solução-teste os neonatos (filhotes) eram contados e, posteriormente, descartados. O ensaio só foi finalizado e validado quando 60% ou mais das fêmeas do controle atingissem a produção mínima de 15 neonatos. Ao final do ensaio era realizada a contagem total dos neonatos produzidos nos recipientes-teste e comparados ao controle. Os resultados foram expressos como tóxico ou não-tóxico.

4.8 Determinação da toxicidade do sedimento

A seguir serão apresentadas as condições dos ensaios de toxicidade com amostras de sedimento.

4.8.1 Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis claus*

Para os testes de toxicidade aguda, foram pesados 5 g de sedimento e acrescentado 20 mL de água de diluição, respeitando a proporção de 1:4 de sedimento/água de cultivo, recomendada por Burton e Macpherson (1995). Essa amostra foi deixada em repouso durante 24 horas e, depois desse período, acrescentou-se 5 organismos por recipiente. No controle foi utilizada somente água de cultivo. O ensaio teve duração de 48 horas, mantido em incubadora ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) com fotoperíodo de 12 horas. No final do ensaio, avaliou-se a toxicidade aguda através da sobrevivência e mobilidade dos organismos (JARDIM, 2004).

4.8.2 Ensaio de toxicidade crônica com *Chironomus xanthus*

Os testes de toxicidade crônica realizados com *C. xanthus* foram desenvolvidos através da metodologia descrita por Fonseca (1997). Para os testes foram usadas amostras de sedimento total na proporção 1:4 (sedimento/água de cultivo), segundo Burton e Macpherson (1995).

Foram pesados 75 g de sedimento, acrescentado 300 mL de água de cultivo e deixado em repouso por 24 horas, sendo preparadas duas réplicas por amostra. Após esse período foram adicionados 10 organismos do 2º ínstar, em cada recipiente teste, sendo alimentados diariamente.

Trocou-se 1/3 do volume de água, a cada 48 horas, e realizou-se medidas do pH e condutividade. Os ensaios duraram 10 dias e ao final deste período, verificou-se a

sobrevivência dos organismos. Os resultados são confirmados por análise estatística (item 4.9.3), expressos como tóxico ou não-tóxico.

4.8.3 Ensaio de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia silvestrii*

Inicialmente os testes de toxicidade foram realizados com o sedimento total conforme metodologia utilizada para *D. similis*. Devido à dificuldade encontrada para a contagem dos organismos e seus neonatos ao final do teste, determinou-se que a melhor metodologia a ser utilizada para avaliar o sedimento com o microcrustáceo *C. silvestrii* seria através do elutriato.

Para a obtenção do elutriato e realização do teste de toxicidade aguda, seguiu-se o procedimento descrito por Paschoal (2002). Fez-se a extração do solubilizado, que consistiu em misturar sedimento e água destilada, 1:4, deixando em agitação por 24 horas, seguida de sedimentação por mais um dia. Após esse período, o sobrenadante (elutriato) foi retirado, distribuindo 15 mL em cada recipiente, totalizando 10 réplicas. Um organismo jovem de *C. silvestrii* (idade de 6 a 24 horas) foi adicionado por recipiente conforme a norma NBR 13373 (ABNT, 2006). Os resultados são confirmados por análise estatística (item 4.9.3), expressos como tóxico ou não-tóxico.

4.9 Ensaios ecotoxicológicos *in situ*

Os ensaios *in situ* foram desenvolvidos em locais pré-selecionados. O ponto chamado de P4 foi o foco dessa investigação devido aos resultados de toxicidade obtidos na campanha do período de setembro/07 a julho/2008. Esse local foi escolhido, por apresentar toxicidade no compartimento sedimento durante todos os meses amostrados. Com isso aplicou-se ensaios *in situ* e laboratoriais, simultaneamente, visando um melhor entendimento da dinâmica e possível explicação para os resultados anteriormente encontrados nesse ponto.

Ao analisar a região, procurou-se investigar as possíveis fontes de poluição que pudessem originar a causa da toxicidade ao ponto P4.

Verificou-se que um ribeirão de nome desconhecido (que será chamado neste estudo de ribeirão da Plantação, a fim de facilitar o entendimento) deságua no ribeirão Limeira a uma distância aproximada de 3 Km a montante do ponto P4. A microbacia do ribeirão da Plantação que deságua no ribeirão Limeira apresenta diversas áreas com plantio de eucalipto.

Devido a essa situação, foram determinados outros dois pontos amostrais, além do P4. Denominou-se ponto A (considerado controle), local que não recebe influências do referido tributário do ribeirão Limeira. O ponto B, que recebe influências diretas do afluente (se encontra na calha do ribeirão Limeira), e o ponto P4, o qual se encontra a aproximadamente 3 Km dos pontos anteriormente citados.

4.9.1 Câmaras para os ensaios *in situ*

As câmaras feitas para a realização dos ensaios com *Chironomus xanthus* foram desenvolvidas e adaptadas segundo o trabalho de Soares e colaboradores (2005) e Chappie e Burton Jr. (1996) (Figuras 4.13 A e B). As câmaras utilizadas para os ensaios com microcrustáceos, *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis*, foram elaboradas e adaptadas do trabalho de Pereira e colaboradores (2000). As câmaras desenvolvidas para o *C. xanthus* apresentavam volume aproximado de 580 mL e as seguintes dimensões: duas janelas (12 cm x 4,2 cm) revestidas de tela de 200 μ m; abertura superior revestida com tela de 200 μ m; abertura inferior fechada; diâmetro de 7,2 cm.

Figura 4.13 - Câmara de ensaio *in situ* para *C. xanthus*

As câmaras de ensaio dos microcrustáceos têm o volume aproximado de 80 mL, conforme ilustram as Figuras 4.14 A e B, com as seguintes dimensões: 3 janelas ($\varnothing = 2,5$ cm), revestida de tela de 50 μm , abertura superior com tampa de rosca, abertura inferior fechada, diâmetro de 3,5 cm.

Figura 4.14 - Câmara de ensaio *in situ* para *C. silvestrii* e *D. similis*.

Os bioensaios foram realizados no mês de agosto de 2010, período de baixa precipitação na região. As câmaras foram fixadas em suporte plástico (cesta) e colocadas no ambiente 24 horas antes do início do ensaio, para ficar completamente aclimatada, cheia de água do ambiente e maior influência do sedimento, favorecendo a entrada de partículas mais finas dentro das câmaras. Foram colocadas em área de remanso (para favorecer o acúmulo de sedimento silte-argiloso), introduzidas no sedimento cerca de 10 cm e recebendo também a influência da correnteza (Figura 4.15).

A duração dos ensaios foi de 48 horas (*short-term*), onde os microcrustáceos *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis*, com idade entre 6-24 horas foram inseridos em câmaras separadas. Para cada câmara foram adicionados 5 organismos e utilizou-se 4 réplicas para cada espécie. Foram implantadas câmaras de ensaio em três pontos amostrais, o ponto A, B e P4, onde cada ponto recebeu 4 câmaras contendo *C. silvestrii*, 4 câmaras com *D. similis* e 3 câmaras com larvas de *C. xanthus*.

Para o ensaio com *Chironomus xanthus*, foram introduzidas 8 larvas, no 3º estágio (8 dias de idade) em cada câmara. A duração foi de 48 horas, sendo realizado em 3 réplicas (SOARES et al., 2005).

O controle foi realizado nas mesmas condições dos ensaios (quantidade e volume), tanto para *C. silvestrii*, *D. similis* e *C. xanthus* (Figura 4.16). Os organismos foram acondicionados em recipientes plásticos (atóxico) contendo água de cultivo, fechados de forma que não tivessem contato com a água e sedimento do ambiente, recebendo influências somente das variações naturais (temperatura e luminosidade) no ribeirão.

Figura 4.15 – Suporte de plástico com as câmaras de ensaio sendo implantadas 24h antes do início do ensaio, ribeirão Limeira.

Figura 4.16 – Suporte de plástico com os recipientes controles.

Durante os ensaios *in situ* foram realizados, simultaneamente, ensaios em condições laboratoriais com organismos de mesmas espécies e lotes (conforme item 4.4.1 e 4.4.2), com mesmo tempo de duração (48 horas).

Análises físico-químicas da água e do sedimento, complementares aos ensaios, foram realizadas em campo e em laboratório (Tabela 4.8.3).

4.10 Metodologias de análise dos dados

Os índices descritos a seguir serão aplicados para interpretação dos resultados obtidos nas análises físicas, químicas e ecotoxicológicas.

4.10.1 Aplicação do índice de estado trófico (IET)

O Índice do Estado Trófico tem por finalidade classificar corpos d'água em diferentes graus de trofia, avaliando a água quanto ao enriquecimento por nutrientes. Das três variáveis (clorofila, fósforo total e índice de transparência) para o cálculo do Índice do Estado Trófico, foi aplicada apenas uma: o fósforo total.

O IET foi calculado a partir dos valores de fósforo total, conforme a expressão CETESB (2009):

$$\text{IET (PT)} = 10 \times (6 - ((0,42 - 0,36 \times (\ln \text{PT})) / \ln 2)) - 20$$

PT = concentração de fósforo total medida à superfície da água, em $\mu\text{g.L}^{-1}$;

ln = logaritmo natural

O Índice do Estado Trófico apresentado e utilizado no cálculo do IVA, foi composto pelo Índice do Estado Trófico para o fósforo – IET (PT), sendo estabelecidos para ambientes lóticos.

Os limites estabelecidos para as diferentes classes de trofia para rios estão descritos na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Classificação do Estado Trófico para rios segundo Índice de Carlson Modificado e a ponderação.

Categoria estado trófico	Ponderação	P-total ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Ultraoligotrófico	0,5	$P \leq 13$
Oligotrófico	1	$13 < P \leq 35$
Mesotrófico	2	$35 < P \leq 137$
Eutrófico	3	$137 < P \leq 296$
Supereutrófico	4	$296 < P \leq 640$
Hipereutrófico	5	$640 < P$

4.10.2 Índice de proteção de vida aquática (IVA)

Conforme CETESB (2009), o IVA é calculado a partir do Índice de Parâmetros Mínimos para a preservação da vida aquática - IPMCA e do IET (item 4.9.1), segundo a expressão:

$$\text{IVA} = (\text{IPMCA} \times 1,2) + \text{IET}$$

Onde:

IET = Índice de estado trófico

IPMCA = Índice de parâmetros mínimos para a preservação da vida aquática

O IPMCA é composto por dois grupos de parâmetros: grupo de substâncias tóxicas (cobre, zinco, chumbo, cromo, mercúrio, níquel, cádmio, surfactantes e fenóis); e grupo de parâmetros essenciais (oxigênio dissolvido, pH e toxicidade). Caso seja necessário, podem-se incluir outros parâmetros considerados importantes para a avaliação da qualidade das águas (CETESB, 2008).

Para cada parâmetro incluído no IPMCA foram estabelecidos três diferentes níveis de qualidade, com ponderações numéricas de 1 a 3 (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 - Parâmetros componentes do IPMCA e suas ponderações, de acordo com os três níveis de qualidade.

Grupos	Parâmetros	Níveis	Faixa de variação	Ponderação
Parâmetros Essenciais (PE)	OD (mg.L ⁻¹)	A	> 5,0	1
		B	3,0 a 5,0	2
		C	< 3,0	3
	pH	A	6,0 a 9,0	1
		B	5,0 a < 6,0 e > 9,0 a 9,5	2
		C	< 5,0 e > 9,5	3
	Toxicidade	A	Não Tóxico	1
		B	Efeito Crônico	2
		C	Efeito Agudo	3
Substâncias Tóxicas (ST)	Cádmio (mg.L ⁻¹)	A	Até 0,001	1
		B	> 0,001 a 0,005	2
		C	> 0,005	3
	Cromo (mg.L ⁻¹)	A	< 0,05	1
		B	> 0,05 a 1,00	2
		C	> 1,00	3
	Cobre (mg/L)	A	Inferior 0,02	1
		B	> 0,02 a 0,05	2
		C	> 0,05	3
	Chumbo (mg/L)	A	Inferior 0,03	1
		B	> 0,03 a 0,08	2
		C	> 0,08	3
	Mercúrio (mg/L)	A	Inferior 0,0002	1
		B	> 0,0002 a 0,001	2
		C	> 0,001	3

Continuação

Tabela 4.6 - Parâmetros componentes do IPMCA e suas ponderações, de acordo com os três níveis de qualidade.

Níquel (mg/L)	A	Inferior 0,025	1
	B	> 0,025 a 0,160	2
	C	> 0,160	3
Fenóis (mg/L)	A	Inferior 0,001	1
	B	> 0,001 a 0,050	2
	C	> 0,050	3
Surfactantes (mg/L)	A	Inferior 0,5	1
	B	> 0,5 a 1,00	2
	C	> 1,00	3
Zinco (mg/L)	A	Inferior 0,18	1
	B	> 0,18 a 1,00	2
	C	> 1,00	3

Os níveis refletem as seguintes condições de qualidade de água:

Nível A: Águas com características desejáveis para manter a sobrevivência e a reprodução dos organismos aquáticos. Atende aos padrões de qualidade da Resolução CONAMA 357/05 (ponderação 1).

Nível B: Águas com características desejáveis para a sobrevivência dos organismos aquáticos, porém a reprodução pode ser afetada ao longo do tempo (ponderação 2).

Nível C: Águas com características que podem comprometer a sobrevivência dos organismos aquáticos (ponderação 3).

O cálculo do IPMCA foi estabelecido:

$$\text{IPMCA} = \text{PE} \times \text{ST}$$

onde:

PE = valor da maior ponderação do grupo de parâmetros essenciais e

ST = valor médio das três maiores ponderações do grupo de substâncias tóxicas.

O valor gerado (IPMCA) é um número inteiro e o critério de arredondamento deverá ser o seguinte: valores menores que 0,5 serão arredondados para baixo e valores maiores ou iguais a 0,5 serão arredondados para cima.

O valor do IPMCA pode variar de 1 a 9, sendo subdividido em quatro faixas de qualidade, classificando as águas para proteção da vida aquática (Tabela 4.7).

Tabela 4.7 – Categorias do IPMCA e suas ponderações.

Categoria	Ponderação
Boa	1
Regular	2
Ruim	3 e 4
Péssima	Acima de 6

Os valores de IVA foram atribuídos conforme Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Valores de classificação da categoria e ponderação do IVA.

<i>Categoria</i>	<i>Ponderação</i>
Qualidade Ótima	$IVA \leq 2,5$
Qualidade Boa	$2,6 \leq IVA \leq 3,3$
Qualidade Regular	$3,4 \leq IVA \leq 4,5$
Qualidade Ruim	$4,6 \leq IVA \leq 6,7$
Qualidade Péssima	$IVA > 6,8$

4.10.3 Análise dos ensaios ecotoxicológicos

São descritos os procedimentos realizados para análise dos resultados dos testes de sensibilidade com substância referência e para os testes agudos e crônicos com amostras ambientais.

4.10.3.1 Testes de sensibilidade

Na análise dos resultados de sensibilidade, utilizou-se o software *Trimed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977) para a determinação da CE_{50} dos organismos *C. silvestrii*, *D. similis* e *C. xanthus*. Através da média calculada da CE_{50} , de pelo menos 5 testes foram calculados dois desvios padrão, superior e inferior à média obtida, estabelecendo assim a faixa de sensibilidade dos organismos em relação à substância-teste (KCl ou NaCl). No anexo B são apresentadas as cartas-controle geradas no laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Bioquímica da EEL-USP.

A solução utilizada para avaliação da sensibilidade para a alga *P. subcapitata* foi sulfato de zinco, conforme as recomendações da norma NBR 12648/05 (ABNT, 2005). Os resultados foram expressos em Concentração de Inibição (CIp). Foram consideradas adequadas para utilização em testes de toxicidade, as culturas que apresentaram valores de CIp dentro da faixa de sensibilidade estabelecida pelo laboratório. Para essa análise utilizou-se o software ICP (*The Inhibition Concentration Program*) versão 2.0 (1993).

4.10.3.2 Cálculo da toxicidade aguda

Os valores obtidos do controle laboratorial foram comparados aos resultados dos ensaios de toxicidade com amostras. Para isso verificou-se primeiramente a normalidade e homogeneidade dos dados, através dos testes Q-quadrado e Hartley, respectivamente (FONSECA, 1997). Quando os dados apresentavam normalidade e eram paramétricos prosseguia-se com a análise de variância (ANOVA) – teste de Dunnett e Tukey (testes

paramétricos), no entanto, quando os dados não apresentavam distribuição normal, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis. Para a interpretação dos resultados dos testes agudos utilizou-se o software “TOXSTAT 3.5”.

4.10.3.3 Cálculo da toxicidade crônica

Para a análise estatística dos testes de toxicidade crônica (sobrevivência e reprodução) do *C. xanthus* e *C. silvestrii*, os dados foram analisados quanto à normalidade e à homogeneidade. Após essa etapa, utilizou-se o mesmo tratamento aplicado aos dados de toxicidade aguda.

A partir do número de neonatos produzidos por fêmea de *C. silvestrii* foram calculadas as médias da reprodução desses organismos. Quando essas médias foram estatisticamente diferentes das observadas no grupo controle, através do teste de Dunnett e Tukey, os resultados eram expressos como tóxico. Para a interpretação dos resultados dos testes agudos utilizou-se o software “TOXSTAT 3.5”.

4.10.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas em colaboração com a Prof^a. Msc. Mirian Rodrigues Silvestre do Departamento de Matemática, Estatística e Computação, Faculdade de Ciência e Tecnologia – UNESP, Campus Presidente Prudente - SP.

A análise multivariada é uma ferramenta que permite a interpretação de uma base de dados com um número grande de variáveis por meio de um tratamento estatístico. Os métodos que usam este tipo de análise levam a resultados como: a redução do número de variáveis da base de dados; identificação de grupos de variáveis ou amostras similares; identificação das relações entre as variáveis. Foram utilizados os *softwares* SPSS 16.0 e MINITAB 13.2 e aplicados os seguintes métodos: correlação de Pearson, análise de agrupamentos (Clusters - CA) e análise dos componentes principais (PCA).

4.10.4.1 Análise de agrupamento – *cluster* (CA)

O princípio da análise de agrupamento consiste em dividir os elementos da amostra (ou população) em grupos, de forma que os elementos pertencentes a um mesmo grupo sejam similares entre si com relação às variáveis (características) que neles foram medidas, e os elementos em grupos diferentes sejam heterogêneos em relação a estas mesmas características. Em termos gerais, essa classificação pode ser entendida como um processo

para localizar semelhanças em classes inicialmente indefinidas, de modo que os indivíduos da mesma classe sejam similares entre si em algum sentido definido pelas variáveis consideradas; as classes de indivíduos similares são os agrupamentos (OMO-IRABOR, et al, 2008).

É necessário utilizar um critério para se decidir até que ponto dois elementos do conjunto de dados podem ser considerados semelhantes ou não. Para isso são utilizadas medidas que descrevam a similaridade entre os elementos amostrais de acordo com as características que neles foram medidas. Quando considerado que para cada elemento amostral têm-se p-variáveis armazenadas em um vetor, a comparação de diferentes elementos amostrais poderá ser feita através de medidas matemáticas (métricas), que possibilitem a comparação de vetores, como as medidas de distância (MINGOTI, 2005). Assim é possível calcular a distância entre os vetores, através de observações dos elementos amostrais e agrupar aqueles de menor distância (maior similaridade).

No estudo do ribeirão Limeira foi aplicada a análise de agrupamento, utilizando-se as variáveis físicas e químicas da água e os resultados de toxicidade da água e do sedimento, visando agrupar os parâmetros analisados e os trechos amostrais do ribeirão por meio da similaridade entre os pontos amostrais desse ambiente.

A medida de distância utilizada nesse tipo de agrupamento foi a Euclidiana, que mede a dissimilaridade e, logo, quanto menor os seus valores, mais similares os elementos que estão sendo comparados. Ao final é gerado um gráfico de esquemas hierárquicos denominado dendograma, onde é possível identificar grupos através de suas características semelhantes a partir de suas distâncias ou similaridades. Esse tipo de gráfico representa uma síntese dos resultados, o que ocasiona certa perda de informações. Ainda assim, o resumo da informação torna-se mais fácil de ser entendido, sendo importante para a comparação, classificação e discussão dos resultados.

4.10.4.2 Análise dos componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais foi aplicada para determinar quantos componentes principais são relevantes para esse estudo e verificar se havia correlações estatísticas entre os parâmetros analisados através dos resultados obtidos das amostras de água e das análises de toxicidade.

O objetivo principal da PCA é explicar a estrutura de variância e covariância de um vetor aleatório, composto de p-variáveis aleatórias, através da construção de combinações lineares das variáveis originais. Estas combinações lineares são chamadas de componentes

principais e são não correlacionadas entre si. Em geral deseja-se obter “redução do número de variáveis a serem avaliadas e interpretação das combinações lineares construídas” (MINGOTI, 2005).

Caso seja realizada a transformação do vetor aleatório, as componentes deverão ser determinadas utilizando-se a matriz de covariância relativa ao vetor transformado. Neste estudo foi realizada uma transformação, conhecida como padronização (z). Para a padronização das variáveis do vetor utilizou as respectivas médias e desvios padrões, onde se gerou novas variáveis centradas em zero e com variâncias iguais a 1. A padronização tende a minimizar a influência da variância entre os parâmetros analisados, elimina a interferência das diferentes unidades de medida nas análises e, desta forma, possibilita a comparação entre as variações dos parâmetros (SIMEONOV et al., 2004).

A padronização foi feita para todos os parâmetros, conforme a equação:

$$z = (x-u)/S$$

onde:

x é igual ao dado bruto do parâmetro em determinado ponto

u é a média dos valores

S é o desvio padrão

O cálculo foi realizado com base na matriz de correlação dos componentes principais, cujos autovalores sejam maiores que 1. A análise de agrupamento foi utilizada para a detecção da similaridade espacial e para o agrupamento dos pontos amostrais do ribeirão Limeira.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ribeirão Limeira se encontra na região do Vale do Paraíba, que está localizado entre as serras da Mantiqueira e do Mar. Área de importante desenvolvimento econômico e tecnológico do país. Esse ribeirão é um importante tributário do rio Paraíba do Sul e suas águas banham os municípios de Piquete e Lorena, em áreas urbanas, peri-urbanas e rurais. Recebe influências antrópicas ao longo de seu percurso, como atividades agropastoris, piscicultura, silvicultura, especialmente a de eucalipto, outras monoculturas, além de receber efluentes das indústrias, situadas em sua bacia (PAIVA, 2009).

Para se conhecer melhor a qualidade desse ecossistema aquático, seis campanhas foram realizadas e sete pontos amostrados ao longo do ribeirão, por um período de 1 ano. Três coletas realizadas durante o período de baixa precipitação (seca) e as outras três no período de alta precipitação (chuvoso).

Os valores mensais dos índices de precipitação, adquiridos no Instituto de Controle do Espaço Aéreo, Divisão de Pesquisa (Seção de Climatologia) do Departamento de Ciência e Tecnologia Aeroespacial (DCTA), caracterizaram os períodos seco e chuvoso nesse estudo. Foram calculadas as médias dos três meses referentes ao período seco (set/07, mai/08 e jul/08) e os três meses do período chuvoso (nov/07, fev/08 e mar/08) com o objetivo de se verificar a influência sazonal nos parâmetros físicos e químicos do ribeirão Limeira (Figura 5.1).

As estações chuvosas têm uma forte influência sobre diversos parâmetros físicos e químicos devido à desestabilização do sistema, pelo aumento no volume e velocidade da água, durante esta estação (CARNEIRO et al., 2009). No caso do ribeirão em estudo, a precipitação influenciou em alguns parâmetros, como por exemplo, turbidez, condutividade, sólidos totais dissolvidos (STD) e dureza. Ao mesmo tempo, outros parâmetros não apresentaram variações sazonais significativas, sendo mais significativa a variação espacial (entre os pontos amostrais) ao longo do ribeirão.

Figura 5.1 – Dados pluviométricos da região de Guaratinguetá/Lorena no ano de 2007 e 2008 (Instituto de Controle do Espaço Aéreo, 2010).

5.1 Parâmetros físicos e químicos da água do ribeirão Limeira

Os parâmetros físicos e químicos do ribeirão Limeira foram analisados e comparados com a atual Resolução CONAMA 357/05 (Tabela 5.1). Conforme o Decreto Estadual nº 10.755 de 1977, o ribeirão Limeira enquadra-se na Classe I até a confluência com o ribeirão do Ronco e, a partir desse local, como Classe II.

Tabela 5.1 - Valores de parâmetros conforme classificação do CONAMA 357/05 para águas de Classe I e II.

Parâmetro	Unidade	Classe I	Classe II
pH	U. pH	entre 6,0 e 9,0	entre 6,0 e 9,0
Temp. água	°C	***	***
Condutividade	µS/cm	***	***
STD	mg.L ⁻¹	até 500	até 500
OD	mg.L ⁻¹ O ₂	maior que 6,0	maior que 5,0
Nitrato	mg.L ⁻¹ N	até 10	até 10
Nitrito	mg.L ⁻¹ N	até 1,0	até 1,0
Fósforo	mg.L ⁻¹ P	até 0,1	até 0,1
Dureza	mg.L ⁻¹		
	CaCO ₃	***	***
Turbidez	UNT	até 40	até 100
DBO	mg.L ⁻¹ O ₂	até 3,0	até 5,0
DQO	mg.L ⁻¹ O ₂	***	***
Cor	UC	***	***
Colif. Fecais	NMP/100mL	até 200	até 1000

*** Não são citados os valores de referência na Resolução

A classificação das águas doces, os limites estabelecidos para diversos parâmetros e os diversos usos da água são contemplados na Resolução CONAMA 357/05. Para a Classe I, as águas podem ser destinadas ao abastecimento humano (após tratamento simplificado), à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato primário (natação, esqui aquático e mergulho), à irrigação de hortaliças, que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à proteção das comunidades aquáticas em terras indígenas. As águas de Classe II podem ser destinadas ao abastecimento humano (após tratamento convencional); à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; à aquicultura e a atividade de pesca.

O ribeirão Limeira apresentou valores de pH próximo à neutralidade, com valores mínimos de 6,2 (jul/08) e máximo de 7,6 (nov/07) (Figura 5.2), demonstrando que esse parâmetro sempre esteve dentro dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 para águas de Classe I e II.

A microbacia hidrogeológica de Lorena, inserida no trecho da bacia de Taubaté, tem predomínio de sedimentos de origem fluvial. Áreas com esse tipo de sedimento apresentam águas com pH ácido-neutro e baixa salinidade (VIDAL; KIANG, 2004). O pH também influencia na dissolução de rochas, afetando assim a concentração de diversos íons, como o cálcio e o magnésio (mais abundantes em águas doces em relação a outros íons), sendo estes os principais íons na composição da dureza da água (RAND et al., 1995; TUNDISI; MATSUMURA TUNDISI, 2008).

Os valores de condutividade mais elevados, observados no ribeirão Limeira, foram nos pontos P0 (35 – 69 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$), ocorrendo uma elevação no P1 (48 – 82 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$), seguido por um decréscimo no ponto P2 (41 – 61 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$), ainda sob influência do P1. Os outros pontos, sentido à foz, apresentaram decréscimos.

O ponto P1 revelou correlação inversa entre os valores de pH (6,5 - 7,0) e de condutividade (48 - 83 $\mu\text{S}/\text{cm}$) (Figuras 5.2 e 5.3). Carvalho e colaboradores (2004) verificaram situação semelhante no ribeirão Ubá - MG, onde o pH apresentou-se entre 6,5 e 7,5 e a condutividade se mostrou mais alta. No presente estudo, nos demais pontos, sentido à foz, os valores de pH aumentaram e os de condutividade diminuíram em relação ao ponto P1, confirmando uma relação inversa entre os dois parâmetros.

Figura 5.2 – Valores de pH da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08

Figura 5.3 – Valores de condutividade da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08

Os maiores valores observados no ribeirão para o parâmetro de condutividade foram durante o período chuvoso, de novembro a março. As variações sazonais para este parâmetro podem ser atribuídas ao carreamento de íons resultantes do aumento da precipitação (estação chuvosa).

Assim como a condutividade, a dureza apresentou um decréscimo em seus valores, no sentido da nascente à foz e, sem muitas variações entre os meses amostrados (Figura 5.4). O ponto P1 se destacou com os resultados mais elevados (média 30,4 mg.L⁻¹ CaCO₃) em relação à dureza.

Os STD estiveram na faixa de 16 a 41 ppm em todo o ribeirão Limeira. O ponto amostral em que este parâmetro se revelou mais alto foi o ponto P1 (média de 34 mg.L⁻¹). Este parâmetro demonstrou também comportamento semelhante aos da dureza e condutividade, onde os três primeiros pontos amostrais (P0, P1 e P2), apresentaram os maiores valores durante todas as amostragens, seguidos por um declínio a partir do ponto P3 até a foz (Figura 5.5).

Figura 5.4 – Valores de dureza da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Figura 5.5 – Valores de sólidos totais dissolvidos da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Conforme o distanciamento da nascente, o aumento no volume da água gera diluição de íons, justificando a diminuição da condutividade e dureza, em direção à foz. Além disso, existe uma correlação entre a condutividade da água e a concentração de diversos íons, sendo o cálcio um dos componentes que apresentam maior correlação com a condutividade (MARGALEF, 1993). Este fato pode explicar a diminuição da dureza juntamente com a condutividade. Haja vista que mais de 50% dos sólidos totais dissolvidos são compostos de íons bicarbonatos, cloretos e sulfatos (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008), o que pode explicar a correlação positiva entre os três parâmetros (STD, dureza e condutividade) no ribeirão Limeira.

Considerando os valores de pH, condutividade, dureza e sólidos totais dissolvidos verificados durante toda avaliação do ribeirão, tem-se os primeiros indícios de possíveis fontes de poluição, que influenciaram os parâmetros analisados no ponto P1, favorecendo o acréscimo de íons dissolvidos na água e, conseqüentemente, alterando os valores desses parâmetros em relação aos outros pontos amostrais. Tais valores podem estar relacionados à proximidade deste ponto amostral a uma antiga área utilizada para descarte de resíduos sólidos, de composição desconhecida, por uma indústria de materiais bélicos e explosivos. Segundo Tundisi e Matsumura-Tundisi (2008), diversos impactos causados em bacias hidrográficas podem ocorrer através da entrada de possíveis poluentes por carreamento.

Barreto-Rodrigues e colaboradores (2007) ao caracterizarem o efluente industrial da produção do explosivo Trinitrotolueno (TNT), verificaram que alguns parâmetros físicos e químicos como sólidos totais, nitrogênio orgânico, DQO e sulfatos, apresentaram-se em níveis acima daqueles permitidos pelos critérios de lançamento em corpo receptor. Ryon e colaboradores (1984) também relataram que a maior fonte de poluição na manufatura do TNT para os corpos receptores são as águas residuárias, que contém isômeros do TNT, carbonato, sulfato e sulfito de sódio, além de outros agentes químicos complexos, aumentando assim a DQO, a carga de sólidos (dissolvidos e suspensos), os níveis de nitrogênio (nitratos, nitritos e nitrogênio total), além dos níveis de sulfato, nos corpos receptores desses efluentes.

O parâmetro temperatura da água variou conforme a sazonalidade, na época de seca as temperaturas são mais amenas em relação ao período de chuvas, onde ocorrem as temperaturas mais altas (Figura 5.6). Na região do ribeirão Limeira, os menores valores foram verificados nos meses de setembro/07 e julho/08 no ponto P1 (18,5 e 15,7°C, respectivamente) e os mais altos nos meses de fevereiro/08 e março/08 no ponto P6 (26,4 e 26,2°C, respectivamente).

Quanto ao oxigênio dissolvido, este apresentou uma redução moderada no ponto P1, em relação aos outros pontos, porém nunca abaixo de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$, voltando a aumentar a partir do P2. Em todo o período amostral o OD encontrou-se dentro dos padrões e, segundo o CONAMA 357/05, o valor mínimo de OD para águas de Classe II é de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$. Os teores mais elevados de OD ($7,9$ a $9,0 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$) ocorreram em épocas com temperaturas mais baixas (set/07, mai/08 e jul/08). Nos períodos de elevadas temperaturas (nov/07, fev/08 e mar/08) o OD demonstrou as menores concentrações, variando entre $6,2$ e $7,6 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$ (Figura 5.7).

Figura 5.6 - Valores de temperatura da água do ribeirão Limeira set/07 a jul/08.

Figura 5.7 – Valores de oxigênio dissolvido das águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

O rio Paraíba do Sul, conforme o relatório da CETESB (2008), apresentou valores médios de OD de $4,4 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$ (entre 2003 e 2008) no trecho próximo à região da foz do ribeirão Limeira. Isso demonstra que a qualidade da água desse ribeirão, em relação ao OD, pode ser considerada melhor, em comparação ao rio em que ele deságua.

Marques e colaboradores (2003) também constataram no rio Piraquara, região metropolitana de Curitiba - PR, que os baixos valores de OD se apresentavam inversamente relacionados aos da temperatura da água. Havendo aumento na solubilidade do OD quando a temperatura diminui e interferência no grau de saturação desse gás quando são verificadas altas temperaturas.

Para os parâmetros relacionados com a matéria orgânica, os resultados de DBO foram inferiores a $2,0 \text{ mg.L}^{-1} \text{O}_2$, com exceção do mês de maio, no ponto P6, onde o valor foi de $4 \text{ mg.L}^{-1} \text{O}_2$ (Figura 5.8).

O comportamento da variável turbidez ao longo de todo o ribeirão foi influenciado pelo período de alta precipitação, onde se observou os maiores valores, 26,3 e 10,9 NTU para os meses de nov/07 e fev/08, respectivamente, ambos no ponto P5. Enquanto no

período seco os valores foram próximos de 5 UNT. No entanto, os valores de turbidez se mantiveram dentro dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 para águas de Classe I (até 40 NTU) (Figura 5.9).

Figura 5.8 – Valores da demanda bioquímica de oxigênio água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Figura 5.9 – Valores de turbidez da água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Pelos valores obtidos somente para DBO e comparando valores referenciais do CONAMA 357/05, o ribeirão Limeira poderia ter suas águas enquadradas na Classe I. Segundo a CETESB (2008), águas com valores de DBO inferiores a $4,0 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$ são consideradas “mais limpas” e águas com teores acima de $10 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$ são definidas como “mais poluídas”. Porém não é recomendado o uso apenas da DBO como parâmetro de poluição por matéria orgânica, são também, parâmetros importantes DQO, OD, carbono orgânico, dentre outros, como indicadores da degradação dos corpos d’água.

A turbidez da água é normalmente mais elevada no período chuvoso em relação à estação de baixa precipitação. Dois fatores podem favorecer essa realidade: a contribuição de partículas externas, proveniente da área da bacia de drenagem do rio e ressuspensão dos materiais particulados depositados no sedimento, devido ao aumento no volume de água e velocidade da corrente, aumentando as partículas suspensas na água (BELLUTA et al., 2009; PANHOTA & BIANCHINE, 2003).

Observou-se também a influência dos sólidos totais no ponto P5 com um aumento da turbidez (26,3 NTU), quando comparado aos demais meses, provavelmente, devido à ausência de vegetação ciliar neste ponto e ao início das chuvas, favorecendo a erosão do solo e influenciando no carreamento de materiais particulados para o ambiente aquático.

O uso inadequado do solo das bacias hidrográficas, principalmente o desmatamento, causa sérios problemas aos rios, como o aumento da turbidez como uma dessas consequências. Foi possível verificar essa situação em todo o curso do ribeirão Limeira, onde os pontos mais próximos à nascente (P0, P1 e P2) ainda apresentam áreas com vegetação ciliar e os menores valores de turbidez. Após o ponto P3, a ocupação e o desmatamento são responsáveis por maiores áreas erodidas e assoreadas, refletindo nos valores de turbidez, principalmente em períodos de maior precipitação. Situação semelhante foi verificada no ribeirão Ubá, Minas Gerais (CARVALHO et al., 2004) e no rio Gravataí, Rio Grande do Sul (SALOMONI et al., 2007), onde o aumento da turbidez se deu no sentido da nascente à foz.

Os coliformes termotolerantes são bons indicadores biológicos de contaminação, do ponto de vista sanitário, indicando a potencialidade do vetor água transmitir doenças, tais como: disenterias, cólera, verminoses, dentre outras. Durante o período de amostragens foram detectados diversos pontos com valores acima dos limites legais estabelecidos para coliformes termotolerantes (Figura 5.10). Estes resultados podem ser explicados pelo fato do ribeirão não estar isolado das pastagens ao redor e o gado ter acesso as suas águas. Diversas propriedades na região do ribeirão Limeira possuem atividades agropecuárias, como pastagens e criação de porcos, cujos efluentes gerados também podem contribuir para o incremento da matéria orgânica e coliformes termotolerantes desse ambiente aquático. Outra causa de contaminação seria, possivelmente, por contaminação dos despejos de esgoto doméstico *in natura* ao longo do ribeirão, originados de esgoto clandestino e fossas sépticas.

Tanto na estação chuvosa, quanto no período seco, a DBO e os valores de coliformes termotolerantes ($>10.000\text{NMP}/100\text{ mL}$) sempre estiveram mais elevados no ponto P6, em relação aos outros pontos.

A Resolução CONAMA 357/05 determina que os valores de coliformes termotolerantes para águas de Classe I sejam de no máximo 200 NMP/100 mL e para a Classe II, no máximo 1000 NMP/100 mL. Segundo o CONAMA 274/00, os coliformes termotolerantes estão presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos (de sangue quente), e podem ser encontrados no ambiente (solo e água, por exemplo) indicando que houve contaminação por fezes desses animais.

Figura 5.10 – Valores de coliformes termotolerantes nas águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Esses resultados refletem, principalmente, a poluição orgânica nos pontos, pois os valores para as concentrações de coliformes termotolerantes, excedem a concentração máxima, recomendada para águas apropriadas para a vida aquática, para fins agrícolas e sociais da população local.

Devido à proximidade do ponto P6 com a foz, supostamente este ribeirão poderia ser influenciado pelas águas do rio Paraíba do Sul, principalmente com relação à DBO e coliformes termotolerantes. No entanto, o relatório da CETESB (2008) revela que a média dos valores de $DBO_{5,20}$ ($2,2 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$) e de coliformes termotolerantes (6.400 NMP/100mL) para o ano de 2008 são menores no rio Paraíba do Sul que os valores verificados no ribeirão durante o mesmo período, descartando assim a possibilidade de influência do rio Paraíba do Sul no ribeirão Limeira.

Belluta e colaboradores (2009) verificaram valores de DBO entre 1 e $4 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$ no córrego Cintra, em Botucatu - SP. Esse ambiente apresenta boa capacidade de depuração, pois mostrou diminuição gradativa ao longo do seu percurso para esse parâmetro. A DBO do ribeirão Limeira e do córrego Cintra demonstram que esses ambientes receberam descargas pontuais, mas não a ponto de serem classificados como altamente impactados, como no caso do ribeirão Ubá - MG, com valores em torno de $268 \text{ mg.L}^{-1}\text{O}_2$ de DBO, rio que está enquadrado na Classe III, segundo o CONAMA 357/05 (CARVALHO, 2004).

Quando há um notável incremento de matéria orgânica no ambiente, situação característica de despejo de águas residuárias *in natura* há um reflexo nos valores de DBO

e de coliformes termotolerantes, podendo haver aumento de 10 até 100 vezes mais que o permitido nesses parâmetros (SALOMONI et al., 2007).

Para alguns pontos amostrais, os valores da demanda química de oxigênio (DQO) se apresentaram inferiores ao limite de detecção. Os valores mais elevados de DQO observados no ribeirão durante todo o estudo foi de 44,7 mg.L⁻¹ em nov/07 (ponto P2) e 30,6 mg.L⁻¹ em fev/08 (ponto P0) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Valores da demanda química de oxigênio (DQO) expressos em mg.L⁻¹ nas águas do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Ponto	nov/07	fev/08	mar/08	mai/08	jul/08
P0	6,3	30,6	11,9	ILD	2,5
P1	9,4	ILD	18,8	5,8	4,4
P2	44,7	ILD	ILD	5,6	5,4
P3	6,9	ILD	3,1	6,5	9,6
P4	4,4	16,9	ILD	5,0	5,5
P5	6,3	ILD	ILD	6,0	4,3
P6	11,3	ILD	ILD	12,5	7,5

ILD – Inferior ao limite de detecção.

O limite desse parâmetro não é contemplado na Resolução CONAMA 357/05. A CETESB (2006) define a DQO como a quantidade de oxigênio necessária para oxidação da matéria orgânica através de um agente químico. Os valores da DQO normalmente são maiores que os da DBO_{5,20}.

O aumento da concentração de DQO num corpo d'água deve-se principalmente a despejos de origem industrial. Através dos valores de DQO e DBO é possível saber a fração predominante de matéria orgânica e sua biodegradabilidade na água. Quando os valores de DQO são baixos e os de DBO altos (acima de 1/3 em relação à DQO) a fração biodegradável é alta. E quando essa relação é inversa (alta DQO e baixa DBO), demonstrando uma alta relação entre esses parâmetros, indicam quantidades significativas de matéria orgânica refratária (não biodegradável) (SPERLING, 1996).

Juntamente com os resultados elevados de OD (em média acima de 7,5 mg.L⁻¹ de O₂), pode-se sugerir que a entrada de material orgânico biodegradável nesse ribeirão é baixa, sendo prontamente degradada pelos organismos decompositores presentes no ambiente, não alterando significativamente os resultados do OD e refletindo nos baixos valores de DBO. Através dos valores de DQO observados no ribeirão Limeira, sugere-se que a matéria orgânica predominante nesse ambiente é de origem não biodegradável. Os valores de fósforo total (P total), nitrito e nitrato, verificados nesse ribeirão, também

corroboram com a hipótese de que esse ambiente não recebe altas cargas orgânicas a ponto de afetar a qualidade da água e causar poluição (Tabela 5.3).

Segundo Viola (2008), as diferentes formas de medir matéria orgânica nos corpos d'água permitiram caracterizar a bacia do rio Doce, em Minas Gerais, como refratária ou biodegradável. Para a realização desse estudo sobre os constituintes orgânicos presentes nas águas da bacia foram selecionados dez pontos de amostragem que abrangeram todas as Unidades de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos da bacia (UPGRH's).

Nesse estudo, os elevados valores de DQO observados e os de DBO sugeriram que os corpos de água não apresentam boas condições, devido à predominância de matéria orgânica refratária. Os principais rios dessa bacia que indicaram essa situação foram o Rio Piracicaba à jusante de Coronel Fabriciano (RD034) e o Rio Caratinga em Barra do Cuieté (RD057), corroborando com o esperado para as regiões que concentram atividades industriais e agrícolas na bacia, respectivamente.

Carvalho e colaboradores (2004) avaliaram o ribeirão Ubá – MG e os efluentes de diversas indústrias dessa bacia constataram que os elevados valores de DQO juntamente aos de DBO, em amostras dos efluentes e de água desse ribeirão, indicam que a contribuição dos efluentes industriais para a deterioração desse curso d'água é marcante.

Kühl e colaboradores (2010) constataram que rios em perímetros urbanos estão mais sujeitos a poluição orgânica, refletindo em altos valores de condutividade, fósforo total, DBO e nitrogênio, do que em rios de área rural. Atribuíram os impactos aos ecossistemas aquáticos ao crescimento urbano, à coleta de esgoto irregular, à instalação inadequada de galerias pluviais, ao desmatamento de matas ciliares e à descarga de resíduos sólidos urbanos.

A bacia do ribeirão Limeira, em sua maior porção, encontra-se em área peri-urbana e cerca de 40% dos efluentes domésticos gerados nessa bacia são descartados diretamente no ribeirão e os outros 60% descartados em fossas (negra e séptica). Os principais impactos gerados em rios de zona rural são ocasionados pelo aumento das áreas de plantações contribuindo para o desmatamento, lixiviação, erosão e pelos efluentes gerados pela agricultura (fertilizantes e defensivos agrícolas).

Os parâmetros da água avaliados para o ribeirão Limeira com os valores médios, faixa de variação (mínima e máxima) e desvio padrão são apresentados na Tabela 5.3. Dessa forma, é possível observar a variação espacial dos parâmetros ao longo do ribeirão Limeira através das variáveis por ponto amostral.

Tabela 5.3 - Variação mínima e máxima (faixa), média e desvio padrão das variáveis físico-químicas da água nos pontos amostrados (P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6) no ribeirão Limeira, período de setembro de 2007 a julho de 2008.

Parâmetros	Limites *		P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
pH	entre 6 - 9	Faixa	6,43 - 7,37	6,5 - 7,00	6,20 - 7,11	6,50 - 7,36	6,82 - 7,47	6,81 - 7,48	6,74 - 7,57
		média	6,95	6,76	6,76	6,94	7,02	7,04	7,03
		DV	0,33	0,18	0,30	0,30	0,41	0,31	0,36
Cond, ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	---	faixa	36,00 - 68,00	47,00 - 83,00	43,00 - 62,00	35,00 - 48,00	29,00 - 40,00	26,00 - 40,00	29,00 - 64,00
		média	48,37	64,73	52,15	41,56	34,98	33,15	42,31
		DV	12,69	15,31	8,16	4,95	4,21	4,50	12,15
OD ($\text{mg.L}^{-1}\text{O}_2$)	> 6	faixa	7,02 - 8,94	5,42 - 9,04	6,47 - 8,17	6,92 - 8,46	6,19 - 9,42	5,99 - 9,57	5,96 - 9,62
		média	7,9	7,1	7,3	7,3	7,9	8,1	8,0
		DV	0,77	1,40	0,68	0,84	1,29	1,41	1,48
Dureza ($\text{mg.L}^{-1}\text{CaCO}_3$)	---	faixa	20,13 - 33,63	36,32 - 22,06	24,38 - 19,46	18,57 - 16,89	16,35 - 13,43	13,27 - 17,65	13,44 - 15,95
		média	25,04	30,40	22,15	17,57	14,73	15,25	14,60
		DV	4,77	5,99	2,41	0,76	1,35	1,57	0,83
P total (mg.L^{-1})	até 0,1	faixa	0,056-0,063	0,056-0,065	0,056-0,063	0,064-0,078	0,062-0,065	0,063-0,067	0,059-0,070
		média	0,059	0,061	0,061	0,065	0,064	0,064	0,065
		DV	0,003	0,003	0,003	0,006	0,002	0,002	0,003
Turbidez (UNT)	até 40	faixa	0,44 - 1,71	0,55 - 5,89	1,32 - 7,54	6,46 - 9,13	1,98 - 10,9	1,32 - 26,3	2,2 - 21,7
		média	1,01	3,99	5,55	7,33	7,21	10,29	9,62
		DV	0,49	2,17	2,55	1,24	3,46	9,58	7,38
NO_2^- ($\text{mg.L}^{-1}\text{N}$)	até 1,0	faixa	0,001 - 0,020	0,001 - 0,070	0,001 - 0,040	0,001 - 0,070	0,001 - 0,040	0,001 - 0,020	0,002 - 0,030
		média	0,008	0,021	0,015	0,026	0,012	0,008	0,011
		DV	0,009	0,033	0,016	0,032	0,016	0,007	0,011
NO_3^- ($\text{mg.L}^{-1}\text{N}$)	até 10	faixa	0,010 - 0,053	0,004 - 0,071	0,019 - 0,117	0,012 - 0,092	0,001 - 0,069	0,006 - 0,071	0,004 - 0,073
		média	0,081	0,111	0,155	0,113	0,100	0,093	0,107
		DV	0,023	0,029	0,052	0,040	0,030	0,031	0,031
DQO ($\text{mg.L}^{-1}\text{O}_2$)	---	faixa	2,54 - 30,65	4,35 - 18,75	5,40 - 44,69	3,13 - 9,55	4,38 - 16,88	4,30 - 6,26	7,50 - 12,45
		média	12,83	9,57	18,56	6,52	7,94	5,52	10,40
		DV	12,48	6,47	22,63	2,63	5,98	1,06	2,58
DBO ($\text{mg.L}^{-1}\text{O}_2$)	até 3,0	faixa	0,22 - 1,06	0,22 - 2,12	0,03 - 0,77	0,1 - 1,94	0,19 - 1,14	0,32 - 0,9	0,86 - 4,06
		média	0,60	0,74	0,27	0,81	0,56	0,62	1,70
		DV	0,31	0,72	0,27	0,71	0,33	0,23	1,26
STD (ppm)	até 500	Faixa	16,00 - 34,00	27,00 - 41,00	21,00 - 31,00	17,00 - 36,00	13,00 - 21,00	13,00 - 31,00	15,00 - 34,00
		Média	24,8	34,0	27,67	23,17	17,33	18,83	21,0
		DV	7,19	6,07	4,46	6,62	2,88	6,37	6,78

* Limites segundo o CONAMA 357/05 Classe I e II

5.2 Metais na água do ribeirão Limeira

Os metais uma vez introduzidos em águas naturais, tem sua disponibilidade e toxicidade afetadas por vários fatores físico-químicos, tais como solubilidade, valência, a composição mineral da massa de água, pH, temperatura, oxigênio dissolvido, agentes complexantes entre outros fatores. Os metais analisados para as amostras de água do ribeirão Limeira, incluindo aqueles que podem apresentar toxicidade, foram: Cr, Mg, Cu, Mn, Zn, Fe, Ni, Cd, Pb e Ag. Os valores limites desses elementos estabelecidos na Resolução CONAMA 357/05 para águas de Classe I e II estão em destaque na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Limites para valores de metais (mg.L^{-1}) na água segundo o CONAMA 357/05 Classe I e II.

Parâmetros	Limites*
Zn	0,18
Fe	0,3
Pb	0,01
Mn	0,1
Cd	0,001

Os elementos Mn, Fe, Cd e Pb encontrados na água do ribeirão Limeira apresentaram valores acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 e os demais elementos se enquadraram nos padrões desta resolução (Tabela 5.5). Valores 20 vezes mais altos que o permitido foram constatados para o manganês (Mn) no ponto P3 ($2,0 \text{ mg.L}^{-1}$), em set/07. O elemento ferro (Fe) em mar/08, ponto P6, apresentou valor de $0,336 \text{ mg.L}^{-1}$. Outro metal analisado que merece destaque é o cádmio. Este apresentou níveis até 27 vezes acima do permitido no ponto P1 ($0,03 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$) nos meses de fev/08 e mai/08, respectivamente, e no ponto P3 ($0,03 \text{ mg.L}^{-1}$). Os resultados para o Pb estiveram fora dos padrões estabelecidos ($> 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$), nos meses de set/07 e nov/07, em todos os pontos amostrais, com exceção do P0 (set/07) que se manteve nos limites indicados pelo CONAMA 357/05.

Segundo a USEPA (1976), o Cd é considerado cancerígeno e sua entrada no ambiente natural pode ser causada pelo uso de defensivos agrícolas e fertilizantes fosfatados, pela geração de lodo de efluentes domésticos, além de fontes industriais, como efluentes de galvanoplastia, de liga para proteção contra corrosão e manufatura de baterias e pilhas.

O Fe é um elemento encontrado abundantemente na crosta terrestre principalmente nas rochas e no solo, e por isso pode ser encontrado facilmente nos ambientes aquáticos. Em pequenas quantidades os elementos Fe e Mn são essenciais aos seres vivos, porém em altas concentrações podem se tornar tóxicos e prejudicar as funções biológicas

(HAMILTON; HOFFMAN, 2003; RAND, 1995). No caso do ribeirão Limeira, os níveis destes metais revelaram valores acima dos permitidos para a classe na qual este se encontra (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Valores de metais (expressos em mg.L⁻¹) encontrados na água do ribeirão Limeira no período de set/07 a jul/08.

Mg	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Fe	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	4,00	3,2	0,163	0,204	0,173	0,214	P0	0,25	0,35	<0,01	0,033	0,027	0,028
P1	4,04	3,28	0,182	0,238	0,202	0,232	P1	0,39	1,78	0,039	0,087	0,101	0,117
P2	2,67	2,54	0,161	0,188	0,157	0,169	P2	0,36	0,85	0,12	0,25	0,065	0,086
P3	1,59	3,48	0,143	0,153	0,135	0,134	P3	1,06	2,637	0,15	0,165	0,119	0,128
P4	1,14	1,58	0,111	0,116	0,086	0,087	P4	0,69	1,33	0,17	0,176	0,126	0,088
P5	1,13	1,62	0,104	0,095	0,079	0,081	P5	0,78	2,34	0,14	0,043	0,112	0,083
P6	1,28	1,52	0,1	0,098	0,078	0,082	P6	0,78	2,37	0,14	0,336	0,112	0,091
Zn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Cd	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	0,01	0,09	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P0	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
P1	0,06	0,075	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P1	<0,0005	<0,0005	0,0278	<0,0005	0,0203	<0,0005
P2	0,05	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P2	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
P3	0,01	0,089	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P3	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	0,0272	<0,0005
P4	0,02	0,092	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P4	0,00035	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
P5	0,03	0,083	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P5	0,00014	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
P6	0,02	0,089	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	P6	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
Mn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Pb	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P0	0,0087	0,033	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P1	0,07	0,45	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P1	0,012	0,02	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P2	<0,05	0,11	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P2	0,025	0,03	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P3	2,00	0,16	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P3	0,016	0,042	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P4	0,21	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P4	0,027	0,016	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P5	0,16	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P5	0,014	0,027	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P6	0,09	0,1	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	P6	0,014	0,025	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ag	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08							
P0	<0,0001	0,00038	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P1	<0,0001	0,00034	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P2	<0,0001	0,00034	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P3	<0,0001	0,04	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P4	<0,0001	0,00028	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P5	<0,0001	0,00028	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							
P6	<0,0001	0,0021	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001							

O Pb não apresenta função biológica conhecida e é geralmente tóxico para uma grande variedade de organismos. Esse elemento se encontra naturalmente na crosta terrestre numa concentração média de 12,5 mg.Kg⁻¹. Nos rios, a carga total de metais-traço depende das características geológicas e ecológicas da bacia de drenagem e do tipo de atividade humana estabelecida. De acordo com Lenzi, et al., 2009; Moore; Ramamoorthy (1984); e, WHO (1994), o chumbo é proveniente principalmente dos aditivos utilizados na gasolina e outros combustíveis derivados do petróleo. Contribuem ainda para a entrada desse metal no ambiente as atividades de mineração e os processos industriais.

O ribeirão Limeira possui muitas plantações até sua foz e recebe influências de algumas indústrias da região (PAIVA, 2009), porém não foi possível identificar uma fonte

de contribuição pontual de Pb, mas sugere-se que possíveis fontes difusas possam ser as responsáveis pela presença desse metal no ambiente aquático.

Não foram inseridos na Tabela 5.5, os elementos com valores inferiores ao limite de detecção do método, como Ag ($<0,0001 \text{ mg.L}^{-1}$), Cu ($<0,02 \text{ mg.L}^{-1}$), Cr ($<0,02 \text{ mg.L}^{-1}$), Ni ($<0,03 \text{ mg.L}^{-1}$).

5.3 Parâmetros físicos e químicos do sedimento

A bacia hidrográfica do ribeirão Limeira apresenta uma diversidade geológica significativa por se encontrar no limite entre rochas cristalinas de idade pré-cambriana e a bacia sedimentar de Taubaté, de idade cenozóica. As rochas encontradas nos domínios cristalinos são migmatitos, gnaisses, xistos e granitos (PAIVA, 2009). Em termos espaciais, o substrato geológico que ocupa maior parte da bacia são migmatitos heterogêneos, constituído por litotipos como biotita, gnaiss, xistos e anfíbolitos. Essas formações contribuem para a constituição mineralógica e geoquímica da bacia, através de eventual disponibilidade de elementos químicos como cálcio, ferro, magnésio e em menores quantidades alumínio, sódio e potássio, podendo influenciar também a composição da água e sedimento do ambiente (SLATER, 1954).

Ao avaliar o sedimento, análises físico-químicas foram realizadas simultaneamente às análises da água. O sedimento do ribeirão Limeira foi analisado e classificado conforme a concentração de matéria orgânica, granulometria, metais totais e biodisponíveis e fósforo total.

Nas figuras 5.11 e 5.12 são apresentados os resultados da granulometria de cada ponto amostral. Esse parâmetro foi determinado em amostras do mês de fevereiro/08 período de elevada precipitação e março/08 período de estiagem. Os resultados foram expressos em porcentagem e as partículas classificadas conforme o tamanho: areia grossa ($> 0,2$ e 2 mm), areia fina ($>0,07$ e $<0,2 \text{ mm}$) e silte + argila (inferior a $0,07 \text{ mm}$).

O sedimento do ribeirão Limeira apresentou predominância de frações arenosas (areia grossa e fina), com composição acima de 70%, em todos os pontos amostrais no mês de fevereiro e 100% de areia (grossa e fina) no mês de março para todos os pontos. No período de alta precipitação, fevereiro de 2008, verificou-se a fração silte-argilosa entre 5 e 27% nos pontos amostrais. As maiores concentrações foram no ponto P1 (24%), P2 (24%) e o P3 (27%), em relação aos outros pontos (Figura 5.11).

Figura 5.11 – Composição granulométrica dos pontos amostrais no período de elevada precipitação, mês de fevereiro de 2008.

As rochas sedimentares dessa bacia são representadas por sedimento inconsolidados, como areia e argila, depositados próximos aos principais cursos d'água (PAIVA, 2009). No período de chuvas, partículas de argila provenientes das rochas sedimentares foram carregadas para o ecossistema aquático, influenciando assim a composição do sedimento. Essa influência foi evidenciada, principalmente, nos pontos P1, P2 e P3.

No período seco, verificou-se a característica arenosa para o sedimento, onde a fração de areia grossa foi a mais representativa, seguida pela fração de areia fina, não ocorrendo a presença de argila + silte em nenhum dos pontos amostrais (Figura 5.12).

Figura 5.12 – Composição granulométrica dos pontos amostrais no período de estiagem, mês de março de 2008.

O sedimento pode ser classificado como orgânico ou inorgânico, dependendo do teor de matéria orgânica que contém. Para ser considerado orgânico deve conter mais de 10% de matéria orgânica em seu peso seco, caso contrário será considerado inorgânico (ESTEVES, 1998). No ribeirão Limeira a média de cada ponto para esse parâmetro mostra que o sedimento apresentou característica inorgânica no P0 (7,1%), P2 (7,1%), P3 (7,3%), P4 (7,0%), P5 (8,0%) e P6 (7,5%), além de não ocorrer variações significativas entre os pontos (Figura 5.13).

Barbosa (2000) ao estudar o ribeirão das Cruzes e o rio Monjolinho (São Carlos - SP) verificou que esses ambientes também apresentaram baixa concentração de MO (0,6 a 8,2% e, 2,3 a 3,3%, respectivamente). Esses resultados foram atribuídos ao tipo de ambiente, pois se trata de um ambiente lótico, em que o fluxo transporta a matéria orgânica para locais de remanso com menores velocidades, desfavorecendo seu acúmulo na calha do rio.

Figura 5.13 - Matéria orgânica no sedimento do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

Outro estudo demonstrou situação semelhante, onde os fatores de transporte e carregamento causados em rios dificultaram a sedimentação e retenção de matéria orgânica no sedimento. A bacia do rio Piracicaba, estudada no ano de 2000, revelou que a quantidade de matéria orgânica no sedimento variou entre 1,16 e 15,49%. Os valores acima de 10% foram observados em represas e os menores valores nos rios (DEL GRANDE et al., 2003).

Situação semelhante foi observada no ribeirão Limeira, que apresentou valores abaixo de 10% de MO, com exceção apenas no ponto P1 com valores médios de 23,2%, caracterizando-o como orgânico. Esses valores mais elevados sugerem que este local foi afetado por poluição de origem orgânica e que esta se encontra acumulada no sedimento e que, provavelmente, seja resultante dos descartes de resíduos industriais ocorridos há anos atrás, em área próxima ao ponto de coleta e, no entanto, ainda afetam esse local através do carregamento de partículas sólidas dessa área para o ambiente aquático.

O fósforo total no sedimento do ribeirão Limeira apresentou variação sazonal entre os pontos amostrais, onde os valores não ultrapassaram $0,53 \text{ mg.g}^{-1}$ (P0, mai/08) no período seco e $0,28 \text{ mg.g}^{-1}$ (P6, nov/07) no período chuvoso (Figura 5.14).

Figura 5.14 – Concentração de fósforo no sedimento do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

O comportamento do fósforo foi semelhante ao da matéria orgânica, com valores mais elevados no ponto P1 (média de $1,0 \text{ mg.g}^{-1}$) em relação ao restante do ribeirão. No entanto, não houve variação espacial entre os pontos, exceto para o ponto P1, que revelou os maiores valores para fósforo total ($0,40$ a $1,64 \text{ mg.g}^{-1}$), principalmente nos meses de mar/08, mai/08 e jul/08 ($1,45$, $1,64$ e $1,54 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivamente), com variação sazonal significativa. Em geral, as maiores concentrações foram verificadas no período de baixa precipitação, possivelmente pelo menor efeito de diluição, de lavagem e de arraste do sedimento.

A diferença entre o P1 e os demais pontos amostrais sugere, como já constatado anteriormente através dos valores de MO, que a área em torno desse ponto possivelmente contribui para as alterações verificadas. O P1 situa-se próximo a instalações industriais e esses valores elevados de fósforo podem estar relacionados aos resíduos descartados por uma indústria de explosivos, durante anos, na área de influência desse ponto. O resíduo gerado durante a fabricação de explosivos contém ácidos, compostos que causam coloração e dependendo do explosivo em manufatura, elevados teores de nitrogênio e fósforo (RIBEIRO, 2008).

5.3.1 Metais no sedimento do ribeirão Limeira

Para avaliar o sedimento do ribeirão Limeira quanto à contaminação por metais, foram analisados os seguintes metais: cádmio, chumbo, cobre, cromo, magnésio,

manganês, níquel, prata e zinco. Os valores guias utilizados para verificar o grau de contaminação por esses elementos traço, com vistas à proteção da biota aquática, foram os estabelecidos pelo *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME) e por Thomas (1987) (Tabela 5.6).

Baseados em concentrações totais e na probabilidade de ocorrência de efeito deletério sobre a biota, o menor limite - TEL (*Threshold Effect Level*) ou Nível 1 - representa a concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos. O maior limite - PEL (*Probable Effect Level*) ou Nível 2 - representa a concentração acima da qual é frequentemente esperado o citado efeito adverso para os organismos. Na faixa entre TEL (Nível 1) e PEL (Nível 2) situam-se os valores onde ocasionalmente espera-se tais efeitos (CCME, 1999).

Tabela 5.6 - Valores de referência de metais totais para o sedimento TEL (*Threshold Effect Level*), PEL (*Probable Effect Level*) e Thomas (1987).

Metais	Unidade	TEL (nível 1)	PEL (nível 2)	THOMAS (1987)		
				Não poluído	Pouco poluído	Altamente poluído
Cádmio - Cd	mg/kg	0,6	3,5	-	-	>6
Chumbo - Pb	mg/kg	35	91,3	<90	90-200	>200
Cobre - Cu	mg/kg	35,7	197	<25	25-50	>50
Cromo - Cr	mg/kg	37,3	90	<25	25-70	>70
Ferro - Fe	-	-	-	<17.000	17.000 – 25.000	>25.000
Magnésio - Mg	-	-	-	-	-	-
Manganês - Mn	-	-	-	<300	300-500	>500
Níquel	mg/kg	18	35,9	<20	20-50	>50
Prata - Ag	-	-	-	-	-	-
Zinco - Zn	mg/kg	123	315	<90	90-200	>200

Esses valores foram adotados para facilitar a busca de evidências da presença desses elementos em concentrações capazes de causar efeitos deletérios, principalmente toxicidade para a biota aquática. Os valores de metais totais verificados no sedimento do ribeirão Limeira foram comparados com estudos que relataram diferentes teores de metais, que podem ou não afetar a manutenção da vida aquática, bem como com os valores citados pela CCME (1999) e outros autores.

Deve-se ressaltar que os níveis de metais detectados em sedimentos no Brasil, acima ou abaixo dos limites estabelecidos por outras agências de controle ambiental de outros países, principalmente de regiões temperadas, podem não revelar interpretação similar com a situação do ambiente aqui analisado. A comunidade científica brasileira

ressalta a necessidade de uma resolução específica para sedimentos no país. No entanto, devido à grande diversidade de ecossistemas, uma padronização de valores referenciais, em âmbito nacional, é de extrema complexidade, não havendo ainda uma legislação brasileira que determine os valores de referência para o assunto (CETESB, 2008).

Os valores obtidos para metais totais no sedimento durante esse estudo no ribeirão Limeira são apresentados na tabela 5.7, exceto para a prata com valores abaixo do limite de detecção do método ($<0,001 \text{ mg.Kg}^{-1}$) em todos os pontos e períodos amostrais.

As variações mínimas e máximas do cromo no sedimento do ribeirão foram de $0,02 \text{ mg.Kg}^{-1}$ a $52,2 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Os meses de nov/07 e jul/08 apresentaram os maiores valores desse metal em quase todos os pontos estudados. Concentrações entre 25 e 70 mg.Kg^{-1} de cromo no sedimento, enquadram-se como moderadamente poluído, segundo Thomas (1987). Para a CCME (1999), os valores de cromo que permitem a proteção da vida aquática (TEL) não deve exceder $37,3 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Os pontos P3 e P6 no mês de nov/07, apresentaram valores na faixa em que pode ocorrer efeitos deletérios à comunidade aquática. O cromo raramente é encontrado em águas naturais, todavia sua presença pode ser indicativa de poluição industrial. No caso do ribeirão Limeira, o máximo obtido foi $44,3 \text{ mg.Kg}^{-1}$ (P3) e $52,2 \text{ mg.Kg}^{-1}$ (P6), considerando os limites estabelecidos por Thomas (1987) e CCME (1999), os dois pontos citados apresentaram poluição moderada pelo cromo.

O Fe foi um dos elementos que apresentou valores mais elevados tanto nas amostras de água como nas de sedimento, quando comparado aos outros metais. As variações nos resultados no ribeirão Limeira foram entre 3.540 e $164.574 \text{ mg.Kg}^{-1}$. De acordo com Thomas (1987), concentrações de ferro entre 17.000 e $25.000 \text{ mg.Kg}^{-1}$ no sedimento classifica-o como moderadamente poluído. Os valores de ferro em set/07, nov/07 e jul/08 (em destaque na Tabela 5.7) foram acima de $25.000 \text{ mg.Kg}^{-1}$, o que é considerado segundo a EPA, altamente poluídos. No entanto, os valores observados para o ponto P1 foram os mais altos, chegando a 15 vezes maior ($164.574 \text{ mg.Kg}^{-1}$) que nos outros pontos. Isso pode ser atribuído aos possíveis descartes de resíduos industriais provenientes da produção de materiais bélicos, como já destacado através dos parâmetros da água (OD, dureza, STD, condutividade) e do sedimento (MO e fósforo).

Tabela 5.7 - Valores de metais totais (expressos em mg.Kg⁻¹) encontrados no sedimento do ribeirão Limeira no período de set/07 a jul/08.

Cr	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Fe	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	<2,0	<2,0	11,0	13,0	5,0	26,0	P0	<u>38.940</u>	11810	1640	22380	10780	<u>93.000</u>
P1	<2,0	20,7	17,0	4,0	11,0	10,0	P1	<u>143.800</u>	<u>164.574</u>	<u>90.350</u>	<u>51.030</u>	<u>11.4400</u>	<u>134.750</u>
P2	<2,0	18,3	12,0	7,0	7,0	17,0	P2	<u>28.325</u>	<u>36.520</u>	<u>38.350</u>	9800	8210	<u>69.280</u>
P3	<2,0	<u>44,3</u>	15,0	22,0	15,0	25,0	P3	<u>37.970</u>	<u>45.475</u>	3540	14100	22030	<u>27.580</u>
P4	4,48	27,9	4,0	<2,0	21,0	20,0	P4	<u>46.460</u>	<u>35.209</u>	6020	4140	19120	20570
P5	<2,0	5,6	4,0	<2,0	<2,0	12,0	P5	<u>58.400</u>	14379	6000	5380	15000	<u>28.320</u>
P6	<2,0	<u>52,2</u>	21,0	9,0	22,0	20,0	P6	<u>35.250</u>	<u>49.500</u>	9720	9280	18600	15870
Mg	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Ni	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	4250	1091,9	2200	4300	1860	4050	P0	16,1	<1,0	11	14,6	14	<u>20,5</u>
P1	3612,3	3122,6	3100	1570	3090	2760	P1	<u>19,9</u>	<1,0	8,6	2,4	<u>31,4</u>	<u>23,7</u>
P2	1837,5	2088,2	1730	1540	830	2590	P2	7,1	<1,0	16,5	<u>18,3</u>	<u>36,4</u>	<u>18,4</u>
P3	3092,3	3110	1960	2480	2430	2580	P3	10,0	1,1	<1,0	14,5	<u>40,7</u>	15
P4	3680,1	2620	1410	890	3470	3160	P4	<u>18,1</u>	<1,0	3,2	12,6	<u>30,0</u>	13,4
P5	5070,7	1377,5	720	1540	580	2350	P5	13,2	2,5	17,1	12	<u>24,8</u>	<u>19</u>
P6	4730,3	4210	2670	2220	3800	3190	P6	13,5	7	9,8	23	<u>24,5</u>	1,1
Cu	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Cd	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	12,4	3,5	8,1	11,5	7,7	13,9	P0	0,01	<0,01	0,18	0,05	0,03	0,13
P1	11,3	3,5	9,1	9,8	11,5	12,3	P1	0,02	<0,01	0,07	0,04	0,11	0,11
P2	6,4	5,8	10,2	2,8	8,0	11,4	P2	<0,01	<0,01	0,05	0,03	<0,01	0,07
P3	15,4	5,2	11,3	10,2	12,6	21,4	P3	<0,01	<0,01	0,02	0,05	0,03	0,06
P4	15,4	3,8	4,7	3,8	11,2	11,4	P4	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	0,04	0,06
P5	19,9	3,9	7,3	7,0	7,0	4,4	P5	0,04	<0,01	0,03	0,04	0,02	0,04
P6	15,0	4,1	<u>43,5</u>	11,5	14,0	9,6	P6	<0,01	<0,01	0,07	0,05	0,04	0,05
Mn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Pb	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	<u>568,3</u>	104,7	<u>742,2</u>	<u>945,5</u>	<u>1060,6</u>	<u>5501,6</u>	P0	2,1	3,3	3,3	6,0	1,6	10,5
P1	<u>1739</u>	<u>2055,4</u>	<u>2753,2</u>	<u>1942,5</u>	<u>737,3</u>	<u>3995,1</u>	P1	5,3	8,6	9,9	3,8	14,2	14,0
P2	472,3	<u>522,6</u>	<u>2429,9</u>	<u>1281,1</u>	<u>847,5</u>	<u>6452</u>	P2	1,8	8,1	10,8	4,0	0,6	14,3
P3	412	<u>569,7</u>	<u>722,6</u>	<u>673,6</u>	<u>1224,8</u>	<u>1082,7</u>	P3	2,5	11,1	7,4	13,7	16,3	16,9
P4	<u>658,3</u>	364,8	162,6	137,5	<u>1276,2</u>	<u>1129,2</u>	P4	5,5	5,8	2,9	1,1	13,5	11,4
P5	<u>1080,7</u>	407,2	167,2	500	206,4	<u>994,5</u>	P5	8,1	3,9	0,5	3,0	<0,001	5,2
P6	408,7	<u>658,9</u>	<u>766,7</u>	<u>938,2</u>	<u>1256,6</u>	<u>928,4</u>	P6	5,8	5,7	19,3	12,9	12,3	11,8
Zn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08							
P0	47,7	22,7	30,0	43,0	22,0	61,0							
P1	63,0	60,8	44,0	19,0	55,0	50,0							
P2	29,5	46,5	26,0	17,0	23,0	56,0							
P3	46,9	57,3	35,0	27,0	41,0	62,0							
P4	61,3	63,6	17,0	13,0	48,0	37,0							
P5	78,4	106,8	11,0	27,0	14,0	66,0							
P6	72,3	29,7	52,0	38,0	66,0	35,0							

X – valores entre os limites de TEL e PEL.

X – valores para ambientes altamente poluídos, segundo Thomas (1987).

□ – valores acima dos limites de PEL.

As formações geológicas da região contribuem para a constituição mineralógica e geoquímica da bacia, podendo disponibilizar diversos elementos químicos como cálcio, ferro e magnésio, para a água e sedimento, influenciando na composição e concentração desses elementos no ambiente (LEMES et al., 2003). Dessa forma os valores de ferro, podem ser de origem natural e muitas vezes não estar biodisponível para os organismos aquáticos causando algum efeito tóxico.

O zinco apresentou valores abaixo do TEL estabelecido para esse parâmetro (123 mg.Kg^{-1}), não indicando possibilidade de efeitos adversos à biota aquática. O ponto P5 apresentou o maior valor encontrado ($78,4$ e $106,8 \text{ mg.Kg}^{-1}$) nos meses de set/07 e nov/07, respectivamente. Observou-se a presença desse metal, mesmo em concentrações abaixo do TEL, em todos os meses amostrados. Essa situação pode ser atribuída à drenagem pluvial, ocasionando a possível entrada do zinco proveniente de fertilizantes fosfatados, que apresentam em sua composição óxido de zinco. Quando acumulado no sedimento, a ressolubilização do zinco em fase aquosa é possível, sob certas condições físico-químicas, como na presença de ânions solúveis, na ausência de matéria orgânica, minerais de argila e hidróxidos de ferro e manganês, baixo pH e salinidade aumentada (COTTA et al., 2006; MOORE; RAMAMOORTHY, 1984).

Valores de cádmio foram verificados em todos os pontos do sedimento do ribeirão ao longo do estudo, com variações entre $0,01$ e $0,176 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Förstner e Wittmann (1983) consideraram que regiões naturais e locais não impactados, os sedimentos geralmente apresentam concentração máxima de $0,2 \text{ mg.Kg}^{-1}$ de cádmio. Tendo essa concentração como referência e os valores de TEL ($0,6 \text{ mg.Kg}^{-1}$), pode-se considerar que o ribeirão Limeira não apresentou contaminação por esse elemento a ponto de causar efeitos adversos a biota aquática.

A concentração de manganês no sedimento do ribeirão apresentou valores elevados em relação a outros elementos, variando de $137,5$ a 5.501 mg.Kg^{-1} . O maior valor obtido foi no ponto P1 (jul/08) e o menor no ponto P4 (mar/08). Thomas (1987) considera não poluído o sedimento com concentração de Mn inferior a 300 mg.Kg^{-1} ; moderadamente poluído o sedimento com concentração entre 300 e 500 mg.Kg^{-1} ; e altamente poluído o sedimento com concentração acima de 500 mg.Kg^{-1} . A partir de tais referências, os sedimentos dos pontos P4 (fev/08 e mar/08) e P5 (fev/08 e mai/08) foram os únicos pontos do ribeirão que podem ser considerados não poluídos em relação à concentração de Mn. Somente na amostra coletada em mar/08, o ponto P5 apresentou valor considerado moderadamente poluído. Todos os demais pontos teriam seus sedimentos enquadrados

como altamente poluídos para o caso do manganês. A concentração desse elemento no ribeirão Limeira foi considerada alta em todos os pontos amostrais, esses valores podem estar relacionados à formação geológica da bacia e não necessariamente a uma fonte de contaminação, merecendo uma melhor investigação em estudos posteriores.

As concentrações de chumbo total nos sedimentos do ribeirão Limeira variaram de 0,001 a 19,310 mg.Kg⁻¹. Segundo o critério de Bowden (PRATER; ANDERSON, 1977), o limite de chumbo é de 40 mg.Kg⁻¹, conforme esse critério e os valores de TEL (35 mg.Kg⁻¹) esse metal não apresentou resultados acima do considerado poluído no ribeirão Limeira.

A concentração natural em águas superficiais para o Pb é próxima a 0,02 µg.L⁻¹, e na crosta terrestre em uma concentração de 15 mg.Kg⁻¹. Muito utilizado na produção pigmentos, químicos e baterias, o chumbo pode se acumular no sedimento principalmente às frações de tamanhos menores. Quando em altas concentrações no ambiente, indicam contaminação por rejeitos industriais ou de mineração. O comportamento do Pb em águas naturais é uma combinação de equilíbrio de precipitação e complexação com ligantes orgânicos e inorgânicos. O grau de mobilidade do Pb depende do estado físico dos complexos formados e a sorção está correlacionada ao conteúdo de matéria orgânica e ao tamanho dos grãos do sedimento (MOORE; RAMAMOORTHY, 1984; WHO, 1994).

Foi observada a presença de muitos metais, inclusive alguns considerados tóxicos no sedimento do ribeirão Limeira, o que poderia revelar potencial risco à biota aquática. Contudo, os resultados de biodisponibilidade dos metais no ribeirão demonstraram que muitos estavam disponíveis aos organismos, mas não em concentrações suficientes a ponto de causar efeitos adversos, principalmente às formas bentônicas, que obtém do sedimento seu alimento e o tem como habitat (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 - Porcentagem de metais biodisponíveis em relação à concentração de metais totais no sedimento do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08).

Fe	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Mg	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	20%	57%	---	28%	46%	23%	P0	6%	10%	4%	5%	6%	16%
P1	47%	42%	36%	63%	27%	24%	P1	9%	8%	7%	12%	13%	12%
P2	44%	32%	55%	68%	48%	35%	P2	6%	2%	7%	4%	6%	5%
P3	9%	22%	---	43%	26%	34%	P3	2%	4%	5%	3%	5%	2%
P4	30%	15%	31%	26%	56%	32%	P4	1%	2%	2%	1%	3%	3%
P5	5%	17%	15%	16%	7%	43%	P5	6%	9%	22%	1%	28%	3%
P6	10%	30%	30%	33%	50%	43%	P6	4%	7%	10%	10%	10%	5%
Cd	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Mn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	0%	0%	23%	0%	0%	0%	P0	---	---	---	---	---	15%
P1	0%	0%	0%	0%	65%	62%	P1	23%	---	---	---	---	53%
P2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	P2	41%	65%	6%	32%	78%	13%
P3	0%	0%	0%	0%	0%	0%	P3	70%	33%	88%	48%	86%	86%
P4	0%	0%	0%	70%	0%	0%	P4	59%	71%	---	---	71%	---
P5	0%	0%	0%	0%	0%	0%	P5	11%	95%	---	50%	---	80%
P6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	P6	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Pb	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08	Zn	Set/07	Nov/07	Fev/08	Mar/08	Mai/08	Jul/08
P0	99%	87%	0%	45%	43%	0%	P0	36%	39%	21%	26%	0%	51%
P1	76%	80%	1%	11%	16%	0%	P1	50%	38%	39%	81%	42%	55%
P2	---	79%	31%	29%	0%	22%	P2	55%	33%	53%	13%	8%	24%
P3	93%	78%	36%	40%	52%	44%	P3	21%	26%	17%	14%	10%	12%
P4	90%	58%	34%	0%	52%	39%	P4	28%	18%	49%	0%	13%	14%
P5	90%	77%	41%	0%	0%	29%	P5	16%	10%	15%	0%	0%	3%
P6	99%	64%	43%	55%	47%	47%	P6	36%	55%	55%	50%	19%	37%

No entanto, os metais não ficarão necessariamente sempre adsorvidos ao sedimento, eles podem ser dessorvidos por fenômenos naturais, atividades humanas ou condições redox, que podem acarretar a biodisponibilidade, bem como a toxicidade para a fauna bentônica (SUNDELIN; ERIKSSON, 2001).

Os resultados mostram indícios de contaminação do ribeirão Limeira por alguns metais, entretanto, quando comparados com outras áreas contaminadas, como por exemplo o caso das praias do lago de Itaipu - PR, onde o sedimento se mostrou moderadamente contaminado com Pb e Cd (avaliado em 2008), a situação do ribeirão é menos grave se consideradas as concentrações encontradas desses metais. Estes elementos se acumulam na fração fina dos sedimentos de fundo e dão indícios de poluição antropogênica, como por exemplo, os lançamentos de efluentes domésticos e os usos múltiplos das instalações na margem do Reservatório como: praias artificiais, corredores usados pelo gado para tomar água, pontos de captação de água para consumo humano e irrigação de culturas agrícolas (BELO et al., 2010).

O rio Uberabinha, Uberlândia – MG, também indicou elevada concentração de alguns metais, como Co, Cu, Ni, Pb e Zn, relacionados com a descarga de efluentes urbanos (industrial e doméstico) sem tratamento nos corpos d'água (ROSOLEN et al., 2009).

5.4 Ensaios de toxicidade do ribeirão Limeira

A toxicidade do ribeirão Limeira foi realizada através de ensaios agudos e crônicos com amostras de água e sedimento. Os organismos utilizados para os ensaios da água foram *P. subcapitata* (crônico), *C. silvestrii* (crônico) e *D. similis* (agudo) e, para os ensaios com sedimento, *C. silvestrii* (agudo), *D. similis* (agudo) e *C. xanthus* (crônico). Os ensaios foram realizados a cada dois meses, durante um ano (entre setembro de 2007 e julho de 2008), simultaneamente às análises físico-químicas da água e do sedimento.

5.4.1 Toxicidade da água

Daphnia similis

Através dos ensaios de toxicidade para a *D. similis* foi verificado efeito agudo nas amostras de água do mês de set/07 nos pontos P1, P2, P4 e P6 e no mês de fev/08, no ponto P5 (Tabela 5.9). Possivelmente, os resultados de toxicidade podem estar relacionados à presença dos metais Fe e Pb na água, mês de set/07, onde verificou-se valores acima do permitido (0,3 mg.L⁻¹ e 0,01 mg.L⁻¹, respectivamente), segundo a Resolução 357/05 do CONAMA.

Tabela 5.9 – Ensaios de toxicidade aguda da água com *D. similis* no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

pontos	Set-07	Nov-07	Fev-08	Mar-08	Mai-08	Jul-08
P0	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P1	tóxico	NT	NT	NT	NT	NT
P2	tóxico	NT	NT	NT	NT	NT
P3	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P4	tóxico	NT	NT	NT	NT	NT
P5	NT	NT	tóxico	NT	NT	NT
P6	tóxico	NT	NT	NT	NT	NT

NT - não tóxico

O ferro é um nutriente essencial, porém em quantidades elevadas também pode ser causador de efeitos tóxicos, as principais fontes desse elemento para o ambiente aquático podem ser resíduos industriais, corrosão, águas ácidas de minas, ação microbiana e

formação geológica da bacia (LENZI et al., 2009). Porém, quando em elevadas concentrações e conforme a especiação no ambiente, por exemplo em sua forma solúvel, pode causar efeitos tóxicos à biota.

Foi verificado no rio Paraíba do Sul, trecho entre Tremembé e Aparecida, valores de ferro total (0,49 a 0,97 mg.L⁻¹) acima do máximo permitido (0,3 mg.L⁻¹), e relatada possível correlação desse elemento com efeitos citotóxicos em *Allium cepa* (BARBÉRIO et al., 2009). Outros estudos verificaram concentrações de ferro na água (3,0 a 28,5) no ribeirão das Cruzes, Araraquara-SP, acima do permitido pela Resolução CONAMA 357 (2005). Porém nesse caso, o ferro não causou efeito tóxico agudo para *D. similis* e *Hyphessobrycon eques* (peixe), situação atribuída ao valor do pH, em torno de 7,0. O pH da água afeta a especiação e solubilidade de alguns metais mais do que outros, e a toxicidade do ferro aumenta em pH baixo (5,5) devido a mudanças na especiação (SOTERO-SANTOS et al., 2007).

A presença de Pb e Fe no ribeirão Limeira pode ter sido o fator causador da toxicidade aguda para *D. similis*. Sabe-se que o Pb é um metal potencialmente tóxico e as principais fontes geradoras desse para o ambiente aquático são os resíduos industriais, a mineração e os combustíveis fósseis (LENZI et al., 2009; MOORE; RAMAMOORTHY, 1984).

A toxicidade aguda ocorrida no ponto P5 (fev/08), por meio dos dados físico-químicos e de metais na água não pôde ser explicada, pois não foi constatada nenhuma alteração significativa nessas análises que pudesse justificar a ocorrência do efeito agudo. No mês de fev/08 ocorreu um elevado índice de precipitação, em relação aos outros meses estudados. A entrada de partículas e substâncias químicas no ribeirão pelo carreamento superficial, como por exemplo, compostos orgânicos provenientes de atividades agrícolas, podem ter causado o efeito agudo observado nesse ponto, uma vez que os rios são coletores naturais das águas e refletem o uso e ocupação do solo de sua respectiva bacia de drenagem (GOULART; CALLISTO, 2003).

Ceriodaphnia silvestrii

Os ensaios de toxicidade crônica indicaram efeitos crônicos no ponto P2, nos meses de fev/08 e mar/08 para o microcrustáceo *C. silvestrii* (Tabela 5.10). Esses dois meses são considerados chuvosos, influenciando na dinâmica do ambiente aquático, que recebe maior volume de água e, conseqüentemente, influência significativa dos solos da bacia. Esses resultados podem estar relacionados com compostos químicos presentes no ambiente que,

mesmo em pequenas concentrações, podem causar efeito crônico, afetando assim a fisiologia dos organismos que, nesse caso, foi a reprodução do microcrustáceo.

Tabela 5.10 – Resultados dos ensaios de toxicidade com amostras de água com *C. silvestrii* no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

pontos	Set-07	Nov-07	Fev-08	Mar-08	Mai-08	Jul-08
P0	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P2	NT	NT	tóxico	tóxico	NT	NT
P3	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P4	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P6	NT	NT	NT	NT	NT	NT

NT – Não tóxico

A complexidade do ambiente aquático e o grande número de processos aos quais está sujeito um contaminante no ambiente, muitas vezes dificultam o entendimento da causa da toxicidade e a extrapolação para escala ambiental das informações provenientes dos testes de toxicidade realizados em laboratório (COSTA et al., 2008).

Pseudokirchneriella subcapitata

Os pontos amostrais que revelaram toxicidade crônica nas amostras de água do ribeirão para a alga *P. subcapitata* são destacadas (**cinza claro**) na Tabela 5.11. Os ensaios indicaram o efeito crônico através da porcentagem de inibição (CI₅₀, 96h) do crescimento algáceo em relação ao controle (MESSIAS, 2008).

Tabela 5.11 – Valores de CI₅₀ (% , 96h) dos ensaios de toxicidade crônica com amostras de água do ribeirão Limeira de set/07 a jul/08 para *P. subcapitata*.

Pontos	Set-07	Fev-08	Mar-08	Mai-08	Jul-08
P0	23,6	45,0	48,2	52,1	25,8
P1	50,4	41,9	65,9	53,1	28,8
P2	27,4	44,0	38,6	50,1	37,4
P3	41,7	45,4	53,0	42,7	32,8
P4	51,0	52,3	44,8	41,9	37,7
P5	54,4	46,9	38,7	33,4	39,2
P6	47,3	54,0	17,0	58,0	28,6
Valor – efeito crônico					

Em set/07, foi constatada toxicidade aguda em amostras da água, em vários pontos amostrais (P1, P4 e P5) para *D. similis*, sugerindo que a presença dos metais Fe e Pb

(acima dos níveis estabelecidos legalmente) podem afetar a biota aquática caso permaneçam na água e/ou sedimento do ambiente. Nos meses analisados posteriormente, fev/08 e mar/08, verificou-se efeito crônico na água para o microcrustáceo *C. silvestrii* no P2; em mar/08 (P1) e mai/08 (P1 e P2) para a alga *P. subcapitata*. Esses resultados indicam que, possivelmente, a presença dos metais Fe e Pb nos meses de fev/08 e mar/08, podem ter influenciado novamente os resultados dos ensaios de toxicidade, causando efeito crônico aos organismos.

Os metais podem persistir em ambientes aquáticos, nos sedimentos e/ou em partículas em suspensão, sendo liberado lentamente para a água e tornar-se disponível para os organismos. A biodisponibilidade de metais pesados e potencial toxicidade são controladas por especiação dos metais na água. Através de testes de toxicidade crônica com algas Clorofíceas (*P. subcapitata* e *Gonium pectorale*), Meylan e colaboradores (2003) demonstraram que diversos metais, inclusive o Pb, são causadores de toxicidade, inibindo o crescimento e limitando a reprodução e sobrevivência das células algais.

Os resultados para *P. subcapitata* verificados no ribeirão Limeira, possivelmente estão relacionados à sensibilidade dessa alga, e a toxicidade pode ser decorrente também da presença dos metais no ambiente, quando da observação do efeito crônico nas amostras de água.

Os ensaios crônicos permitem avaliar os possíveis efeitos tóxicos de substâncias químicas sob condições de exposições prolongadas em concentrações sub-letais, ou seja, pequenas concentrações que permitem a sobrevivência dos organismos, mas que afetam suas funções biológicas (RAND, 1995).

Os resultados indicaram que a alga *P. subcapitata* em ensaios crônicos com amostras de água, foi o organismo mais sensível quando comparado ao microcrustáceo *C. silvestrii*. Alguns autores verificaram que esta alga apresenta maior sensibilidade a diversos tipos de amostras, como a *Selenastrum capricornutum* (atual *P. subcapitata*), juntamente com a *Lemna minor* (outro produtor da cadeia trófica), os quais foram os organismos mais sensíveis em uma avaliação ecotoxicológica realizada através de uma bateria de microbiotestes em rios (MANKIEWICZ-BOCZEK et al., 2008). Arenzon (2004) avaliou a qualidade de águas subterrâneas impactadas e verificou que o organismo com maior sensibilidade nos ensaios de toxicidade foi *P. subcapitata*, em relação aos outros organismos utilizados, *P. promelas* e *C. dubia*.

Os organismos utilizados nos ensaios crônicos para amostras de água do ribeirão Limeira (*C. silvestrii* e *P. subcapitata*) não apresentaram efeito crônico nos pontos P1, P4

(nov/07) e P5 (fev/08), mesmo tendo sido verificada toxicidade aguda para *D. similis*. Essa situação serve de alerta para que os trechos que apresentaram esses resultados sejam monitorados, com o intuito de verificar a possibilidade de ocorrência de toxicidade crônica a médio prazo, a fim de prevenir ou reduzir maiores impactos na qualidade da água e preservar a biota aquática.

5.4.2 Toxicidade do sedimento

Por se tratar de um compartimento que muitos contaminantes podem se depositar e, dependendo das condições do meio, ocorrer liberação destes contaminantes para a coluna d'água, o sedimento tem sido muito utilizado para avaliação ecotoxicológica dos ambientes aquáticos.

Para avaliar o sedimento quanto à toxicidade foram realizados ensaios agudos com *D. similis* e *C. silvestrii* e ensaios crônicos com *C. xanthus*, ao longo de todo o ribeirão Limeira, entre setembro de 2007 a julho de 2008.

Daphnia similis

Os ensaios de toxicidade realizados com amostras de sedimento demonstraram que este compartimento foi mais impactado quando comparado à água.

Os pontos amostrais que apresentaram toxicidade para *D. similis* foram o P0 (nov/08 e mar/08), P5 (jul/08) e P6 (mar/08) (Tabela 5.12 e Figura 5.15). O ponto P4 apresentou toxicidade aguda em diversos meses analisados (set/07, fev/08, mar/08, mai/08 e jul/08). Os efeitos agudos são respostas bruscas e rápidas que os organismos apresentam quando expostos a um estímulo, sendo a letalidade ou a imobilidade os mais comuns (RAND; PETROCELLI, 1985).

Tabela 5.12 – Ensaio de toxicidade aguda do sedimento com *D. similis* no ribeirão Limeira de set/07 a jul/08.

pontos	Set-07	Nov-07	Fev-08	Mar-08	Mai-08	Jul-08
P0	NT	Tóxico	NT	Tóxico	NT	NT
P1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P3	NT	NT	NT	NT	NT	NT
P4	Tóxico	NT	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico
P5	NT	NT	NT	NT	NT	Tóxico
P6	NT	NT	NT	Tóxico	NT	NT

NT - não tóxico

Figura 5.15 – Resultados dos ensaios de toxicidade aguda do sedimento total com *D. similis*, ribeirão Limeira set/07 a jul/08.

↓ - Todos resultados indicados com a seta apresentaram efeito tóxico, conforme diferença significativa em relação ao controle.

Ceriodaphnia silvestrii

Bioensaios de toxicidade crônica em amostras de sedimento total foram realizados com *C. silvestrii*, onde se avaliou a reprodução e a sobrevivência dos organismos. Tendo em vista a dificuldade de visualização dos organismos, principalmente os neonatos produzidos, esses ensaios foram realizados somente nos meses de set/07, nov/07 e fev/08 (Tabela 5.13).

No mês de set/07 foi observado que o sedimento total dos pontos P0, P1 e P4 causaram elevada mortalidade aos organismos em 48 h, onde foi encerrado o ensaio, indicando efeito agudo para a *C. silvestrii*. O sedimento dos pontos P2 e P4, em nov/07 e fev/08, causaram inibição na reprodução desse organismo, caracterizando efeito crônico.

Tabela 5.13 - Ensaios de toxicidade crônica do sedimento total com *C. silvestrii* no ribeirão Limeira de set/07 a fev/08.

	*set/07	nov/07	fev/08
P0	Tóxico	NT	NT
P1	NT	NT	NT
P2	Tóxico	Tóxico	Tóxico
P3	NT	NT	Tóxico
P4	Tóxico	Tóxico	Tóxico
P5	NT	NT	NT
P6	NT	NT	NT

NT - não tóxico

*No mês de setembro ocorreu mortalidade de muitos organismos em 48 h de ensaio, indicando um efeito agudo.

O ponto P0, localizado em área preservada, com vegetação ciliar na margem esquerda, aparentemente não apresentava nenhuma alteração ou impacto. Essa área foi contemplada com um projeto de recuperação de mata ciliar, do lado direito da margem do ribeirão, realizado pela Fundação Christiano Rosa. Este projeto ocorreu simultaneamente à avaliação limnológica e ecotoxicológica do ribeirão Limeira. Ao preparar o local para o plantio e durante o período de conservação do reflorestamento a área recebeu aplicação de formicida para o controle de formigas. Este agrotóxico tem em seu princípio ativo o diazinon, um organofosforado insolúvel em água, com valores de CE_{50} para *Daphnia magna* e *D. pulex* de $1,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,90 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Este formicida apresenta alta toxicidade, podendo afetar outros organismos aquáticos (CETESB, 2010).

Sabe-se que os principais processos de degradação do ambiente aquático se devem às atividades antrópicas, quando substâncias químicas entram no sistema causando perturbações (GOULART; CALLISTO, 2003). No ponto P0, constatou-se toxicidade aguda para *D. similis* e crônica para *C. silvestrii*, que podem indicar uma relação com o uso do formicida aplicado na área do reflorestamento.

Na área de influência do ponto P2 existem plantações de eucalipto em estágio avançado (plantio realizado em 2003), próximo do período de corte. Esse tipo de monocultura recebe aplicação de diversos defensivos agrícolas, ao longo do ciclo da floresta. Porém, durante o plantio e no início do desenvolvimento dos eucaliptos, as aplicações dos agrotóxicos ocorrem com maior frequência do que ao final de seu desenvolvimento, próximo ao período de corte (NUNES JR. comunicação pessoal).

Conforme esclarecida a situação de aplicação de agrotóxicos em reflorestamentos de eucalipto, os resultados dos ensaios de toxicidade crônica do sedimento com *C. silvestrii* no ponto P2, sugerem que o ambiente aquático pode ter sido contaminado por

agentes tóxicos há anos atrás (no início do plantio) e que se acumularam no ambiente e, mesmo que presente em pequenas quantidades, podem causar efeito crônico, como foi observado para o microcrustáceo *C. silvestrii*.

Kühl e colaboradores (2010) ao analisar dez rios localizados em áreas rurais e urbanas, pertencentes à bacia hidrográfica do rio Pirapó (Paraná, Brasil), relataram que os testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii* em amostras de sedimento, indicaram que este compartimento se encontrava com maior acúmulo de substâncias tóxicas quando comparado às amostras de água analisadas em diversos rios dessa bacia hidrográfica. Ao contrário do que era esperado, os rios de área rural foram os mais tóxicos do que aqueles localizados em área urbana. Esses resultados demonstram que os ecossistemas aquáticos situados em zonas rurais são afetados pela poluição, tanto quanto os encontrados em áreas urbanas, e que exigem a mesma atenção de gestores ambientais em relação ao seu acompanhamento.

Como já mencionado, a quantidade de contaminantes lançados na natureza é tal que o conhecimento a respeito dos efeitos de cada contaminante individual sobre o ecossistema ainda não é completo. No caso de mistura de substâncias contaminantes, torna-se ainda mais complexo o entendimento dos possíveis efeitos. Zagatto e Bertoletti (2006) relatam que o efeito sinérgico ocorre quando há a combinação de dois ou mais contaminantes, e essa combinação pode ser maior do que a soma dos seus efeitos individuais e, dessa forma, muitas vezes o efeito observado em ensaios de toxicidade não pode atribuído a um único fator ou contaminante.

Devido às dificuldades encontradas durante a realização dos ensaios com sedimento total, o microcrustáceo *C. silvestrii* deixou de ser utilizado em ensaios crônicos e passou a ser utilizado somente para avaliar o sedimento quanto à toxicidade aguda, através do elutriato.

Diferente dos ensaios de toxicidade crônica, os testes realizados com o elutriato para a *C. silvestrii*, demonstraram que as substâncias presentes no sedimento não se solubilizaram para a água, a ponto de causar efeito agudo para este organismo. Somente no ponto P4 (mai/08) foi verificada toxicidade aguda (Figura 5.16), sugerindo que não existiu uma possível contribuição do sedimento, como fonte de contaminação de metais e outros compostos químicos, para as águas do ribeirão Limeira durante o estudo.

Figura 5.16 - Ensaios de toxicidade aguda do elutriato com *C. silvestrii* no ribeirão Limeira de nov/07 a jul/08.

Os ensaios com elutriato (ou solubilizado) permitem avaliar a toxicidade do sedimento, provocada pela dispersão ou ressuspensão de contaminantes para a coluna d'água, causando impacto aos organismos pelágicos (BOTTA et al., 2006).

Chironomus xanthus

Inicialmente, no mês de novembro de 2007, foram realizados bioensaios de toxicidade aguda com *C. xanthus*. Nos meses seguintes, realizaram-se ensaios de toxicidade crônica com *C. xanthus*, com duração de 10 dias, sendo importante uma avaliação de possíveis efeitos crônicos nesse compartimento, tendo em vista que os ensaios crônicos com *C. silvestrii* (crônicos) deixaram de ser realizados.

Os testes agudos com o *C. xanthus* indicaram toxicidade para o ponto P1 e P6 no mês de nov/07 (Figura 5.17). Já os ensaios crônicos indicaram que somente no P4, em mai/08, foi verificado esse efeito (Figura 5.18).

Figura 5.17 – Resultados dos ensaios de toxicidade aguda no sedimento com *C. xanthus* no ribeirão Limeira em nov/07.

Figura 5.18 – Ensaios de toxicidade crônica do sedimento com *C. xanthus* no ribeirão Limeira de fev/08 a jul/08.

As correlações positivas entre os ensaios de toxicidade do sedimento com o organismo *C. xanthus* e os metais Mg e Mn, determinados na água, provavelmente, estão relacionadas à rápida sedimentação desses elementos e, conseqüentemente, seu acúmulo no sedimento, causando possível efeito tóxico aos organismos.

As possíveis causas dos efeitos agudos (ponto P4 - sedimento) para *D. similis* e *C. silvestrii*, e crônicos para *C. silvestrii* e *C. xanthus*, não puderam ser elucidadas, mesmo com os resultados das análises físicas e químicas do sedimento e dos metais totais e

biodisponíveis. Estes dados não foram suficientemente esclarecedores a ponto de indicar os possíveis agentes causadores desses efeitos. Sabe-se que o sedimento é um compartimento onde diversas interações ocorrem, sejam elas desencadeadas pela entrada de poluição pontual ou difusa, pelas relações entre as variáveis físicas e químicas do ambiente e os agentes tóxicos, ou pelas reações sinérgicas e/ou antagônicas que ocorrem entre esses.

Existe a possibilidade de contaminantes não analisados (ex: pesticidas) terem causado o efeito tóxico no sedimento. Kühl e colaboradores (2010) ao comparar as influências e impactos antropogênicos sobre a água e sedimento de rios de áreas rurais e urbanas, constataram que os rios rurais apresentaram maior toxicidade crônica, tanto na água como no sedimento, em relação aos rios urbanos. Os autores concluíram que, provavelmente, a proximidade dos rios rurais às áreas com cultivos, onde diversas substâncias, como pesticidas são usados, contribuíram para os resultados observados no estudo.

Na bacia hidrográfica do ribeirão Limeira, o uso e ocupação da área à montante do ponto amostral P4 sugerem a possível presença de compostos orgânicos no sedimento, provenientes de fertilizantes e defensivos agrícolas, que podem ter sido lixiviados das áreas que contemplam plantio de eucalipto ou pastagem.

A toxicidade de uma substância ou de uma mistura de substâncias, como é o caso da água e do sedimento de sistemas fluviais, podem gerar efeitos agudos ou crônicos sobre os organismos testados (ESPÍNDOLA, 2003). A Tabela 5.14 mostra uma avaliação geral dos ensaios de toxicidade (agudos e crônicos) realizados na água e no sedimento durante a avaliação do ribeirão Limeira entre set/07 e jul/08.

Tabela 5.14 – Resultado dos ensaios de toxicidade (agudos e crônicos) realizados na água e no sedimento do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08).

	Amostra	Set-07	Nov-07	Fev-08	Mar-08	Mai-08	Jul-08
P0	água					<i>P. subcapitata</i>	
	sedimento		<i>D. similis</i>		<i>D. similis</i>		<i>D. similis</i>
P1	água	<i>P. subcapitata</i>			<i>P. subcapitata</i>	<i>P. subcapitata</i>	
	sedimento		<i>C. xanthus</i>				
P2	água			<i>C. silvestrii</i>	<i>C. silvestrii</i>	<i>P. subcapitata</i>	
	sedim						
P3	água				<i>P. subcapitata</i>		
	sedimento						<i>D. similis</i>
	água	<i>P. subcapitata</i>		<i>P. subcapitata</i>			
P4	sedimento	<i>D. similis</i>		<i>D. similis</i>	<i>D. similis</i>	<i>C. xanthus</i> <i>D. similis</i> <i>C. silvestrii</i>	<i>D. similis</i>
P5	água	<i>P. subcapitata</i>		<i>D. similis</i>			
	sedimento						<i>D. similis</i>
P6	água			<i>P. subcapitata</i>		<i>P. subcapitata</i>	
	sedimento		<i>C. xanthus</i>		<i>D. similis</i>		

O teste agudo com amostras de sedimento com o *C. xanthus* e *D. similis* apresentaram respostas diferentes. O ponto P1 foi tóxico para o *C. xanthus* enquanto o P0 foi tóxico para *D. similis* no mês de nov/07, mostrando que esses organismos apresentam sensibilidade diferente.

Já toxicidade aguda para *C. silvestrii* no ponto P4 (mai/08) demonstra que o agente causador da toxicidade crônica para o *C. xanthus* no P4 (mai/08) foi liberado do sedimento para o elutriato, causando toxicidade para o microcrustáceo. Essa situação evidencia a importância em utilizar mais de um organismo-teste e de níveis tróficos diferentes, pois a resposta de um único tipo de organismo pode diferir de outro, sobretudo quando a natureza da substância-teste é desconhecida (ARAGÃO; ARAÚJO, 2006; HWANG et al., 2009).

5.5 Análises dos dados

Foram aplicados índices e análises estatísticas aos dados levantados neste estudo, de forma a proporcionar melhor compreensão dos resultados obtidos.

5.5.1 Índice de estado trófico (IET) e do índice de proteção de vida aquática (IVA)

Em ambientes aquáticos a concentração do fósforo total é um dos indicadores do potencial de eutrofização, já que este nutriente atua como o agente causador do grau de

trofia do corpo hídrico. Conforme sua concentração no ambiente há uma classificação desse processo como: eutrófico, mesotrófico e oligotrófico, onde ocorre alta, média e baixa concentração de P total, respectivamente (ESTEVES, 1998; MARGALEF, 1994; TUNDISI, 2008).

Ao aplicar o índice de estado trófico da CETESB (2008), verificou-se que o ribeirão Limeira recebeu a ponderação “2” em todos os pontos amostrais, devido aos resultados observados para o P total na água (entre 35 e 137 $\mu\text{g.L}^{-1}$), caracterizando-o como mesotrófico.

Através da análise dos dados do IVA, pode-se perceber que o ribeirão Limeira é um ambiente que apresentou a qualidade da água “regular”, na maioria dos meses e pontos amostrados (Tabela 5.15).

Tabela 5.15 - Resultados do IVA para o ribeirão Limeira, referente ao período de set/07 a jul/08.

	set/07	nov/07	fev/08	mar/08	mai/08	jul/08
PO	3,2	4,4	3,2	3,2	4,4	3,2
P1	5,6	3,2	4,0	4,4	6,0	3,2
P2	3,2	5,2	4,4	4,4	4,4	3,2
P3	3,2	3,6	4,4	3,2	3,2	3,2
P4	5,6	3,2	4,4	3,2	3,2	3,2
P5	4,4	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
P6	5,6	4,4	5,6	3,2	4,4	3,2

Os resultados foram influenciados pelos parâmetros da água que estiveram fora dos valores estabelecidos pelo CONAMA 357/05, além dos diversos meses em que foram verificados efeitos de toxicidade aguda e/ou crônica para os pontos amostrais.

O IVA tem o objetivo de avaliar a qualidade das águas para fins de proteção da fauna e flora em geral, diferenciando, portanto, de um índice para avaliação da água para o consumo humano e recreação de contato primário. O IVA leva em consideração a presença e concentração de contaminantes químicos tóxicos, seu efeito sobre os organismos aquáticos (toxicidade) e duas das variáveis consideradas essenciais para a biota (pH e oxigênio dissolvido), variáveis essas agrupadas no Índice de Variáveis Mínimas para a Preservação da Vida Aquática (IPMCA), bem como o Índice do Estado Trófico (IET) de Carlson modificado por Toledo (1990). Dessa forma, o IVA fornece informações não só sobre a qualidade da água em termos ecotoxicológicos, como também sobre o seu grau de trofia (CETESB, 2008).

5.5.2 Análise de agrupamento (CA) e Análise de Componentes Principais (PCA)

Todas as informações, geradas através das análises de CA e PCA, vêm corroborar com os dados anteriormente discutidos, quanto aos parâmetros físico-químicos da água e dos ensaios ecotoxicológicos dos dois compartimentos avaliados (água e sedimento), indicando a correlação entre as variáveis e, principalmente, a diferença espacial entre os pontos amostrais.

Aplicou-se a Correlação de Pearson a fim de saber quais são as correlações significativas ao nível de 5% ($P < 0,05$), entre as variáveis (Anexo B1). Essa análise revelou correlação entre diversas variáveis, no entanto, nem sempre os resultados indicaram uma relação coesa entre as variáveis. A dureza, condutividade e turbidez apresentaram nível significativo entre si ($P < 0,01$). Essa situação pode estar relacionada com a entrada de sólidos (totais e dissolvidos) e íons na água desse ambiente, provenientes do carreamento superficial e de áreas erodidas. Marques e colaboradores (2003) atribuíram os elevados valores de sólidos e íons (principalmente NH_4) ao período de chuvas, que favorecem a “lavagem” dos solos. O gradual aumento, sentido à foz, da condutividade e turbidez também foi verificado no rio Gravataí – RS devido à contribuição do ecossistema terrestre circundante e descarte industrial (SALOMONI, et al., 2007).

A correlação inversa do oxigênio e da temperatura ($P < 0,01$) é atribuída à saturação do gás em função da variação da temperatura.

Interferências antropogênicas como poluição de origem industrial, doméstica e agrícola favorecem a entrada no ambiente de metais como Mg, Fe, Pb e Ag (OMO-IRABOR et al., 2008). A correlação entre esses parâmetros se mostrou forte para o ribeirão Limeira, possivelmente causada pela interferência gerada por despejos industriais e de solos agrícolas.

As correlações positivas entre os ensaios de toxicidade do sedimento com o organismo *C. xanthus* e os metais Mg e Mn, determinados na água, provavelmente, estão relacionadas com a rápida sedimentação desses elementos e, conseqüentemente, seu acúmulo no sedimento, causando possível efeito tóxico aos organismos. O que havia sido constatado pelas análises dos bioensaios.

Após a correlação de Pearson, foi aplicada a análise de agrupamento das variáveis (CA) (Anexo B2), no entanto essa técnica comumente agrupa as variáveis e não oferece a possibilidade de redução das mesmas. Então foi aplicado a PCA com o objetivo de reduzir as variáveis.

Foi gerada uma matriz de dados multivariados, tanto entre os indivíduos (pontos amostrais) como entre variáveis, através da obtenção dos autovalores e autovetores (Anexo B3). Para essa análise foram desprezadas as variáveis que tinham *missings* (ausência de dados em algum mês, ex: Temp, Turb, SedCx e SedCsilv – ver legenda do Anexo B3) e executada uma análise de componentes principais com todas as 42 observações, entretanto das 25 variáveis, foram excluídas ainda aquelas que só tinham zeros (Cr, Cu e Ni), restando somente 22 variáveis. A Tabela 5.16 mostra os autovalores, a proporção e a proporção acumulada.

Tabela 5.16 – Autovalores, proporção e cumulativa dos autovalores para as 22 variáveis da PCA.

	Autovalor	Proporção	Proporção acumulada
1	4,8264	0,219	0,219
2	3,0407	0,138	0,358
3	2,6152	0,119	0,476
4	2,0039	0,091	0,568
5	1,3931	0,063	0,631
6	1,2905	0,059	0,690
7	1,1745	0,053	0,743
8	1,1269	0,051	0,794
9	0,8797	0,040	0,834
10	0,8212	0,037	0,871
11	0,7205	0,033	0,904
12	0,5554	0,025	0,929
13	0,4810	0,022	0,951
14	0,3204	0,015	0,966
15	0,2858	0,013	0,979
16	0,1622	0,007	0,986
17	0,1058	0,005	0,991
18	0,0720	0,003	0,994
19	0,0534	0,002	0,997
20	0,0430	0,002	0,999
21	0,0269	0,001	1,000
22	0,0016	0,000	1,000

Nessa análise os oito (8) autovalores maiores que 1 (calculados a partir da matriz de correlações) representaram 79,4% da proporção acumulada, que é a variabilidade total dos dados. Portanto, oito (8) componentes foram formados pelas 22 variáveis analisadas, segue abaixo os grupos e seus componentes principais (Tabela 5.17).

Tabela 5.17 – Resumo dos oito (8) componentes principais, as variáveis físico-químicas e processos dominantes que podem interferir nas águas superficiais.

Componentes	Variáveis	Principais processos de interferência
1	Mg, Pb	Poluição industrial e atmosférica (veicular)
2	condutividade, cor, dureza	Carreamento superficial e erosão das margens
3	Fósforo, Fe, oxigênio, Ag	Poluição industrial, carreamento superficial
4	pH, nitrato, Zn, toxicidade da água <i>P. subcapitata</i>	Carreamento superficial, poluição industrial e agricultura
5	DBO, nitrito, Mn, toxicidade da água <i>D. similis</i>	Poluição industrial, doméstica
6	coliformes termotolerantes	Poluição doméstica e agropecuária
7	DQO, toxicidade da água <i>C. silvestrii</i>	Poluição industrial, doméstica
8	Cd, toxicidade do sedimento <i>D. silmilis</i> ,	Poluição industrial

Esses dados indicam que com apenas oito (8) componentes, dos 22 gerados, foi possível explicar 79,4% das variações observadas. O fator 1 (Mg, Pb) explica 21,9% da variância total, o fator 2 (condutividade, cor, dureza) cerca de 14% da variância total, o fator 3 (Fósforo, Fe, oxigênio, Ag), aproximadamente, 12% da variância entre os parâmetros. Esse três fatores conseguem explicar cerca de 50% das variações ocorridas no ribeirão Limeira, no entanto, recomenda-se um mínimo de 70% para um melhor entendimento dos processos ocorridos no ambiente (KAZI et al., 2009).

Para finalizar a análise, através dos oito (8) componentes principais, aplicou-se CA aos pontos (P0 a P6) e dessa forma gerou-se uma média para cada ponto (Tabela 5.18) a fim de se verificar quais pontos apresentavam comportamento semelhante em relação às variáveis.

Tabela 5.18 – Médias geradas para cada ponto amostral através das 42 observações.

Linha	Ponto	médias
1	P0	0,13237
2	P1	0,28663
3	P2	0,40816
4	P3	0,12592
5	P4	-0,44301
6	P5	-0,12291
7	P6	-0,27799

O agrupamento dos componentes gerou uma matriz de dissimilaridade (Tabela 5.19) e posteriormente foi elaborado um dendograma onde essa dissimilaridade foi

definida pela distância Euclidiana e pela combinação de agrupamento baseada no método *Ward* (Figura 5.19).

Tabela 5.19 – Matriz de dissimilaridade definida pela distância Euclidiana

Ponto	Distância Euclidiana						
	1:P0	2:P1	3:P2	4:P3	5:P4	6:P5	7:P6
1:P0	,000	,154	,276	,006	,575	,255	,410
2:P1	,154	,000	,122	,161	,730	,410	,565
3:P2	,276	,122	,000	,282	,851	,531	,686
4:P3	,006	,161	,282	,000	,569	,249	,404
5:P4	,575	,730	,851	,569	,000	,320	,165
6:P5	,255	,410	,531	,249	,320	,000	,155
7:P6	,410	,565	,686	,404	,165	,155	,000

Através do dendograma pode-se agrupar o ribeirão em 3 grupos distintos, tais que: o primeiro grupo é formado pelos pontos P0 e P3, o segundo pelo P1 e P2, o terceiro grupo por P4, P5 e P6. Os grupos formados mostram a similaridades entre os pontos amostrais em relação aos parâmetros analisados durante a avaliação do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08).

Figura 5.19 – Dendograma de análise de agrupamento com base nos valores de PCA. Dissimilaridade definida pela distância Euclidiana e pela combinação de agrupamento, baseada no método *Ward*.

A diferença de uso e ocupação do solo e impactos entre os trechos favoreceram os agrupamentos, onde grupo 1 (P0 e P3), grupo 2 (P1 e P2) e grupo 3 (P4, P5 e P6) apresentaram baixa poluição, alta poluição e moderada poluição, respectivamente.

Esse tipo de análise favorece uma avaliação rápida da qualidade da água, demonstrando que é possível utilizar um local (ponto amostral) de cada grupo (cluster) para realizar uma avaliação espacial completa de um determinado ambiente aquático,

reduzindo assim os custos de uma rede de monitoramento sem perder a qualidade dos resultados. Outros autores verificaram situações semelhantes e relataram tal eficiência da técnica de CA para essa aplicação (KAZI et al., 2009; SIMEONOV et al., 2004).

Através das análises estatísticas de similaridade e de correlação foi possível verificar a existência de correlação significativa entre os parâmetros, bem como o comportamento similar entre os pontos amostrais do ribeirão Limeira durante este estudo.

5.6 Bioensaios *in situ*

Os bioensaios *in situ* foram acrescentados a esse estudo para um melhor entendimento da dinâmica e possível explicação para os resultados anteriormente encontrados no ponto P4, que evidenciaram toxicidade (aguda e/ou crônica) no sedimento durante toda a avaliação do ribeirão Limeira (set/07 a jul/08). Além disso, proporcionar a comparação entre ensaios laboratoriais e ensaios realizados no próprio ambiente, o que pode revelar uma realidade diferente em relação à disponibilidade de contaminantes em amostras e no ambiente e, conseqüentemente, influenciar nos resultados de toxicidade.

Durante os ensaios *in situ*, realizados no mês de agosto de 2010, foram pré-selecionados três pontos amostrais (A, B e P4), onde foram realizados os bioensaios e coletadas amostras de água e sedimento para as análises físicas, químicas e ecotoxicológicas. Foi realizada também coleta de amostras de água e sedimento em um ponto extra, denominado AFL (afluente), que se localizava na foz do ribeirão da Plantação, a fim de verificar possível influência desse tributário no ribeirão Limeira.

Os parâmetros físicos e químicos revelaram uma pequena variação nos dados obtidos do ribeirão Limeira quando comparados aos do ribeirão da Plantação. O pH (7,6) e a DQO (5,8 mg.L⁻¹ O₂) no ponto AFL (foz do afluente) estiveram um pouco mais elevados em relação aos valores verificados nos pontos do ribeirão Limeira A, B, P4. Enquanto os parâmetros STD, condutividade, turbidez e dureza foram maiores nos pontos A, B, P4 quando comparados ao ponto AFL (Tabela 5.20).

Tabela 5.20 – Parâmetros físicos e químicos da água, amostragem de agosto de 2010, ensaios *in situ*.

	OD mg.L ⁻¹ O ₂	pH	STD ppm	Cond. μS/cm	Temp °C	Turbidez NTU	Dureza mg.L ⁻¹ CaCO ₃	DQO mg.L ⁻¹ O ₂	DBO mg.L ⁻¹ O ₂
A	8,3	6,3	14	30	17,9	12,7	6,7	1,0	*ILD
AFL	8,8	7,6	7	15	19	8,0	2,1	5,8	2,2
B	9,0	6,5	14	28	17,5	10,7	6,2	2,8	ILD
P4	9,4	6,5	14	29	17	9,0	6,2	1,8	3,8

*ILD - Inferior ao limite de detecção

Tais diferenças observadas mostram que os pontos localizados no ribeirão Limeira, mesmo após a contribuição do ribeirão das Plantações, apresentam seus valores sem variações significativas, indicando que a contribuição desse ribeirão não afeta a qualidade da água do ribeirão Limeira a ponto de causar uma alteração nos parâmetros analisados ou até mesmo poluição.

A análise de íons da água não indicou variações significativas entre os pontos amostrais quanto à presença de cátions e ânions (Tabela 5.21).

Tabela 5.21 – Valores dos íons analisados na água, amostragem agosto de 2010, ensaios *in situ*.

	Ânions (ppm)					cátions (ppm)				
	fluoreto	cloreto	brometo	nitrato	sulfato	sódio	amônio	potássio	magnésio	cálcio
A	0,12	0,58	0,15	2,90	1,33	8,10	0,22	2,32	0,92	2,07
AFL	0,10	0,38	0,11	0,28	0,21	5,29	0,11	1,62	0,45	1,13
B	0,14	0,58	0,14	2,57	0,43	7,74	0,15	2,26	0,89	2,11
P4	0,13	0,53	0,12	2,11	0,43	7,40	0,21	2,34	0,93	2,03

Os parâmetros do sedimento, como matéria orgânica, fósforo total e granulometria revelaram que em todos os pontos este compartimento apresenta característica inorgânica (valores inferiores a 10%) (Tabela 5.22). Os valores de fósforo também corroboram com essa característica e a predominância de grãos de areia (superior a 80%), desfavorecendo o acúmulo de matéria orgânica ou possíveis contaminantes que, geralmente, se acumulam em sedimentos com característica argilosa.

Esses resultados, juntamente com os valores de nitrato e amônio do sedimento, sugerem que este ambiente não recebeu cargas de esgotos domésticos ou outros tipos de descartes com elevadas cargas de nutrientes. Essas características irão determinar os padrões e distribuição das comunidades biológicas, além de estarem relacionados com a quantidade de energia do sistema, tipos de uso e ocupação do solo, composição química de

substratos e os efeitos diretos e indiretos sobre a fauna bentônica (BARBOSA, 2000; DELISTRATY, 2007; PASCHOAL, 2002).

Tabela 5.22 - Resultados de matéria orgânica, fósforo total e granulometria do sedimento dos pontos A, AFL, B e P4, agosto de 2010.

	Matéria orgânica	Fósforo total mg.g ⁻¹	Granulometria (%)		
			areia grossa	areia fina	silte+argila
			0,2 a 2mm	0,07 a 0,2mm	inferior a 0,07mm
A	2,7%	0,211	76	16	7
AFL	3,4%	0,261	56	29	15
B	4,6%	0,152	86	11	2
P4	2,2%	0,144	76	19	4

Os íons presentes no sedimento revelaram a existência de uma fonte de poluição que está contribuindo com o aumento na concentração dos ânions cloreto, nitrato, sulfato e dos cátions sódio, potássio, magnésio e cálcio, no ponto B, quando comparados aos valores obtidos nos outros pontos (Tabela 5.23). A possibilidade da entrada desses íons no ambiente não é descartada, tendo em vista que próximo a esse ponto (cerca de 50m) existem pequenas plantações (pomar e horta), sugerindo a presença de defensivos agrícolas na área próxima ao ponto B. Tais agrotóxicos, como herbicidas e formicidas, são compostos organofosforados, além de outras substâncias como calcário e adubo químico, que podem liberar íons no meio devido a suas formulações.

Tabela 5.23 – Valores dos íons analisados no sedimento, amostragem agosto de 2010, ensaios *in situ*.

	Ânions (ppm)					Cátions (ppm)				
	fluoreto	cloreto	brometo	nitrato	sulfato	sódio	amônio	potássio	magnésio	cálcio
A	ILD	0,25	0,07	ILD	0,35	350,05	ILD	7,00	ILD	ILD
AFL	ILD	0,25	0,12	ILD	0,16	211,89	14,18	73,00	11,26	4,91
B	0,12	4,91	ILD	9,49	35,28	20498,84	ILD	137,24	27,93	90,90
P4	ILD	0,14	0,13	ILD	0,09	99,11	ILD	18,22	ILD	6,25

Cotta e colaboradores (2006) verificaram a capacidade de troca catiônica (CTC) em sedimentos do rio Betari – SP. Entende-se por CTC a efetiva capacidade de troca de cátions metálicos totais trocáveis (Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ e Na^+) do sedimento ou a capacidade do sedimento em reter cátions, em um valor de pH próximo ao seu valor natural. Os elevados valores de metais biodisponíveis em sedimento, no rio Betari, mostraram-se proporcionais a CTC, indicando que locais com altos valores de CTC favorecem maior disponibilidade de metais para a biota aquática. Tendo essa situação em vista, supõe-se que os elevados

valores encontrados de cátions metálicos totais e ânions, no ponto B, estão relacionados a uma possível disponibilidade desses íons à microbiota aquática.

Os resultados dos ensaios *in situ* indicaram toxicidade aguda no ambiente aquático para larvas de *C. xanthus* nos pontos B e P4. Já os ensaios de laboratório realizados com amostras dos mesmos locais, não apresentaram toxicidade para nenhum organismo utilizado (Tabela 5.24).

Tabela 5.24 – Ensaios de toxicidade *in situ* no ribeirão Limeira e em laboratório com amostras de água e sedimento.

	Ensaios <i>in situ</i>			Ensaios em laboratório				
	<i>D. similis</i>	<i>C. silvestrii</i>	<i>C. xanthus</i>	<i>D. similis</i>		<i>C. silvestrii</i>		<i>C. xanthus</i>
				água	sedimento	água	elutriato	sedimento
A	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
B	NT	NT	Tóxico	NT	NT	NT	NT	NT
P4	NT	NT	Tóxico	NT	NT	NT	NT	NT

NT – não tóxico

Conforme os valores observados de cátions e ânions no sedimento, a toxicidade relatada no ponto B possivelmente está relacionada às substâncias químicas potencialmente tóxicas provenientes da área em torno desse ponto, utilizadas como fertilizantes e no combate de pragas das plantações.

O ponto P4 não apresentou altos valores de cátions comparados ao ponto B, contudo foi verificada toxicidade para o *C. xanthus* nesse local, o que possivelmente pode estar relacionado a outros compostos não analisados neste estudo. Pequenas frações de substâncias químicas hidrofóbicas presentes nos ecossistemas aquáticos se encontram na água, geralmente estas se associam ao material particulado suspenso e posteriormente se depositam no sedimento, onde são encontradas as maiores concentrações (CONRAD et al., 1999; MOREIRA et al., 2010).

Essa situação mostra que os ensaios *in situ* refletem melhor a realidade do ecossistema aquático, sem perturbações ocasionadas pela retirada da amostra (sedimento), além de ocorrerem flutuações naturais do ambiente (luz, temperatura, fluxo, entre outras) o que reforça o efeito tóxico em sedimentos contaminados, enquanto os ensaios laboratoriais podem mascarar algumas reações que ocorrem no ambiente, devido à redução da toxicidade durante a estocagem e transporte, gerando falsos negativos (CASTRO et al., 2003; CRANE et al., 2007; FARIA et al., 2008; LOPES et al., 2011). Diferente dos resultados encontrados no rio Monjolinho, São Carlos –SP, por Dornfeld e colaboradores (2006), onde muitos organismos morreram durante os ensaios *in situ*.

O presente estudo não apresentou mortalidade no ponto controle (A) e também não foi verificada a presença de muitos organismos invasores a ponto de causar interferência nos ensaios. A sobrevivência dos outros organismos utilizados, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*, pode estar relacionada aos hábitos epibênticos desses cladóceros. Outros pesquisadores verificaram que o fato de os microcrustáceos não terem contato constante com o sedimento contaminado, ficando o maior tempo na coluna d'água, não favoreceu o efeito tóxico das substâncias presente no sedimento (LOPES et al., 2007). O compartimento água também não apresentou toxicidade para esses organismos durante os ensaios *in situ* e de laboratório, possivelmente porque os compostos que causaram a toxicidade ao sedimento não estavam solubilizados na água.

Os bioensaios *in situ* mostraram que é necessário cautela na interpretação ensaios laboratoriais e sempre que houver suspeita de contaminação dos sedimentos, bioensaios *in situ* devem ser realizados, pois os resultados estão intimamente relacionados com as situações do ambiente (MOREIRA-SANTOS et al., 2002; PEREIRA et al., 2002; SOARES et al., 2005).

6. CONCLUSÕES

✓ Embora se tenha forte influência da sazonalidade nas respostas das variáveis analisadas, os parâmetros físico-químicos e ensaios ecotoxicológicos indicaram, em alguns pontos, impactos na dinâmica do ribeirão Limeira e contaminação de origem antrópica. No entanto, essas alterações pontuais não foram suficientes para promover uma piora significativa na qualidade da água no sentido nascente – foz.

✓ Quanto à proteção da vida aquática, segundo o IVA, as águas do ribeirão Limeira são classificadas como regulares e, conforme o índice de estado trófico como mesotrófico. Alguns dos parâmetros analisados da água estavam fora dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 para rios de Classe I e II, em determinados meses. Portanto, a classificação da água do ribeirão está de acordo com o Decreto Estadual nº. 10.755 de 1977, que o enquadra na Classe I até a confluência com o ribeirão do Ronco e após tal trecho Classe II, até sua foz no rio Paraíba do Sul.

✓ O sedimento foi caracterizado como arenoso e inorgânico (com baixo teor de matéria de orgânica e fósforo) na maioria dos pontos amostrados, exceto o ponto P1, onde a concentração de matéria orgânica e fósforo o caracterizaram como sedimento orgânico.

✓ Os ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento indicaram que alguns trechos do ribeirão, possivelmente, foram contaminados por substâncias tóxicas e juntamente com o IVA, confirma-se a existência de impacto, podendo afetar a biota aquática do ribeirão.

✓ As análises estatísticas de PCA e CA revelaram, pela similaridade entre os pontos, que o ribeirão Limeira é dividido em três trechos distintos: o primeiro com baixa poluição (P0 e P3), o segundo com alta poluição (P1 e P2) e o terceiro com moderada poluição (P4, P5 e P6).

✓ Os ensaios *in situ* indicaram toxicidade aguda nos pontos P4 e ponto B, confirmando a hipótese de que o sedimento, nos referidos pontos, ainda se encontra contaminado com substâncias tóxicas. Esses bioensaios *in situ* demonstraram eficácia nas avaliações ecotoxicológicas do ribeirão, ao indicar o efeito tóxico aos organismos-teste, quando comparados aos ensaios realizados em laboratório.

RECOMENDAÇÕES

As análises estatísticas indicaram que o ribeirão Limeira apresenta três trechos distintos, possibilitando a redução de sete pontos amostrais para três, sem perder a representatividade dos resultados. Dessa forma, a criação de uma rede de monitoramento seria uma ferramenta eficaz, favorecendo a obtenção de dados para estudos de média e longa duração. O monitoramento propiciará o levantamento de dados para o entendimento das possíveis alterações desse ambiente aquático, inclusive as relacionadas às mudanças climáticas.

Outros tratamentos estatísticos podem ser aplicados, como por exemplo, a Análise de Correspondência Canônica (CCA) e análise de fatores (FA). É importante também uma integração dos parâmetros físico-químicos da água e do sedimento através de análise multivariada desses dados.

Por se tratar de uma bacia hidrográfica que apresenta diversas áreas com plantações de eucalipto, é importante uma maior fiscalização desse ambiente em relação à presença de defensivos agrícolas. Portanto, recomenda-se a realização de outras análises físico-químicas não contempladas neste estudo, tais como compostos orgânicos (hidrocarbonetos poliaromáticos e compostos organoclorados e organofosforados) e carbono orgânico total.

A realização de ensaios *in situ* revelou eficiência ao indicar a situação do ambiente em relação à presença de substâncias tóxicas. Indica-se, neste caso, a realização desses ensaios, simultâneos aos ensaios laboratoriais, em outros pontos do ribeirão, por exemplo, no ponto P1, permitindo uma melhor compreensão da dinâmica do ambiente.

A aplicação de estudos de risco ambiental (ERA) no ponto P1 e P4 também são recomendáveis, considerando os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos no P1 e os resultados dos ensaios de toxicidade laboratoriais e *in situ* no sedimento do P4.

Faz-se necessária a participação de toda a sociedade em projetos de curto, médio e longo prazos, envolvendo os aspectos econômicos, sociais e ambientais, que promovam a recuperação e manutenção da qualidade do ribeirão Limeira. A criação de um banco de dados, disponível inclusive em ambiente virtual, visando à divulgação e facilidade de acesso às informações geradas nesta pesquisa, será importante para a conscientização e manutenção da qualidade socioambiental da bacia hidrográfica do ribeirão Limeira. O banco de dados facilitará a disseminação dessas informações à comunidade científica, aos agentes do sistema de gerenciamento de recursos hídricos, como os comitês e agências de bacias hidrográficas, e à sociedade em geral.

REFERÊNCIAS

- ABNT. Ecotoxicologia aquática – preservação e preparo de amostras. **Norma NBR 15469:2007**. Rio de Janeiro, ABNT, 2007a.
- _____. Água - Ensaio de Toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). **Norma NBR 12713:2004**. Rio de Janeiro, ABNT, p.16. 2004.
- _____. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*) **Norma NBR 12648:2005**. Rio de Janeiro, ABNT, p.24. 2005a.
- _____. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustácea, Cladocera) **Norma NBR 13373:2005**. Rio de Janeiro, ABNT, p.15. 2006a.
- _____. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Danio rerio*. **Norma NBR 15088:2004**. Rio de Janeiro, ABNT, 2006b.
- _____. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – – Método de ensaio com misidáceos (Crustacea). **Norma NBR 15308:2005c**. Rio de Janeiro, ABNT, 2005c.
- _____. Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. **Norma NBR 9898:87**. Rio de Janeiro, ABNT, 1987.
- _____. Produtos químicos – Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente. **Norma NBR 14725:2009**. Parte 2: Sistema de classificação de perigo. ABNT, 2009.
- _____. Toxicidade em sedimento - Método de ensaio com *Hyalella spp* (Amphipoda). **Norma NBR 15470:2007**. Rio de Janeiro, ABNT, 2007b.
- ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic Toxicology Test Methods . In: autores. **Quantifying and Measuring Ecotoxicological Effects**. 2nd. Boca Raton, Florida: CRC Press. 2003. Cap. 2.
- ALI, M.; SREEKRISHNAN, T.R. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. **Advances in Environmental Research**. v. 5, p.175-196, 2001.
- ALKARKHI, A. F. M.; ISMAIL, N.; AHMED, A.; EASA, A. Analysis of heavy metal concentrations in sediments of selected estuaries of Malaysia—a statistical assessment. **Environ Monit Assess**. 153. p.179–185. 2009.
- ALMEIDA, C.A. Estudo ecotoxicológico do sedimento de represas do rio Tietê com o organismo-teste bentônico *Chironomus xanthus* Rempel (insecta:díptera). Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2002.
- ALONSO, A.; LANGE, H.J.; PEETERS, E.T.H.M. Development of a feeding behavioural bioassay using the freshwater amphipod *Gammarus pulex* and the Multispecies Freshwater Biomonitor. **Chemosphere**, v.. 75, p. 341–346. 2009.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. Amer. Publ. Health Ass. p.5.68, N. Y. 1999.
- ANDERSEN, J.M. An ignition method for determination total phosphorus in lake sediments”. **Wat. Res.**, v.. 10, p. 329-331.1976.
- ARAGÃO, M. A., ARAÚJO, R. P. A. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. In: ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos**. E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 117-147.

ARAÚJO, R.P.A.; SHIMIZU, G.Y.; BOHRER, M.B.C.; JARDIM, W. Avaliação da qualidade de sedimentos In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006, p. 478. 293-326p.

ARENZON, A. **Ensaio ecotoxicológicos no monitoramento da qualidade de água subterrâneas potencialmente impactadas**. Porto Alegre, 2004. 127p. Tese (Doutorado) Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 2007. Cap. 8.

BARBÉRIO, A.; L., BARROS; J.C., VOLTOLINI; MLS., MELLO. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Braz. J. Biol.**, v.69, n.3, p. 837-842, 2009.

BARBOSA, R.M. **Avaliação do impacto de lodos de estação de tratamento de água à biota aquática através de estudos ecotoxicológicos**. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos. 2000. 200 p.

BARBOSA, A.C. **Agentes químicos tóxicos. Organizado por IBAMA. Conhecimento científico para gestão ambiental**. Brasília, 1995. v.1, p.233-269.

BARGHIGIANI, C.; RISTORI, T.; SCERBO, R.; CINI, C.; NOTTOLI, R.; MOSCHINI, L.; GIACONI, V. Assessment of water pollution and suitability to fish life in six Italian rivers. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 66, p.187–205, 2001.

BARRETO-RODRIGUES, M.; SILVA, F.T.; PAIVA, T.C.B. Caracterização física, química e ecotoxicológica de efluente da indústria de fabricação de explosivos. **Quim. Nova**, v. 30, n. 7, p. 1623-627, 2007.

BELLUTA, I.; SILVA, AM.M.; CAMARGO, C.H.C.; RALL, V.L.M. Impacts on the springs of Cintra Stream (Botucatu, São Paulo State, Brazil) and downstream variations in water quality. **Acta Limnol. Bras.** v. 21, p. 11-24. 2009.

BELO, A.; QUINÁIA, S.P.; PLETSCH, A.L. avaliação da contaminação de metais em sedimentos superficiais das praias do lago de Itaipu. **Quim. Nova**, v. 33, n 3, p. 613-617. 2010

BERE, T. Benthic diatom community structure and habitat preferences along an urban pollution gradient in the Monjolinho River, São Carlos, SP, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, n. 1, p. 80-92. 2010.

BERGQUIST, D.C.; HEUBERGER, D.; STURMER, L.N.; BAKER, S.M. Continuous water quality monitoring for the hard clam industry in Florida, USA. **Environ Monit Assess.**, v. 148, p. 409–419, 2009.

BERTOLETTI, E. Tratabilidade e toxicidade de efluentes industriais. **Engenharia Sanitária**, v. 28, n.1, p. 38-41. 1989.

BHAKDISONGKHAM, T.; KOOTTATEP, S.; TOWPRAYOON, S. A Water Model for Water and Environmental Management at Mae Moh Mine Area in Thailand. **Water Resour. Manage.** v.21, p.1535 – 1552, 2007.

BLAISE, C. & KUSUI, T. Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate-based *Hydra attenuata* assay. **Environ. Toxicol. Water Quality**, v.12, p. 53-67. 1997.

BLAISE, C.; GAGNÉ, F.; BOMBARDIER M. Recent developments in microbiotesting and early millennium prospects. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 123, p. 11–23, 2000.

BOTTA, C.M.R.; ARAÚJO, R.P.A.; SILVÉRIO, P.F.; ALMEIDA, F.V.; MOZETO, A.A. Avaliação e identificação da toxicidade (AIT) de amostras de sedimento de água doce. In: MOZETO, A. A., UMBUZEIRO, G. A., JARDIM, W. F. Projeto Qualised. **Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce**. Cubo Multimídia: São Carlos, 2006.

BURTON, JR., G. A.; DEBRA L. DENTON, KAY HO, AND D. SCOTT IRELAND. Sediment Toxicity Testing: Issues and Methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A.J. et. al. (Org.). **Handbook of ecotoxicology**. 2ª. ed. CRC:PRESS, 2002.

BUIKEMA JR., A. L.; NIEDERLEHNER, B. R.; CAIRNS, JR.,J. Biological monitoring: part iv –toxicity testing. **Water Resources**. v.. 16, p. 239-262. 1989.

BURTON, G.A.J.; MACPHERSON, C. Sediment toxicity testing issues and methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A.J. et. al. (Org.). **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis. p.70-82. 1995.

CALIJURI, M.C.; CUNHA, D.G.F.; QUEIROZ, L.A.; MOCCELLIN, J.; AND MIWA, A.C.P. Nutrients and chlorophyll-*a* concentrations in tropical rivers of Ribeira de Iguape Basin, SP, Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v. 20, n. 2, p. 131-138. 2008.

CALOW, P. **Handbook of ecotoxicology**. Oxford: London, UK. 1993.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT – CCME. Protocol for derivation of Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. CCME EPC – 98E. 1999.

CARDOZO,T.R.; ROSA,D.P.; FEIDEN,I.R.; ROCHA,J.V.; OLIVEIRA,N.C.D’A.; PEREIRA,T.S.; PASTORIZA,T.F.,LEMOES,C.T.,TERRA,N.R.,VARGAS,V.M.F.,2006.Genotoxicity and toxicity assessment in urban hydrographic basins. **Mutat. Res.** v. 603, p.83–96. 2006.

CARMO, M.S.; BOAVENTURA, G.R.; OLIVEIRA, E.C. Geoquímica das águas da bacia hidrográfica do rio Descoberto, Brasília/DF – BRASIL. **Quím. Nova**,v.. 28, n. 4, p. 565-574, 2005.

CARNEIRO, F.M.; ANGELINI, R.; CARVALHO, AR.; BINI, LM. Synchrony among limnological variables in a lotic system (Meia Ponte River, Goiás, Brazil). **Acta Limnol. Bras**, v.. 21, n. 3, p. 287-292. 2009.

CARVALHO, C. F.; FERREIRA, A.L. STAPELFELDT, F. Qualidade das águas do ribeirão Ubá- MG. **REM: R. Esc. Minas, Ouro Preto**, v.. 57, n.3, p. 165-172. 2004.

CASTRO, B. B.; GUILHERMINO, L.; RIBEIRO, R. In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparius*. **Environmental Pollution**, v. 125, p. 325–335 2003.

CHANG, H. Spatial analysis of water quality trends in the Han River basin, South Korea. **Water research**. v.. 42. p. 3285 – 3304. 2008.

CHAPPIE, D.J; BURTON JR, A. Optimization of in situ bioassays with *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans* . **Environmental Toxicology and Chemistry**. v.. 16, nº. 3, p. 559–564. 1997.

CHERRY, D.S., CURRIE, R.J., SOUCEK, D.J., LATIMER, H.A., TRENT, G.C. An integrative assessment of a watershed impacted by abandoned mine land discharges. **Environ. Pollut.** v.. 111, p. 377–388. 2001.

CLEMENTS, W.H., KIFFNEY, P.M. Integrated laboratory and field approach for assessing impacts of heavy metals at the Arkansas River, Colorado. **Environ. Toxicol. Chem.** v.. 13, p. 397–404, 1994.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. CETESB. Coliformes fecais – Determinação em amostras de água pela Técnica de Tubos Múltiplos com Meio A₁. **Norma Técnica L5.406**, São Paulo, CETESB. 1992.

_____. Água do mar - teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*. **Norma Técnica L5.250**, São Paulo, CETESB, 1999.

_____. Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Método da diluição e incubação (20° C, 5 dias). **Norma Técnica L5.120**, São Paulo, CETESB. 1991.

_____. Determinação de nitrato em águas: método de ácido fenoldissulfônico: método de ensaio. **Norma Técnica L5.137**. São Paulo, CETESB. 1978.

_____. Determinação de Oxigênio dissolvido de Winkler modificado pela azida sódica. **Norma Técnica L5.169**, São Paulo, CETESB, 1978.

_____. **Ficha de informação de produto químico: Diazinon**. http://www.cetesb.sp.gov.br/Emergencia/produtos/ficha_completa1. Acessado em fevereiro de 2010.

_____. **Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo**. Série relatórios. 2003.

_____. **Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo**. Série Relatórios. 2006.

_____. **Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo**. Série Relatórios. 2008.

_____. **Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo**. Série Relatórios: 2009.

_____. Teste de toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* (met. de ensaio). **Norma Técnica L5.227**, São Paulo, CETESB, 2001.

CONRAD, A. U.; FLEMING, R. J.; CRANE, M. Laboratory and field response of chironomus riparius to a pyrethroid insecticide. **Wat. Res.** v.. 33, n. 7, p. 1603 – 1610. 1999.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. CONAMA. Resolução nº 20, de 18 de Junho de 1986. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília. 1986.

_____. Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília. 2005.

_____. Resolução nº 274 de 29 de novembro de 2000. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília. 2000.

COSTA, C.R.; OLIVI, PAULO; BOTTA, C.M.R.; ESPÍNDOLA, E.L.G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quim. Nova**, v.. 31, n. 7, p. 1820-1830. 2008.

Cotta e colaboradores (2006)

CRANE, M.; DELANEY, P.; MAINSTONE, C.; CLARKE, S. Measurement by in situ bioassay of water quality in an agricultural catchment. **Water Res.**, v.. 29, p. 2441–2448. 1995.

CRANE, M.; BURTON, G.A.; CULP, J.M.; GREENBERG, M.S.; MUNKITTRICK, K.R.; RIBEIRO, R.; SALAZAR, M.H.; ST-JEAN, S.D. Review of aquatic in situ approaches for stressor and effect diagnosis. **Integr. Environ. Assess. Manag.** v.. 3, p. 234 – 245. 2007.

CULP, J.M., LOWELL, R.B., CASH, K.J. Integrating mesocosm experiments with field and laboratory studies to generate weight-of evidence risk assessments for large rivers. **Environ. Toxicol. Chem.**, v.. 19, p. 1167–1173. 2000.

DEL GRANDE, M.; REZENDE, M.O.O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do rio Piracicaba/SP – Brasil. **Quim. Nova**, v.. 26, n. 5, p. 678-686. 2003.

DELISTRATY, D.; YOKEL, J. Chemical and ecotoxicological characterization of Columbia River sediments below the Hanford site (USA). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.66, p. 16–28, 2007.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Toxicidade de Resíduos Têxteis Tratados por Microrganismos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 1, 63-66, 2006.

DOMINGUES, I.; SATAPORNVANIT, K.; YAKUPITIYAGE, A. SOARES, A.M.V.M.; NOGUEIRA, A.J.A. In situ assay with the midge *Kiefferulus calligaster* for contamination evaluation in aquatic agro-systems in central Thailand. **Chemosphere**, v. 71, p. 1877–1887, 2008.

DORNFELD, C. B. **Utilização de *Chironomus* sp. (Díptera, Chironomidae) para avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais.** Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 211p. 2006.

DORNFELD, C. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B. K.; NOVELLI, A. Comparação de bioensaios laboratoriais e “in situ” utilizando *chironomus xanthus* na avaliação da toxicidade de sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos, SP). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**, v. 1, n. 2, p. 161-165, 2006.

ESPÍNDOLA, E.L.G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudo ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (eds.) **Limnologia fluvial**. São Carlos: Rima. 2003.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FARIA, M. S.; Lopes, R.J.; Malcato, J.; Nogueira, A.J.A.; SOARES, A. M. V. M. In situ bioassays with *Chironomus riparius* larvae to biomonitor metal pollution in rivers and to evaluate the efficiency of restoration measures in mine áreas. **Environmental Pollution**, v.. 151, p. 213 - 221. 2008.

FABBROCINI, A.; STASIO, M.; ADAMO, R. Computerized spermmotility analysis in toxicity bioassays: A new approach to pore water quality assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v..73, p. 1588–1595. 2010.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. **Toxicology**, v. 205, p. 223–240, 2004.

FERNICOLA, N.A.G.G.; BOHRER-MOREL, M.B.C.; BAINY, A.C.D. Ecotoxicologia. In: AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. **Bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: Rima Editora. 2004, p. 221-243.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados**. 217 p. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos - USP, 1997.

FROEHNER, S.; MARTINS, R.F. Avaliação da composição química de sedimentos do rio Barigui na região metropolitana de Curitiba. **Quim. Nova**, v. 31, n. 8: p. 2020-2026, 2008.

GERHARDT, A.; KIENLE, C.; ALLAN, I. J.; GREENWOOD, R.; GUIGUES, N.; FOUILLA, A.M. MILLS, G.A.; GONZALEZ, C. Biomonitoring with *Gammarus pulex* at the Meuse (NL), Aller (GER) and Rhine (F) rivers with the online Multispecies Freshwater Biomonitor **J. Environ. Monit.**, v.. 9, p. 979–985. 2007.

GERHARDT A, CLOSTERMANN M, FRIDLUND B, SVENSSON B. Monitoring of behavioural patterns of aquatic organisms with an impedance conversion technique. **Environment International**. v.. 20, n. 2, p. 209-219. 1994.

GERHARDT A.; CARLSSON A; RESSEMANN C.; STICH KP. New online biomonitoring system for *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea): In situ test below a copper effluent in South Sweden. **Environ Sci & Technol**, v..32, n.1, p. 150-156. 1999.

GERHARDT, A.; SCHMIDT, S. The Multispecies Freshwater Biomonitor: A Potential New Tool for Sediment Biotests and Biomonitoring. **J Soils & Sediments**, v. 2, n.2, p. 67 – 70. 2002.

GERHARDT, A. A new multispecies freshwater biomonitor for ecologically relevant supervision of surface waters. In: BUTTERWORTH, F., et al. (Eds.), **Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change**, New York:Kluwer-Plenum Press, 2000. v.. 2, p. 301–317.

GHOUALEM, H.; KHOUIDERM, A. Evaluation and biologic treatment of an urban effluent. **Desalination**, v. 222, p. 302–306. 2008.

GHISELLI, G.; JARDIM, W.F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Quim. Nova**, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.

GOULART, M.D.C; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n.1. 2003

GRACA, M.A.S.; RODRIGUES-CAPITULO, A.; OCON, C.; GOMEZ, N. *In situ* tests for water quality assessment: a case study in Pampean Rivers. **Water Research**, v.. 36, p. 4033–4040. 2002.

GUIMARÃES, R.M.; FACURE, K.G.; PAVANIN, L.A.; JACOBUCCI, G.B. Water quality characterization of urban streams using benthic macroinvertebrate community metrics. **Acta Limnol. Bras.**, v.. 21, no. 2, p. 217-226. 2009.

HAMILTON, M.A; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.U. Trimmed Sperman-Karber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, v.11, n.7, p.714-719, 1977. Correction, v.12, n.4, p.417, 1978.

HAMILTON, S. J.; HOFFMAN, D. J. Trace Element and Nutrition Interactions in Fish and Wildlife. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR., G. A.; CAIRNS JR, J. **Handbook of ecotoxicology**. 2nd ed., Florida :CRC Press, 2003, cap. 44.

HAMILTON, S.K. Biogeochemical implications of climate change for tropical rivers and floodplains. **Hydrobiologia**. Published online, 13 January. 2010.

HOCKING, M. B. **Handbook of chemical technology and pollution control**. Oxford, UK: Elsevier Science & Technology Books. 2006.

HOLT, M. S. Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. Food and Chemical Toxicology, v. 38, Supplement 1, p. S21-S27. 2000.

HOPKIN, S.P. *In situ* biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystem. In: CALOW, P. **Handbook of ecotoxicology**. Oxford: London, UK. 1993.

HWANG, H.; ALEGRE, G. F.; BORRELY, S.I.; FLYNN, M.N. Avaliação de toxicidade em sedimentos do rio Juqueri (SP) com *Vibrio fischeri* e *Hyalella azteca*. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.2, n.2, 2009.

IDRIS, A.M. Combining multivariate analysis and geochemical approaches for assessing heavy metal level in sediments from Sudanese harbors along the Red Sea coast. **Microchemical Journal**, v. 2, n. 90, p. 159-163, 2008.

JAMES, R. T.; HAVENS K.; ZHU, G.; QIN, B. Comparative analysis of nutrients, chlorophyll and transparency in two large shallow lakes (Lake Taihu, P.R. China and Lake Okeechobee, USA). **Hydrobiologia**, v. 627, p.211–231, 2009.

JARDIM, G.M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP**. Dissertação (Mestrado). 138p. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - USP, Piracicaba, 2004.

KANGUR, M; KANGUR, K.; LAUGASTE, R.; PUNNING, J.; MÖLS, T. Combining limnological and palaeolimnological approaches in assessing degradation of Lake Pskov. **Hydrobiologia**, v.584, p. 121–132, 2007.

KAZI, T.G.; ARAIN, M.B.; JAMALI, M.K.; JALBANI, N.; AFRIDI, H.I.; SARFRAZ, R.A.; BAIG, J.A.; SHAH, A.Q. Assessment of water quality of polluted lake using multivariate statistical techniques: A case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 2, p. 301-309, 2009.

KEATING, K.I. A system of defined (*sensu stricto*) media for Daphnid (cladocera) culture. **Water Research**, v. 19, n 1, p. 73-78, 1985.

KOVACS, T.G.; MARTEL, P.H.; VOSS, R.H. Assessing the biological status of fish in a river Receiving pulp and paper mill effluents. **Environmental Pollution**, v. 118, p. 123–140, 2002.

KIRKPATRICK, A.J.; GERHARDT, A.; DICK, J.T.A.; MCKENNA, M.; BERGES, J.A. Use of the multispecies freshwater biomonitor to assess behavioral changes of *Corophium volutator* (Pallas, 1766) (Crustacea, Amphipoda) in response to toxicant exposure in sediment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 298–303, 2006.

KÜHL, A.M.; ROCHA, C.L.M.S.C; ESPÍNDOLA, E.L.G; LANSAC-TÔHA, F.A. Rural and Urban Streams: Anthropogenic Influences and Impacts on Water and Sediment Quality. **Internat. Rev. Hydrobiol.**, v.. 95, no.3, p. 260-272. 2010.

LANNO, R. P.; MCCARTY, L. S. Earthworm bioassays: adopting techniques from aquatic toxicity testing. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 314, p. 693-697, 1997.

LEBLANC, G. A. Basics of environmental toxicology. In: HODGSON, E. A **Textbook of Modern Toxicology**. 3rd. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. cap. 26.

LEITE, M. **Análise do aporte, da taxa de sedimentação e da concentração**. Dissertação (mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, USP. 2002.

LEITE, E.H.; HAASE, J.F.; PINEDA, M.D.S.; COBALCHINI, M.S.; SILVA, M.L.C. **Qualidade das águas do rio Gravataí**. Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM, Porto Alegre. 65p. (Relatório Final). 1992/1994. In: SALOMONI, S.E.; ROCHA, O.; LEITE, E. H. Limnological Characterization of Gravataí River, Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v.19, n.1, p. 1-14, 2007.

LEMES, M.J.L.; FIGUEIREDO FILHO, P.M.; PIRES, M.A.P. influência da mineralogia dos sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo na composição química das águas de abastecimento público. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p. 13-20, 2003.

LEMOS, A.T.; Rosa, D.P.; Rocha, J.A.V.; Vargas, V.M.F. Mutagenicity assessment in a river basin influenced by agricultural, urban and industrial sources. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 2058–2065. 2009.

LENZI, E.; FAVERO, L.O.B.; LUCHESE, E.B. **Introdução à química da água: ciência, vida e sobrevivência**. Rio de Janeiro: LTC, 2009. Cap. 12.

LERMONTOV, A.; YOKOYAMA, L.; LERMONTOV, M.; MACHADO, M.A.S. River quality analysis using fuzzy water quality index: Ribeira do Iguape river watershed, Brazil. **Ecological Indicators**, v.. 9, p. 1188–1197. 2009.

LINDE-ARIAS, A.R.; INÁCIO, A.F.; NOVO, L.A.; ALBURQUERQUE, C.; MOREIRA, J.C. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraíba do Sul. **Environmental Pollution** **156 (2008) 974–979**

LOPES, I.; MOREIRA-SANTOS, M.; SILVA, E.M.; SOUSA, J.P.; GUILHERMINO, L. SOARES, A. M. V. M.; RIBEIRO, R. In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Chemosphere**, v.. 67, p. 2250 – 2256. 2007.

LOPES, I.; MOREIRA-SANTOS, M.; OSTEN, J.R.; BAIRD, D.J.; SOARES, A. M. V. M.; RIBEIRO, R. Suitability of five cladoceran species from Mexico for in situ experimentation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.. 74, n. 1, p. 111-116. 2011.

MADONI, P. Ciliated protozoan communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia**, v.. 541, p. 55–69. 2005.

MALTBY, L.; NAYLOR, C.; CALOW, P. Field Deployment of a Scope for Growth Assay Involving *Gammarus pulex*, A Freshwater Benthic Invertebrate. **Ecotoxicology And Environmental safety**, v. 19, p. 292-300, 1990.

MANAHAN, S. E. Fundamentals of aquatic chemistry. In: MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 2000.

MANKIEWICZ-BOCZEK, J. et al. Application of a microbiotests battery for complete toxicity assessment of rivers. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 830– 836, 2008.

MARGALEF, R.. **Limnology now: A paradigm of planetary problems**. Omega: Barcelona. 2ed. Barcelona. 1994.

MARQUES, P.H.C.; OLIVEIRA, H.T.; MACHADO, E.C. Limnological study of Piraquara River (Upper Iguaçu Basin): **Spatiotemporal variation of physical and chemical variables and watershed zoning**,v. 46, n.3, p. 383-394, 2003.

MATTA, M.E.M.; PINHEIRO, F. Classificação de perigo de substâncias e produtos para o ambiente aquático: Sistema GHS. **Revista Intertox de toxicologia, risco ambiental e sociedade**, v..2, n.3. 2009.

MEREGALLI, G.; VERMEULEN, A.C.; OLLEVIER, F. The use of Chironomid deformation in an *in situ* test for sediment toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**,v. 47,p.231-238, 2000.

MESSIAS, G.T. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e ribeirão Claro na bacia do Corumbataí**. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Piracicaba, USP, 2008

MEYLAN, S.; BEHRA, R.; SIGG, L.; Accumulation of Copper and Zinc in Periphyton in Response to Dynamic Variations of Metal Speciation in Freshwater. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n.22, p.5204-5212, 2003

MINAGH, E.; HERNAN, R.; O’ROURKE K.; LYNG, F.M.; DAVOREN, M. Aquatic ecotoxicity of the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride in a battery of freshwater test species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 434– 440, 2009.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005.

MITCHELL, S. B.; THEODORIDOU, A.; POPE, D. J. Influence of fresh water discharge on nutrient distribution in a macrotidal lagoon, West Sussex, UK. **Hydrobiologia**, v. 588, p. 261–270, 2007.

MOORE, J.W.; S. RAMAMOORTHY. **Heavy Metals in Natural Waters. Applying Monitoring and Impact Assessment**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. 268p.

MOREIRA, S.M.; MOREIRA-SANTOS, M.; OSTEN, J.R.; SILVA, E.M.; RIBEIRO,R.; GUILHERMINO, L.; SOARES, A.M.V.M. Ecotoxicological tools for the tropics: Sublethal assays with fish to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 893–899, 2010.

MOREIRA-SANTOS, M.; SOARES, A.M.V.M.; RIBEIRO, R. An *in situ* bioassay for freshwater environments with the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, p. 164–173, 2004a.

MOREIRA-SANTOS, M.; SOARES, A.M.V.M.; RIBEIRO, R. A phytoplankton growth assay for routine in situ environmental assessments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n.6, p. 1549–1560, 2004b.

MOREIRA-SANTOS, M., MORENO-GARRIDO I, GONÇALVES F, SOARES, A.M.V.M, RIBEIRO, R. An in situ bioassay for estuarine environments using the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 21, p.567–574, 2002.

MORETTO, E.M; NOGUEIRA, M.G. Physical and chemical characteristics of Lavapés and Capivara rivers, tributaries of Barra Bonita Reservoir (São Paulo – Brazil). **Acta Limnol. Bras.**, v.15, n.1, p. 27-3, 2003.

MOSKOVCHENKO, D. V.; BABUSHKIN, A. G.; ARTAMONOVA, G. N. Surface water quality assessment of the Vatinisky Egan River catchment, West Siberia. **Environ. Monit. Assess.**,v. 148, p. 359–368, 2009.

MOZETO, A. A., UMBUZEIRO, G. A., JARDIM, W. F. Projeto Qualised. **Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce**. Cubo Multimídia: São Carlos, 2006.

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P.A. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: ZAGATTO, P. A. e BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações**. São Carlos: Rima Editora, 2006. cap. 1, p.15-38.

NOVELLI, A. **Estudo limnológico e ecotoxicológico a água e sedimento do rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência cádmio e cobre**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos – USP, 2005.

OMO-IRABOR, O.O.; Olobaniyi, S.B.; Oduyemi, K.; Akunna, J. Surface and groundwater water quality assessment using multivariate analytical methods: A case study of the Western Niger Delta, Nigeria. **Physics and Chemistry of the Earth**, v.. 33, p. 666–673. 2008.

PABLOS, M.V.; et al. Use of a novel battery of bioassays for the biological characterisation of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 72, p. 1594–1600, 2009.

PAIVA, T.C.B. **Diagnóstico e Monitoramento Ecotoxicológico do ribeirão Limeira: Ações estruturadoras voltadas à proteção e recuperação da microbacia em área urbana e peri-urbana**. Relatório técnico-científico. Projeto CNPq/CT-Hidro/CT-Agronegócio 05/2006 (Proc.500172/2006-4). 2009.

PANHOTA, RS.; BIANCHINI Jr., I. Potencial cycling of organic matter in a eutrophic reservoir (Barra Bonita, SP – Brazil). **Acta Limnol. Bras.** v. 15, n. 2, p. 1-11, 2003,

PASCHOAL, C. M. R. B. **Avaliação ecotoxicológica de sedimentos em reservatórios da acia do rio Tietê, SP, com ênfase na aplicação do estudo de AIT- Avaliação e identificação da toxicidade**. 145p. Tese (doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos – USP, 2002.

PEDLOWSKI, M. A.; AQUINO, S. L.; CANELA, M. C.; SILVA, I. L. A. Um Estudo sobre a Utilização de Agrotóxicos e os Riscos de Contaminação num Assentamento de Reforma Agrária no Norte Fluminense. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 2, p.185-190. 2006.

PEREIRA, A.M.M.; SOARES, A.M.V.M; GONÇALVES, F.; RIBEIRO, R. Water-Column, Sediment, and in Situ Chronic Bioassays with Cladocerans. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, p. 27-38. 2000.

PEREIRA, A.M.M.; SOARES, A.M.V.M; GONÇALVES, F.; RIBEIRO, R. Water-Column, Sediment, and in Situ Chronic Bioassays with Cladocerans. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, p. 27-38, 2000.

PEREIRA, A.M.M.; SOARES, A.M.V.M.; GONÇALVES, F.; RIBEIRO, R. Test chambers and procedures for in situ toxicity testing with zooplankton. **Environ. Toxicol. Chem**, v.18, p.1956–1964, 1999.

PÉRY, A.R.R; MONS, R.; GARRIC, J. Energy-based Modeling to Study Population Growth Rate and Production for the Midge Chironomus riparius in Ecotoxicological Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v.13, p. 647–656, 2004.

POWER, E.A.; CHAPMAN, P.M. Assessing sediment quality. In: BURTON JR. A.G. **Sediment toxicity assessment**. Lewis Publishers, INC., 1992.

PRATER, B. L.; ANDERSON, M. A. A 96- hour bioassay of Otter Creek. **J. Water pollution control federation**, v.49, p. 2090-2106, 1977.

PRIMEL, E. G. *et al.* Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Quim. Nova**, v. 28, n. 4, 605-609, 2005.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO – PNUD. **A água para lá da escassez: poder, pobreza e a crise mundial da água. Relatório do desenvolvimento humano.** New York, 2006.

RAND, G. M. ; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology.** Washington, McGraw Hill, 1985. 666p.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment.** 2nd ed. Washington: Taylor & Francis, 1995.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTHY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: Rand, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment.** 2nd. ed. Washington D.C.: Taylor & Francis, 1995. cap. 1.

REGHUNATH, R., MURTHY, T.R.S., RAGHAVAN, B.R. The utility of multivariate statistical techniques in hydrogeochemical studies: an example from Karnataka, India. **Water Res.**, v. 36, p.2437–2442, 2002.

RIBEIRO, E.N. **Avaliação da sensibilidade dos organismos utilizados em testes de toxicidade nos efluentes das indústrias de explosivos: seleção de uma bateria de testes na busca dos "organismos ideais".** 2008. 165 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2008.

ROSOLEN, V.; HERPIN, U.; COELHO, N.M.M., COELHO, L.M.; BRITO, J.L.S.; SILVA, L.A.; LIMA, S.C. Qualidade dos sedimentos no rio Uberabinha (Uberlândia, MG) e implicações ambientais. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 39, n.1, p. 151-159, 2009.

ROTHERY, E. **Analytical methods for graphite tube atomizer.** Australia: Varian Australia Pty., s.d. Publication nº85-100848-00. 1988.

RYON, G. M.; PAL, C. B.; TALMAGE, S. S.; ROSS, R. H. **Database assessment of the health and environmental effects of munition production waste products.** Fort Frederick, Frederick: Oak Ridge National Laboratory, 1984. 82 p. (AD ORNL-6179). In: RIBEIRO, E.N. **Avaliação da sensibilidade dos organismos utilizados em testes de toxicidade nos efluentes das indústrias de explosivos: seleção de uma bateria de testes na busca dos "organismos ideais".** 2008. 165 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2008.

SALOMONI, S.E.; ROCHA, O.; LEITE, E. H. Limnological Characterization of Gravataí River, Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v.19, n.1, p. 1-14, 2007.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Aprova o Regulamento da Lei nº 997, de 31 de maio de 1976. Decreto 8.468, de 8 de setembro de 1976. **Diário Oficial do Estado**, São Paulo, 1976.

_____. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Decreto Estadual 10.755 de 22 de novembro de 1977.

SHEA, D. Transport and Fate of Toxicants in the Environment. In: HODGSON, E. **A Textbook of Modern Toxicology.** 3rd. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. cap. 27.

SHEN, J.; LIU E.; ZHU, Y.; HU, S.; QU, W. Distribution and chemical fractionation of heavy metals in recent sediments from Lake Taihu, China. **Hydrobiologia**, v.581, p. 141–150, 2007.

SILVÉRIO, P.F. **Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos.** 77p.Dissertação (Mestrado). Departamento de Química – Universidade Federal de São Carlos. UFScar. São Carlos. 2000.

SILVA, G.S.; JARDIM, W.F. Aplicação do método da carga máxima total diária (CMTD) para a amônia no rio Atibaia, região de Campinas/Paulínia – SP. **Eng. Sanit. Ambient.**, v.12, n. 2, p. 160-168. 2007.

SILVA, G. S.; JARDIM, W.F. Um novo índice de qualidade das águas para proteção da vida aquática aplicado ao rio Atibaia, região de Campinas/Paulínia – SP. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 689-694, 2006.

SIMEONOV, V.; SIMEONOVA, P.; TSITOURIDOU, R. Chemometric quality assessment of surface waters: two case studies. **Chem. Eng. Ecol.** v.11, p.449–469, 2004.

SIMS, J. G.; STEEVENS, J. A. The role of metabolism in the toxicity of 2,4,6-trinitrotoluene and its degradation products to the aquatic amphipod *Hyaella azteca*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 70, p. 38–46, 2008.

SIQUEIRA, G. W. **Estudos dos teores de metais pesados e outros elementos em sedimentos superficiais do Sistema Estuarino de Santos (Baixada Santista/São Paulo) e Plataforma Continental do Amazonas (Margem Continental Norte do Brasil)**. 386 p. Tese (Doutorado) – Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

SLATER, A.C. **Rochas**. São Paulo: Edições LEP, 1954.185p.

SMOLDERS, R.; COEN, W.; BLUST, R. An ecologically relevant exposure assessment for a polluted river using an integrated multivariate PLS approach. **Environmental Pollution**, v. 132, p.245–263, 2004.

SOARES, S.; CATIVA, I.; MOREIRA-SANTOS, M.; SOARES, A. M. V. M.; RIBEIRO, R. A Short-Term Sublethal In Situ Sediment Assay with *Chironomus riparius* Based on Postexposure Feeding. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 49, p. 163–172, 2005.

SOTERO-SANTOS, A.R.B.; ROCHA, O.; POVINELLI, A. J. Evaluation of water treatment sludges toxicity using the *Daphnia* bioassay. **Water Research**, v. 39, p. 3909–3917, 2005.

SOTERO-SANTOS, A.R.B.; ROCHA, O.; POVINELLI, A. J. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. **Chemosphere**, v. 68, p. 628–636, 2007.

SPACIE, A.; HAMELINK, J.L. Appendix D, bioaccumulation. In: RAND, G.M. (Ed.) **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. 2nd. ed. Washington, DC, USA : Taylor and Francis, 1995. p. 1052–1082.

SPERLING, M.V. **Princípios básicos do tratamento biológico de águas residuárias: introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

SUGUIO, K. 1973. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Edgard Blücher, s.d. 317 p.

SUNDELIN, B.; ERIKSSON, A. Mobility and bioavailability of trace metals in sulfidic coastal sediments. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 20, n. 4, p. 748–756, 2001.

SZYMANOWSKA, A., SAMECKA-CYMERMAN, A., KEMPERS, A.J. Heavy metals in three lakes in West Poland. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v.43, p. 21–29, 1999.

TAGLIARI, K.C., CECCHINI, R., ROCHA, J.A.V., VARGAS, V.M.F. Mutagenicity of sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under the influence of tanneries. **Mutat. Res.** v.561, p. 101–117, 2004.

TERRA, N.R.; FEIDEN, I.R.; FACHEL, J.M.G., LEMOS, C.T., NUNES, E.A. Ecotoxicological evaluation of sediment and water samples from Sinos River, Rio Grande do Sul, Brazil, using *Daphnia magna* and V79 cells. **Acta Limnol. Brasil**, v. 20, n.1, p.63–72, 2008.

THOMAS, R. L. A protocol for the selection of process-oriented remedial options to control in situ sediment contaminants. **Hydrobiologia**, v. 149, n. 1, p. 247–258, 1987.

TRINDADE, M. **Nutrientes em sedimentos da represa do Broa: Itirapina, SP. São Carlos, SP**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, UFScar. 1980.

TUNDISI, J.G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, s.d. 632 p.

UMBUZEIRO, G.A., ROUBICEK, D.A., SANCHEZ, P.S., SATO, M.I.Z. The Salmonella mutagenicity assay in a surface water quality monitoring program based on a 20-year survey. **Mutat. Res.**, v. 49, p.119–126, 2001.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA/600/R-94/024. **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates**. Washington, D. C., 1994.

_____. **Quality criteria for water**. Washington, D. C., 1976.

VARGAS, G.P.L. **Avaliação ecotoxicológica da Represa da Pampulha (MG) e seus principais tributários**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos – USP, São Carlos. 2002.

VARGAS, V.M.F.; MIGLIAVACCA, S.B.; HORN, C.R.; TERRA, N.R. Comparative temporal ecotoxicological study in a river basin influenced by petrochemical industries. **Sci. Total Environ.**, v. 392, p.79– 92, 2008.

VARGAS, V.M.F., MIGLIAVACCA, S.B., MELO, A.C., HORN, R.C., GUIDOBONO, R.R., SÁ FERREIRA, I.C., PESTANA, M.H.D. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. **Mutat. Res.** v. 490, p. 141–158, 2001.

VIOLA, Z.G.G. **Avaliação da qualidade das águas da Bacia do rio Doce/mg: Caracterização da matéria orgânica e seus impactos ambientais**. Tese (doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte. 2008.

WARREN, L.A. TESSIER, A.; HARE, L. Modelling cadmium accumulation by benthic invertebrates in situ: The relative contributions of sediment and overlying water reservoirs to organism cadmium concentration. **Limnol. Oceanogr.**, v. 43, n.7, p. 1442-1454, 1998.

WHO – World Health Organization. **Assessing human health risks of chemical: derivation of guidance values for health based exposures limits**. Geneve, 1994. 73p.

WILKE, B.M.; RIEPERT, F.; CHRISTINE KOCHA, KUHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** , v.70, p.283–293, 2008.

WORBOYS, M.A.; KENNETH M.Y. LEUNG B,*, ERIC P.M. GRIST A, MARK CRANE. Time should be considered in developmental ecotoxicity test. **Marine Pollution Bulletin**,v. 45, p.92–99, 2002.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006. p. 478.

ZHANG, Y.; GUO, F.; MENG, W.; WANG, X. Water quality assessment and source identification of Daliao river basin using multivariate statistical methods. **Environ. Monit. Assess.**, v. 152, p. 105–121, 2009.

ANEXO A

Anexo A - Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade foram realizados com substâncias de referência, durante o período que ocorreram os ensaios com amostras ambientais do ribeirão Limeira. A validação dos ensaios foi realizada pela constatação, no grupo controle, da taxa de sobrevivência (igual ou superior a 80%) (ABNT, 2005).

Todos os lotes de cultivo dos organismos utilizados em ensaios ecotoxicológicos e tiveram seus níveis de sensibilidade dentro dos limites de aceitação de resultados (compreendidos entre ± 2 desvios-padrão da média de resultados pretéritos) e as cartas-controle foram elaboradas com esses resultados

P. subcapitata

Na avaliação da sensibilidade das culturas algais de *P. subcapitata*, os resultados foram expressos em Concentração de Inibição (CIp) a 50% dos organismos. A carta-controle da sensibilidade dos organismos - teste à substância de referência – sulfato de zinco (ZnSO_4), foi realizada mensalmente, no período de set/07 a jul/08 (Anexo A1).

Anexo A1 – Carta-controle da sensibilidade da alga *P. subcapitata* ao $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mg.L^{-1} , no período de agosto de 2007 a dezembro de 2008, contendo média acumulada de valores e limites superior e inferior do intervalo de confiança.

C. silvestrii e *D. similis*

A avaliação da sensibilidade da *C. silvestrii* e *D. similis* foi realizada com NaCl como substância de referência. Os resultados foram expressos em CE_{50} e as cartas-control de sensibilidade de *C. silvestrii* e *D. similis*, são apresentadas nos anexos A2 e A3 respectivamente, com a média acumulada e limite superior e o inferior do intervalo de confiança.

Anexo A2 - Carta controle da *C. silvestrii* contendo os limites superiores e inferiores e a média acumulada no período de outubro de 2007 a julho de 2008.

A faixa de sensibilidade estabelecida foi o valor médio calculado ± 2 vezes o desvio padrão, segundo Hamilton (1978).

Anexo A3 - Carta-control de sensibilidade de *D. similis* ao NaCl g.L⁻¹, no período de dezembro de 2006 a julho de 2008 contendo média acumulada de valores, limites superior e inferior do intervalo de confiança.

Chironomus xanthus

A avaliação da sensibilidade de *C. xanthus* foi feita mensalmente utilizando-se como substância de referência o KCl. Os resultados foram expressos em CE50 e a carta-controle da sensibilidade de *C. xanthus* é apresentada no anexo A4 com o limite superior, limite inferior do intervalo de confiança e da média acumulada..

Anexo A4 - Carta controle da sensibilidade de *C. xanthus* ao KCl g.L⁻¹ contendo limites superior e inferior do intervalo de confiança e a média acumulada.

A faixa de sensibilidade estabelecida foi o valor médio calculado ± 2 vezes o desvio padrão, segundo Hamilton (1978), desta forma, os valores variaram dentro da faixa entre o limite superior e inferior calculados, indicando que as culturas estavam adequadas para os testes.

ANEXO B

Anexo B1 - Correlações de Pearson entre as variáveis limnológicas e dos ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento do ribeirão Limeira.

	temp	cond	turb	cor	dureza	dqo	dbo	fosforo
cond	0,027 0,878							
turb	0,608 0,001	-0,254 0,147						
cor	0,307 0,073	-0,508 0,001	0,346 0,045					
dureza	-0,317 0,063	0,746 0,000	-0,473 0,005	-0,744 0,000				
dqo	-0,156 0,372	0,087 0,583	0,017 0,925	-0,144 0,364	0,146 0,357			
dbo	0,024 0,891	-0,043 0,789	0,236 0,178	0,441 0,004	-0,215 0,172	-0,012 0,940		
fosforo	0,052 0,766	-0,062 0,697	-0,110 0,534	0,143 0,365	-0,139 0,382	-0,023 0,887	0,095 0,552	
ph	0,371 0,028	0,018 0,908	0,309 0,075	0,233 0,138	-0,189 0,230	0,171 0,280	0,172 0,276	0,004 0,982
nitrito	0,212 0,220	0,320 0,039	0,215 0,222	0,081 0,608	0,049 0,756	0,168 0,287	0,233 0,138	0,087 0,582
nitrato	-0,234 0,176	0,132 0,405	-0,383 0,025	0,153 0,332	0,110 0,489	-0,299 0,054	0,168 0,288	0,184 0,244
oxig	-0,581 0,000	-0,273 0,081	-0,127 0,473	0,351 0,023	-0,192 0,223	-0,159 0,314	0,308 0,047	-0,155 0,327
colif	0,345 0,042	0,010 0,950	0,253 0,150	0,129 0,416	-0,242 0,123	-0,081 0,611	0,021 0,894	0,021 0,896
mg	-0,060 0,733	0,632 0,000	-0,162 0,361	-0,111 0,485	0,423 0,005	0,058 0,716	0,114 0,471	0,200 0,204
mn	0,025 0,885	0,035 0,825	0,003 0,987	0,080 0,613	-0,039 0,805	-0,076 0,631	0,270 0,083	0,060 0,707
zn	0,419 0,012	0,110 0,488	0,419 0,014	0,237 0,130	-0,109 0,493	0,003 0,985	0,154 0,331	0,128 0,420
fe	0,135 0,441	0,057 0,721	0,600 0,000	0,142 0,369	-0,085 0,590	0,030 0,853	0,115 0,468	0,935 0,000
cd	0,063 0,718	-0,011 0,947	-0,043 0,809	-0,340 0,027	0,164 0,299	-0,067 0,675	-0,153 0,334	-0,033 0,837
pb	0,142 0,416	0,266 0,088	0,173 0,329	0,264 0,091	-0,027 0,865	0,175 0,267	0,217 0,166	0,340 0,028
ag	0,109 0,532	0,035 0,825	0,542 0,001	0,111 0,483	-0,072 0,652	0,028 0,862	0,095 0,551	0,955 0,000
agpsub	0,443 0,008	0,044 0,784	0,207 0,239	0,189 0,230	0,097 0,542	0,258 0,100	0,040 0,802	0,052 0,742
agdsim	0,071 0,687	0,126 0,426	-0,122 0,491	0,211 0,180	0,047 0,767	0,018 0,908	0,026 0,868	-0,098 0,536
agcsilv	0,163 0,351	0,103 0,517	0,048 0,788	-0,201 0,201	0,010 0,952	-0,154 0,330	-0,205 0,194	-0,042 0,793
sedcxan	0,013 0,948	0,544 0,001	-0,065 0,749	-0,159 0,363	0,345 0,042	0,042 0,811	-0,002 0,990	-0,081 0,644
seddsim	-0,166 0,341	-0,246 0,116	-0,148 0,404	0,194 0,219	-0,208 0,187	-0,053 0,737	-0,169 0,284	-0,042 0,790
sedcsilv	-0,039 0,843	-0,107 0,541	0,039 0,846	0,230 0,184	-0,067 0,703	-0,003 0,988	-0,045 0,798	-0,155 0,375

Continuação

Anexo B1 - Correlações de Pearson entre as variáveis limnológicas e dos ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento do ribeirão Limeira.

	ph	nitrito	nitrato	oxig	colif	mg	mn	zn
nitrito	0,357 0,020							
nitrato	0,172 0,276	0,225 0,151						
oxig	0,154 0,332	0,059 0,711	0,520 0,000					
colif	0,030 0,850	-0,124 0,435	-0,215 0,171	-0,295 0,058				
mg	0,409 0,007	0,588 0,000	0,501 0,001	0,213 0,177	-0,198 0,208			
mn	0,063 0,692	0,691 0,000	0,438 0,004	0,136 0,390	-0,090 0,572	0,222 0,157		
zn	0,431 0,004	0,369 0,016	-0,008 0,962	-0,112 0,479	0,116 0,464	0,347 0,024	-0,002 0,991	
fe	0,213 0,176	0,275 0,078	0,216 0,170	-0,128 0,418	-0,009 0,955	0,401 0,009	0,085 0,592	0,255 0,103
cd	-0,158 0,318	-0,154 0,331	-0,085 0,592	-0,148 0,349	0,267 0,087	-0,162 0,307	-0,070 0,661	-0,168 0,287
pb	0,556 0,000	0,630 0,000	0,417 0,006	0,194 0,219	-0,116 0,464	0,742 0,000	0,258 0,098	0,413 0,007
ag	0,153 0,334	0,197 0,211	0,191 0,224	-0,159 0,314	-0,003 0,983	0,349 0,023	0,042 0,794	0,225 0,152
agpsub	0,407 0,007	0,312 0,044	-0,115 0,468	-0,172 0,277	-0,019 0,907	0,194 0,219	0,033 0,835	0,408 0,007
agdsim	0,150 0,344	0,060 0,707	0,366 0,017	0,122 0,443	-0,139 0,379	0,261 0,095	-0,014 0,930	0,296 0,057
agcsilv	-0,106 0,505	-0,011 0,946	-0,153 0,334	-0,193 0,222	-0,117 0,462	-0,131 0,408	-0,057 0,718	-0,137 0,388
sedcxan	0,008 0,964	0,672 0,000	-0,064 0,716	-0,102 0,561	-0,064 0,715	0,460 0,005	0,901 0,000	0,164 0,346
seddsim	-0,250 0,110	-0,287 0,065	-0,192 0,222	0,028 0,860	0,257 0,100	-0,239 0,127	-0,138 0,384	-0,082 0,605
sedcsilv	0,120 0,494	-0,003 0,986	0,029 0,868	0,168 0,336	0,034 0,845	0,068 0,697	-0,048 0,783	0,185 0,288

Continuação

Anexo B1 - Correlações de Pearson entre as variáveis limnológicas e dos ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento do ribeirão Limeira.

	fe	cd	pb	ag	agpsub	agdsim	agcsilv	sedcxan
cd	-0,064 0,689							
pb	0,555 0,000	-0,166 0,294						
ag	0,993 0,000	-0,047 0,766	0,488 0,001					
agpsub	0,208 0,185	-0,005 0,977	0,392 0,010	0,174 0,269				
agdsim	-0,055 0,729	-0,104 0,513	0,272 0,081	-0,063 0,693	0,000 1,000			
agcsilv	-0,046 0,772	-0,062 0,697	-0,137 0,387	-0,038 0,810	-0,091 0,565	-0,086 0,587		
sedcxan	0,027 0,877	-0,052 0,767	0,214 0,216	-0,023 0,894	0,176 0,311	-0,040 0,820	-0,042 0,810	
seddsim	-0,142 0,370	-0,185 0,240	-0,138 0,385	-0,113 0,477	-0,122 0,440	-0,137 0,388	-0,152 0,336	-0,126 0,470
sedcsilv	-0,063 0,717	-0,130 0,456	0,103 0,557	-0,058 0,742	0,166 0,342	-0,100 0,568	-0,106 0,546	-0,074 0,674
seddsim sedcsilv	0,371 0,028							

Legendas:

em destaque - são parâmetros com correlação significativa ao nível de 5%.

mg - magnésio
mn - manganês
zn - zinco
fe - ferro
cd - cádmio
pb - chumbo
ag - prata
nitrito
nitrito
oxig - oxigênio
colif - coliformes termotolerantes
cond - condutividade
turb - turbidez
cor
dureza

dqo – demanda química de oxigênio
dbó – demanda bioquímica de oxigênio
fósforo – fósforo total
ph – potencial hidrogeniônico
temp – temperatura da água
agdsim – toxicidade aguda da água para *D. similis*
agpsub - toxicidade crônica da água para *P. subcapitata*
agcsilv - toxicidade crônica da água para *C. silvestrii*
sedcxan - toxicidade crônica do sedimento para *C. xanthus*
seddsim - toxicidade aguda do sedimento para *D. similis*
sedcsilv - toxicidade aguda da água para *C. silvestrii*

Anexo B2 - Dendograma de análise de agrupamento (CA) com base nos valores das variáveis da água e dos resultados de toxicidade da água e sedimento. Dissimilaridade definida pela distância Euclidiana e pela combinação de agrupamento baseada no método *Ward*.

Anexo B3 – Análise de componentes principais (PCA) das variáveis limnológicas e dos ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento do ribeirão Limeira, destaque para os 8 primeiros grupos que representam 79,4% da variabilidade total dos dados.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
cond	-0,127	0,465	-0,020	-0,015	-0,068	-0,155
cor	-0,121	-0,485	-0,120	-0,092	-0,054	0,005
dureza	-0,008	0,517	-0,015	0,072	-0,117	-0,057
dqo	-0,047	0,118	0,059	-0,338	0,029	0,271
dbo	-0,154	-0,201	-0,167	0,016	0,237	-0,104
fosforo	-0,244	-0,123	0,435	0,256	-0,034	0,027
ph	-0,255	-0,064	-0,117	-0,315	-0,045	0,030
nitrito	-0,317	0,104	-0,147	-0,108	0,424	0,035
nitrato	-0,230	-0,002	-0,260	0,406	-0,127	-0,172
oxig	-0,073	-0,195	-0,391	0,252	-0,116	0,044
colif	0,070	-0,119	0,181	-0,210	0,096	-0,617
mg	-0,355	0,241	-0,119	0,052	-0,157	-0,082
mn	-0,177	-0,002	-0,205	0,168	0,574	-0,081
zn	-0,234	-0,050	0,007	-0,361	-0,158	-0,128
fe	-0,328	-0,073	0,390	0,161	-0,032	0,041
cd	0,106	0,132	0,136	0,036	0,161	-0,488
pb	-0,401	0,004	-0,049	-0,079	-0,073	-0,003
ag	-0,301	-0,073	0,419	0,181	-0,058	0,042
agpsub	-0,183	0,024	0,061	-0,431	0,067	0,080
agdsim	-0,118	0,020	-0,239	-0,036	-0,466	-0,075
agcsilv	0,079	0,116	0,082	0,080	0,152	0,422
seddsim	0,140	-0,203	0,060	-0,039	-0,202	-0,106

Variable	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12
cond	0,070	-0,259	-0,256	-0,162	0,059	-0,150
cor	0,071	-0,044	-0,089	0,064	-0,067	-0,298
dureza	-0,176	-0,027	-0,073	-0,036	-0,268	-0,123
dqo	-0,531	0,098	-0,120	0,237	0,469	-0,100
dbo	-0,113	0,082	-0,714	-0,205	-0,115	-0,219
fosforo	-0,051	0,011	-0,067	0,091	-0,010	0,016
ph	0,096	0,226	0,200	-0,362	0,284	0,246
nitrito	0,034	-0,185	0,097	0,140	0,059	0,092
nitrato	0,037	0,062	0,169	0,066	0,015	-0,094
oxig	-0,209	0,152	0,141	-0,325	0,021	-0,049
colif	0,134	-0,191	-0,045	-0,136	0,346	-0,150
mg	-0,046	-0,133	0,052	-0,217	0,052	0,023
mn	-0,016	-0,193	0,144	0,357	-0,025	0,068
zn	0,291	-0,086	-0,094	0,079	-0,295	0,425
fe	-0,025	0,034	-0,005	-0,010	0,011	0,011
cd	-0,002	0,528	0,235	0,077	0,035	-0,187
pb	-0,046	-0,040	0,180	-0,064	0,179	-0,223
ag	-0,035	0,036	-0,028	0,011	-0,002	0,010
agpsub	-0,052	0,164	0,248	0,004	-0,528	-0,454
agdsim	0,242	0,099	-0,145	0,606	0,175	-0,174
agcsilv	0,607	-0,066	0,056	-0,158	0,218	-0,406
seddsim	-0,259	-0,615	0,294	-0,019	-0,042	-0,203

Variable	PC13	PC14	PC15	PC16	PC17	PC18
cond	0,061	-0,204	0,024	0,095	0,300	0,486
cor	0,064	-0,363	-0,075	0,070	0,525	-0,022
dureza	0,100	0,214	-0,066	-0,190	0,027	0,037
dqo	-0,052	0,205	-0,295	0,180	0,166	-0,058
dbo	-0,104	0,299	0,256	0,020	-0,099	-0,092
fosforo	0,023	0,092	-0,063	-0,080	0,147	0,090
ph	0,346	0,271	0,365	-0,189	0,223	0,137
nitrito	-0,250	-0,238	-0,058	-0,225	0,110	0,125
nitrato	0,346	0,245	-0,211	0,486	0,125	-0,034
oxig	-0,308	0,081	-0,425	-0,345	-0,080	0,301
colif	0,211	0,027	-0,393	-0,165	-0,236	-0,064
mg	-0,142	-0,145	-0,008	-0,131	0,133	-0,753
mn	0,164	0,231	0,057	-0,090	-0,021	-0,003
zn	-0,350	0,321	-0,285	0,254	0,063	0,061

Continuação

Anexo B3 – Análise de componentes principais (PCA) das variáveis limnológicas e dos ensaios ecotoxicológicos da água e do sedimento do ribeirão Limeira, destaque para os 8 primeiros grupos que representam 79,4% da variabilidade total dos dados.

fe	-0,005	-0,009	-0,002	-0,132	-0,029	0,089
cd	-0,431	0,062	0,185	0,072	0,282	0,003
pb	-0,201	-0,191	0,240	0,402	-0,528	0,150
ag	0,002	0,055	-0,008	-0,130	-0,027	0,017
agpsub	0,231	0,033	-0,134	-0,104	-0,109	-0,017
agdsim	-0,017	0,073	0,144	-0,371	-0,114	0,038
agcsilv	-0,182	0,302	-0,115	0,017	0,065	-0,080
seddsim	-0,211	0,354	0,298	-0,042	0,154	0,042

Variable	PC19	PC20	PC21	PC22
cond	0,334	0,209	-0,107	0,029
cor	-0,047	-0,425	-0,077	0,027
dureza	-0,344	-0,603	0,068	-0,001
dqo	0,040	0,005	-0,058	-0,014
dbo	-0,091	0,122	0,026	-0,019
fosforo	0,210	-0,015	0,748	-0,023
ph	-0,034	-0,080	0,057	0,018
nitrito	-0,556	0,233	0,182	0,036
nitrato	-0,284	0,252	0,006	-0,015
oxig	0,176	-0,008	-0,028	0,020
colif	-0,067	-0,065	0,040	0,000
mg	0,216	0,062	0,014	-0,025
mn	0,439	-0,245	-0,160	0,004
zn	0,069	-0,101	-0,044	-0,006
fe	-0,102	0,007	-0,416	-0,703
cd	0,031	-0,007	-0,038	0,000
pb	0,037	-0,299	0,114	0,036
ag	-0,087	0,036	-0,398	0,706
agpsub	0,128	0,278	0,034	-0,004
agdsim	0,019	0,093	0,010	-0,012
agcsilv	-0,008	-0,063	-0,003	-0,009
seddsim	-0,077	0,119	-0,019	-0,016

Anexo C3 - Matriz de correlações, autovalores e autovetores, análise de componentes principais, 22 casos utilizados.

Autovalor	4,8264	3,0407	2,6152	2,0039	1,3931	1,2905
Proporção	0,219	0,138	0,119	0,091	0,063	0,059
Cumulativo	0,219	0,358	0,476	0,568	0,631	0,690
Autovalor	1,1745	1,1269	0,8797	0,8212	0,7205	0,5554
Proporção	0,053	0,051	0,040	0,037	0,033	0,025
Cumulativo	0,743	0,794	0,834	0,871	0,904	0,929
Autovalor	0,4810	0,3204	0,2858	0,1622	0,1058	0,0720
Proporção	0,022	0,015	0,013	0,007	0,005	0,003
Cumulativo	0,951	0,966	0,979	0,986	0,991	0,994
Autovalor	0,0534	0,0430	0,0269	0,0016		
Proporção	0,002	0,002	0,001	0,000		
Cumulativo	0,997	0,999	1,000	1,000		