



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CAMPUS DE JI-PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL



LUIZ EDUARDO DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO LIMNOLÓGICA E ECOTOXICOLÓGICA DE MICROBACIAS
URBANAS NO MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ

Ji-Paraná
2018

LUIZ EDUARDO DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO LIMNOLÓGICA E ECOTOXICOLÓGICA DE MICROBACIAS
URBANAS NO MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de Engenharia
Ambiental, Fundação Universidade Federal
de Rondônia, *Campus* de Ji-Paraná, como
parte dos requisitos para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elisabete Lourdes do Nascimento

Ji-Paraná

2018

*“It is obvious that while Science is
struggling to bring Heaven to Earth
some men are using its materials in the
construction of Hell “*

- Herbert Hoover

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, em especial aos meus pais (Sergio e Renata), por todo apoio e suporte que me deram durante toda a graduação.

Em memória da minha vó Vanilde, que sempre acreditou no poder do estudo, mas infelizmente não poderá me ver formado.

A professora Elisabete L. Nascimento pela oportunidade e incentivo, por despertar em mim o gosto pela pesquisa, e mostrar o caminho certo nos entraves da graduação. Obrigado por ser um exemplo de profissional a ser seguido, deixo meus agradecimentos, admiração e respeito.

Aos colegas de laboratório, que contribuíram imensamente para o resultado desta pesquisa Amanda, Caryne, Clávio, Daíse, Josilena, W. Eduardo, e especialmente ao Thiago, por todo o auxílio e disponibilidade.

Ao Laboratório de Pesquisa Hidrogeoquímica da professora Beatriz M. Gomes, ao Laboratório de Saneamento ambiental do professor Alberto D. Webler e ao laboratório de Biogeoquímica Ambiental do professor Wanderley R. Bastos pelo apoio à pesquisa.

Aos amigos que pretendo levar para a vida, David, José e Joaquim. Agradeço por toda a parceria e bom humor.

Aos amigos de cantina Detmann, Mayame, Gustavo, Leone agradeço por todos os momentos, piadas, e perrengues que passamos juntos.

Aos professores José Roberto, Marcos Nunes, Renata Aguiar, Nara Luísa, Queila, e demais por tornar a engenharia ambiental uma das melhores experiências que tive na vida.

A todas as pessoas que me ajudaram diretamente ou indiretamente durante a graduação, o meu muito obrigado.

RESUMO

Além das análises químicas, que quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, ensaios ecotoxicológicos permitem testar efeitos combinados destes poluentes, incluindo seu efeito sobre os sistemas biológicos. Este trabalho se propôs a investigar se duas microbacias urbanas do município de Ji-Paraná apresentam toxicidade para os organismos *Chlorella* sp e *Allonais inaequalis*. As amostras são oriundas de dois igarapés: Igarapé 2 de abril e Pintado (Ji-Paraná, RO). Para cada igarapé coletou-se amostras referentes a nascente, exutório e região central da microbacia. Para o ensaio agudo, foi monitorado a mortalidade da *Allonais inaequalis*, após exposição de 96h. O ensaio crônico consistiu em monitorar o crescimento celular da microalga *Chlorella* sp após 96h de exposição, através de espectrofotometria (750nm). Ambos os experimentos foram realizados em triplicata, com temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$. Os parâmetros monitorados foram: crescimento para *Chlorella* sp (posterior cálculo da Inibição de crescimento-IC) e contagem dos organismos vivos para *Allonais inaequalis*. A concentração letal CL_{50} foi calculada (que consistiu na concentração da amostra de água capaz de matar 50% dos organismos testados durante 96h). Com o objetivo de ampliar as discussões dos resultados obtidos foram analisados os valores de pH, turbidez, oxigênio dissolvido (OD), Condutividade Elétrica (CE), amônia ($\text{NH}_3+\text{NH}_4^+$), Nitrito (NO_2^-), Nitrato (NO_3^-), Fósforo total e dissolvido (PO_4^{3-}) e metais pesados. Em apenas um dos pontos analisados foi observado toxicidade (próximo a nascente do Igarapé Pintado). Para *Allonais inaequalis* apresentou uma CL_{50} média de 15,2%. Para a microalga *Chlorella* sp o teste t comprovou diferença significativa entre o crescimento do controle e da amostra, comprovando a toxicidade. A inibição de crescimento (IC) média para a alga foi de 46,81%. Os valores para os parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas *in loco*, no ponto com ecotoxicidade foram: pH de 10,6 temperatura de $27,6^\circ\text{C}$; Turbidez: 96,9UT; OD: $5,88\text{mg.L}^{-1}$; CE: $643\mu\text{S.cm}^{-1}$. Para os nutrientes, os seguintes valores foram encontrados, amônia: $1,431\text{mg.L}^{-1}$, Nitrito: $1,824\text{mg.L}^{-1}$, Nitrato: $15,65\text{mg.L}^{-1}$, Fósforo total: $1,49\text{mg.L}^{-1}$ e Fósforo dissolvido igual a $1,39\text{mg.L}^{-1}$. Para o teste com oligoquetas com as demais amostras dos igarapés, nenhuma apresentou efeito tóxico. Porém para as algas, todas as amostras de água de todos os demais pontos obtiveram diferença estatística em relação ao controle. Entretanto, apresentando um maior crescimento celular, e caracterizando, portanto, um efeito bioestimulatório. Em uma análise geral dos demais pontos o pH se manteve entre 6,78 e 8,46; OD: 1,4 e $10,0\text{mg.L}^{-1}$; DBO: 1,25 e $42,0\text{mg.L}^{-1}$; CE: 93 e $575\mu\text{S.cm}^{-1}$; amônia: 0,08 e $3,13\text{mg.L}^{-1}$; Nitrito: 0,024 e $2,354\text{mg.L}^{-1}$; Nitrato: $<0,2\text{mg.L}^{-1}$ e

15,6mg.L⁻¹; Fósforo total: 0,013 e 0,67mg.L⁻¹ e Fósforo dissolvido: 0,005 e 0,48mg.L⁻¹dePO₄³⁻. Os metais Al, Pb, Cu, Zn, Mn se encontraram fora dos limites da resolução. Com exceção da água coletada na nascente, nos demais pontos, as algas se beneficiaram dos nutrientes presentes. O efeito bioestimulatório apresentado pelas algas somado aos valores de fósforo e nitrogênio encontrados, indicam que o ambiente pode estar sendo eutrofizado. A água da nascente do Igarapé Pintado apresentou um alto grau de toxicidade para a microalga *Chlorella* sp e Oligochaeta *Allonais inaequalis*. As demais amostras de água coletadas não demonstraram efeito observável aos organismos testados. Visando melhor entendimento dos efeitos ecotoxicológicos que a água das microbacias estudadas possam oferecer à comunidade aquática, recomenda-se realizar experimento com organismos-teste de outros níveis tróficos.

Palavras-chave: Metais pesados, eutrofização, algas, oligoquetas.

ABSTRACT

While chemical analyzes quantify the concentrations of toxic substances, ecotoxicological tests allow the combined effects of these pollutants to be tested, including their effect on biological systems. This study aims to investigate if two urban microbasins of the municipality of Ji-Paraná present toxicity to the organisms *Chlorella* sp and *Allonais inaequalis*. The samples come from two streams: Streams 2 de Abril and Pintado (Ji-Paraná, RO). For each stream samples were collected referring to nascent, exudate and central region of the microbasin. For the acute assay, the mortality of *Allonais inaequalis* was monitored after exposure of 96h. The chronic test consisted in monitoring the cell growth of the microalgae *Chlorella* sp after 96h of exposure, through spectrophotometry (750nm). Both experiments were performed in triplicate, with a temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. The parameters monitored were: growth for *Chlorella* sp (subsequent calculation of growth inhibition-IG) and counting of living organisms for *Allonais inaequalis*. The LC_{50} lethal concentration was calculated (which consisted of the concentration of the water sample capable of cause death in 50% of the organisms tested for 96h). In order to increase the discussion of the results obtained, the values of pH, turbidity, dissolved oxygen (DO), electrical conductivity (EC), ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), Nitrite (NO_2^-), Nitrate (NO_3^-) Dissolved and Total Phosphorus and heavy metals. In only one of the analyzed points was observed toxicity (near the source of Igarapé Pintado). For *Allonais inaequalis* it presented an average LC_{50} of 15.2%. For the microalgae *Chlorella* sp the t test proved a significant difference between the growth of the control and the sample, proving the toxicity. The mean growth inhibition (CI) for algae was 46.81%. The values for the physicochemical parameters of the water samples collected in loco at the point with ecotoxicity were: pH of 10.6 temperature of 27.6°C ; Turbidity: 96.9UT; OD: $5.88\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; EC: $643\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. For the nutrients, the following values were found, ammonia: $1,431\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Nitrite: $1,824\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Nitrate: $15.65\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Total phosphorus: $1.49\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and Phosphate equal to $1.39\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. For the oligochaete test with the other igarapés samples, none showed a toxic effect. However, for the algae, all water samples from all other points had a statistical difference in relation to the control. However, presenting a higher cell growth, and thus characterizing a biostimulatory effect. In a general analysis of the other points the pH remained between 6.78 and 8.46; DO: 1.4 and $10.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; BOD: 1.25 and $42.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; EC: 93 and $575\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; ammonia: 0.08 and $3.13\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Nitrite: 0.024 and $2.354\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Nitrate: $<0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $15.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Total phosphorus: 0.013 and $0.67\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and Phosphate: 0.005 and $0.48\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of PO_4^{3-} . Except the water collected in the spring, in the other points, the algae benefited from the nutrients present. The biostimulatory effect presented by the algae added to the values of phosphorus and nitrogen found, indicates that the environment may be being eutrophicated. The water from the source of the Igarapé Pintado presented a high degree of toxicity for the microalga *Chlorella* sp and Oligochaeta *Allonais inaequalis*. The other water samples collected showed no observable effect on the organisms tested. Aiming to better understand the ecotoxicological effects that the water of the studied micro-basins can offer to the aquatic community, it is recommended to carry out experiment with test organisms of other trophic levels.

Keywords: Heavy Metals, eutrophication, algae, oligochaetes.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
1 REFERENCIAL TEÓRICO	11
<i>1.1 Saneamento e saúde</i>	11
<i>1.2 Ecotoxicologia como ferramenta de avaliação da qualidade ambiental</i>	14
<i>1.3 Histórico legal</i>	15
<i>1.4 Organismos-teste</i>	17
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
<i>2.1 Caracterização da área de estudo</i>	19
<i>2.2 Coleta de água e sedimento</i>	21
<i>2.3 Parâmetros físicos e químicos da água</i>	23
2.3.1 Análises em campo	23
2.3.2 Turbidez da água	23
2.3.5 Oxigênio Dissolvido (O.D.)	23
2.3.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio (D.B.O.)	24
2.3.7 Nutrientes	24
<i>2.4 Determinação de metais pesados</i>	24
2.4.1 Metais pesados em amostras de água	24
2.4.2 Metais pesados em amostras de sedimento	25
<i>2.5 Testes ecotoxicológicos</i>	25
2.5.1 <i>Chlorella</i> sp	25
2.5.1.1 Teste de toxicidade com algas	25
2.5.1.2 Determinação da toxicidade	26
2.5.2 <i>Allonais Inaequalis</i>	27
2.5.2.1 Teste toxicológico com oligoquetas - amostras de água	27
2.5.2.2 Teste toxicológico com oligoquetas - amostras de sedimento	27
2.7 <i>Análise de Dados</i>	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1 <i>Avaliação Limnológica</i>	28
3.2.1 pH	28
3.2.2 Condutividade elétrica	29

3.2.3 Turbidez	30
3.2.4 Amônia.....	32
3.2.5 Nitrito.....	33
2.2.6 Nitrato.....	35
3.2.7 Oxigênio dissolvido	36
3.2.8 Demanda bioquímica de oxigênio.....	37
3.2.9 Fósforo total e dissolvido	39
3.3 <i>Metais pesados</i>	41
3.2 <i>Avaliação Ecotoxicológica</i>	46
3.2.1 Testes com <i>Allonais inaequalis</i>	46
3.2.2 Testes com <i>Chlorella</i> sp	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS	56

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, devido ao acelerado crescimento populacional e urbanização, os recursos hídricos foram profundamente alterados devido a diversos impactos ambientais, como: realinhamento e desvio do curso natural, liberação de efluentes domésticos e industriais não tratados, desmatamento, mineração, eutrofização artificial, introdução de espécies exóticas entre outras (Goulart & Callisto, 2003; Mayer et. al, 2013). Esses impactos alteraram a quantidade e a qualidade da água, causando perda de biodiversidade aquática - devido à ruptura ambiental - e alteração nas cadeias alimentares existentes. Como consequência, estes efluentes acabam lançados diretamente nos corpos d'água. Segundo Baldantoni et al. (2018), tal situação também tem afetado significativamente a qualidade do solo e sedimento.

Nesse aspecto cita-se o caso do córrego Pintado na cidade de Ji-Paraná - Rondônia, cujos impactos ambientais observados são provenientes da retirada das matas ciliares causando o assoreamento e a erosão do córrego, além do despejo de esgoto doméstico *in natura* e a deposição de resíduos sólidos (BUTZKE et al., 2015).

O Fósforo e o Nitrogênio presentes nos rios são nutrientes de extrema importância à cadeia alimentar, porém, quando descarregados em altas concentrações em águas superficiais provocam o enriquecimento do meio, fenômeno denominado eutrofização (BARRETOS et al., 2013). Segundo ARAÚJO et al. (2013) a eutrofização altera parâmetros de qualidade da água como sabor, odor, turbidez, cor e oxigênio dissolvido, provocando crescimento excessivo de plantas aquáticas, mortalidade de peixes e outras espécies aquáticas, além de comprometer condições mínimas para o lazer na água.

Os despejos de efluentes domésticos urbanos são muito variados. Águas residuais urbanas contêm quantidades consideráveis de matéria em suspensão, metais pesados e, eventualmente, cloro resultante da dispersão de sais nas ruas (ESTEVEES, 2011). Porém, propriedades físico-químicas, identidade e origens de genotoxinas em águas de despejo permanecem desconhecidas (White *et al* 1998). As consequências dessas emissões podem causar grandes impactos aos ecossistemas aquáticos, e posteriormente à saúde humana, através da contaminação ocupacional (VEGA et al., 1996).

Além das análises químicas, que quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, ensaios ecotoxicológicos permitem testar efeitos combinados destes poluentes, incluindo seu

efeito sobre os sistemas biológicos (BECOUZE-LAREURE et al., 2016). Dada a complexidade da contaminação ambiental em ambientes urbanos, faz-se necessário estudos que mensurem o impacto da contaminação em diferentes compartimentos do ecossistema aquático.

Portanto, mediante o que foi exposto, este estudo se propôs realizar uma avaliação limnológica e ecotoxicológica de amostras de água e sedimento de microbacias urbanas de Ji-Paraná sob microrganismos aquáticos.

Como objetivos específicos, almejou-se:

- a) Avaliar a ecotoxicidade de amostras de água e sedimento dos Igarapés Dois de abril e Pintado sob microrganismos aquáticos.
- b) Quantificar as concentrações de fósforo total e fósforo dissolvido, nitrito, nitrato e amônia nas amostras de água coletadas;
- c) Determinar as variáveis oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio, turbidez, transparência da água, condutividade elétrica, pH e temperatura;
- d) Analisar concentração de metais pesados (prata, alumínio, arsênio, bário, berílio, cádmio, cobalto, cromo, cobre, manganês, molibdênio, níquel, Chumbo, antimônio, estanho, estrôncio, zinco e vanádio) em amostras de água e sedimento;
- e) Comparar os resultados obtidos com os padrões de qualidade de água estabelecidos pela Resolução 357/CONAMA/2005.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Saneamento e saúde

As atividades humanas alteraram consideravelmente a disponibilidade, mobilidade e distribuição de nutrientes nos sistemas de água doce (BENNETT; CARPENTER; CARACO, 2001; GALLOWAY et al., 2008; MATSON et al., 1999). Córregos urbanos são comumente utilizados para despejo de efluentes sem o devido tratamento (WU, 2016), porém não são apenas canais de drenagem: eles processam e retêm materiais que entram neles (MULHOLLAND et al., 2008). Devido a descargas ilegais e deficiência no sistema de tratamento de esgoto, atividades antropogênicas tem afetado significativamente a qualidade não só da água, mas também do solo e sedimento locais. (BALDANTONI et. al., 2018; ALBANESE et. al., 2013). O que afeta a dinâmica de nutrientes e de matéria orgânica, e conseqüentemente, o funcionamento de todo ecossistema de água doce (CUNHA et al., 2018; ELSER et al., 2007; FINKLER et al., 2018).

A eutrofização é resultado dos impactos antrópicos contrastantes nos serviços ecossistêmicos. A adição de nutrientes pode estimular os produtores primários e pode aumentar a produção de peixe, mas pode diminuir a diversidade e prejudicar a qualidade da água com problemas de sabor, odor e toxicidade associados às florações de cianobactérias (DODDS; PERKIN; GERKEN, 2013). Em países em desenvolvimento, a maior fonte de nutrientes nos recursos hídricos é o lançamento de efluentes não tratados (AGUILAR et al., 2002).

Segundo o Atlas Esgotos (ANA, 2017), Rondônia ocupa a última posição na coleta e tratamento de esgoto, com apenas 9% do esgoto coletado, e 4% tratado. Gera uma carga de 69 toneladas de DBO.dia⁻¹, entre as cargas coletadas, e as soluções individuais são responsáveis por remover apenas 14% da carga orgânica, resultando em uma carga remanescente de 59,0t de DBO.dia⁻¹. Ao analisar a complexidade necessária para tratar os esgotos de cada município, mostra que 41 municípios (93,5% da população) do estado necessitam apenas do tratamento convencional - Tratamento compatível com a classe do corpo receptor, considerando os requisitos mínimos previstos na Resolução Conama nº 430/2011 (60% - 80%). Portanto, o valor necessário para coletar e tratar todo o esgoto do estado seria de R\$ 2,07bi (R\$ 1,7bi para coleta e R\$ 367mi para tratamento).

No ambiente aquático, as formas iônicas (reativas) mais comuns de nitrogênio inorgânico são amônio (NH₄⁺), nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻). Estes íons podem estar presentes

naturalmente em ecossistemas aquáticos como resultado da deposição atmosférica, escoamento superficial e subterrâneo, dissolução de depósitos geológicos ricos em nitrogênio, fixação de N_2 por certos procariontes (cianobactérias principalmente) e degradação biológica de matéria orgânica (Esteves, 2011). O amônio tende a ser oxidado em nitrato em um processo de duas etapas por bactérias quimioautotróficas aeróbias (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, principalmente). Em consequência, as concentrações de nitrato em ecossistemas de água doce são geralmente mais altas que as de amônio e nitrito (EL-SHAFI et al., 2004; HVAS et al., 2016; MATSON et al., 1999). O nitrogênio pode, no entanto, ser removido da água por plantas aquáticas, algas e bactérias que o assimilam como fonte de nitrogênio (CHEN; TONG; LIU, 2012; FINKLER et al., 2018; HVAS et al., 2016). Além disso, quando as concentrações de oxigênio dissolvido diminuem para valores mínimos, as bactérias facultativas (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Achromobacter*) podem utilizar nitrato como um aceptor final de elétrons, resultando na formação final de N_2 .

O fósforo (P) é simultaneamente um importante nutriente agrícola e um poluente ambiental. Por um lado, a sociedade humana moderna depende do P para sustentar o suprimento global de alimentos. Atualmente, fósforo é obtido principalmente da mineração subterrânea de minerais de fosfato. Infelizmente, esses recursos minerais de P são reabastecidos em escalas de tempo geológicas, tornando o fósforo um recurso essencialmente não renovável (CHILDERS et al., 2011; CORDELL; WHITE, 2014; VENKITESHWARAN; MCNAMARA; MAYER, 2018).

Por outro lado, o fósforo também é um poluente abundante na água. Na maioria das águas doces, P é o nutriente limitante, ou o nutriente, pelo menos a oferta em relação à demanda (as razões típicas de N:P são 15:1). Assim, o excesso de P torna essas águas propensas ao extraordinário crescimento de fitoplâncton. A eutrofização resultante afeta negativamente a capacidade de um corpo de água de servir como fonte de água potável, atividades recreativas ou pesca, pois eleva a cor, odor, turbidez, perda de oxigênio dissolvido e eliminação do habitat de peixes (Esteves, 2011). A eutrofização pode ser onerosa em termos de saúde humana e ambiental, bem como impactos econômicos, valor este que pode ser excedido pelo valor total ainda não determinado de serviços ecossistêmicos perdidos (CUNHA et al., 2018; DODDS; PERKIN; GERKEN, 2013). Para controlar a degradação ecológica, o Conselho Nacional do Meio Ambiente recomendou um limite de $20\mu\text{g.L}^{-1}$ de fósforo total (PT) para ambientes lênticos e $100\mu\text{g.L}^{-1}$ para águas correntes. No entanto, algumas águas superficiais limitadas por P são

suscetíveis à proliferação de algas mesmo nesses níveis baixos (MAYER et al., 2013). Essas descobertas levaram algumas agências ambientais internacionais a estipularem metas e padrões mais rigorosos de qualidade da água, por exemplo, tão baixos quanto 5-10µg-PT. L⁻¹ em zonas ecologicamente sensíveis como os Grandes Lagos e Everglades (USEPA, 1995).

Além da entrada de fósforo e nitrogênio nos ecossistemas aquáticos em decorrência da degradação ambiental das bacias hidrográficas, outros elementos importantes podem causar efeitos negativos às comunidades aquáticas e ao equilíbrio do sistema, como os metais pesados, e contaminantes emergentes.

Os metais pesados fazem parte do meio ambiente e da biota, ocorrendo naturalmente em pequenas concentrações, variando de partes por bilhão a partes por milhão. Entre eles, elementos como Zn, Fe, Mn, Cu, Co e Mo são essenciais para os organismos, mesmo em quantidades mínimas, porque participam dos processos fisiológicos; outros elementos-traço, como o Hg, Pb e Cd, não têm qualquer função biológica conhecida e são responsáveis por efeitos adversos na comunidade biótica. Mesmo aqueles que possuem uma função biológica, em altas concentrações, podem causar toxicidade aos organismos (Esteves, 1998; WHO, 1996).

A toxicidade dos metais pesados em organismos aquáticos e seu equilíbrio é influenciada por alguns fatores limnológicos, como pH, alcalinidade, dureza, salinidade, matéria orgânica, sólidos totais e carga de sedimentação (APRILE; BOUVY, 2008; ZHOU et al., 2018). Nos metais a toxicidade ocorre principalmente pela sua capacidade de interferir nos processos enzimáticos e de sua pequena mobilidade nos organismos, devido aos seus pequenos tamanhos e às cargas que possuem. Assim, os sedimentos constituem um importante indicador químico da contaminação dos ecossistemas aquáticos, tanto pela sua capacidade de acumular elementos-traço como pelo papel no transporte, como possível fonte de contaminação (BONAI et al., 2009). As atividades humanas podem modificar o ciclo geoquímico dos metais pesados, resultando em uma contaminação ambiental. Embora metais pesados entrem nos rios e estuários de muitas fontes naturais, uma das fontes mais importantes é o esgoto municipal.

É crescente a preocupação com a presença de contaminantes emergentes orgânicos traço, incluindo produtos farmacêuticos, drogas ilícitas e produtos para cuidados pessoais, devido ao possível impacto ecológico (por exemplo, desregulação endócrina) à biota dentro do ambiente (PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2014). Em países de renda baixa e média, onde a conexão aos sistemas de tratamento é frequentemente menor ou inexistente, os

contaminantes emergentes entram no ambiente de forma mais difusa (KOOKANA et al., 2014). Isso faz com que o rastreamento de fontes de contaminantes se torne consideravelmente mais desafiadoras.

Williams et al., (2019), ao comparar a qualidade de água de países em desenvolvimento com países de alta renda, descobriu que as concentrações de muitos dos contaminantes dentro de corpos d'água são semelhantes às aquelas comumente relatadas em águas residuais não tratadas em países de alta renda. Por exemplo, concentrações de fármacos, como a carbamazepina, antibióticos e anti-inflamatórios não esteroides. Outros contaminantes orgânicos, como estrogênios esteroides, esteroides androgênicos, benzotriazóis, DEET, BPA e cafeína foram todos semelhantes às concentrações relatadas em águas residuais em países de alta renda.

Portanto, dada a complexidade das amostras ambientais urbanas, seria analítica e economicamente inviável identificar e quantificar todas as substâncias presentes. Além disso, a identificação e quantificação não seriam suficientes para estimar o possível efeito de suas concentrações à biota, uma vez que a atividade biológica de um contaminante pode depender de sua interação com outros elementos não tóxicos (COSTA et al., 2008; TOBERGTE; CURTIS, 2013). Neste cenário, a ecotoxicologia pode ser vista como uma ferramenta capaz de medir o efeito de substâncias químicas tóxicas sobre organismos representativos do ecossistema aquático (RAND, 1995).

1.2 Ecotoxicologia como ferramenta de avaliação da qualidade ambiental

A Ecotoxicologia, descrita como a ciência que estuda e avalia com precisão os efeitos de agentes físicos e químicos (substâncias naturais ou sintéticas) sobre os organismos vivos, especialmente em nível de população, comunidade, ecossistema e biosfera, incluindo formas de transporte dessas substâncias e suas interações com o ambiente. (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Seu principal objetivo é de proteger os ecossistemas e prevenir os futuros impactos advindos do descarte de substâncias químicas e de resíduos no meio ambiente. Busca identificar potenciais fontes de contaminantes no meio ambiente, e conhecer as possíveis interações, transformações, rotas e destino que estes agentes podem ter no ambiente para realizar uma predição segura dos efeitos tóxicos que estes contaminantes podem causar a diferentes ecossistemas (CASTRO, 2013).

A ecotoxicologia vem buscando definir os limites aceitáveis de toxicidade a partir de padronização dos protocolos dos testes de toxicidade, para que esses possam vir a ser utilizados como limite guia para a tomada de decisões, e também facilitar a comparação de dados obtidos em diferentes laboratórios, contribuindo na utilização de dados já publicados e permitindo a reprodutibilidade dos ensaios (ULLAH; ZORRIEHZAHRA, 2015).

A toxicidade crônica corresponde à resposta a um estímulo prolongado ou contínuo, durante um longo período de tempo, e pode cobrir parte ou todo o ciclo de vida do organismo. Esses testes determinam o potencial tóxico de um agente químico ou uma mistura complexa, e os efeitos desses poluentes são medidos através da resposta de organismos vivos, que reagem diferentemente ao mesmo composto (CARNIATO et al., 2007).

Ensaio de toxicidade aguda são testes laboratoriais, realizados sob condições específicas e controladas avaliam a toxicidade de um agente nocivo, que pode ser uma substância, efluente industrial, resíduo, amostra de água ou sedimento, em uma espécie-teste. Seus resultados permitem determinar uma concentração confiável do produto químico ou efluente a ser liberado no meio ambiente (COSTA, 2010).

1.3 Histórico legal

O primeiro marco legal na questão do controle da poluição e da toxicidade nos recursos hídricos foi a Resolução CONAMA nº 20 de 1986, que definia o enquadramento dos corpos de água segundo classes de usos preponderantes, padrões de qualidade e outras disposições relativas ao lançamento de poluentes em corpos d'água. Em seu artigo 12 traz que “Os padrões de qualidade das águas, estabelecidos nessa resolução, constituem-se em limites individuais para cada substância. Considerando eventuais ações sinérgicas entre as mesmas, estas ou outras não especificadas, não poderão conferir às águas características capazes de causarem efeitos letais ou alterações de comportamento, reprodução ou fisiologia de vida”. E Em seu Art. 23 “Os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características em desacordo com seu enquadramento nos termos desta resolução”. O que significa que um efluente ao ser lançado, não poderá conferir às águas características capazes de causarem efeitos letais ou alterações de comportamento, reprodução ou fisiologia.

Então a resolução CONAMA nº 357 de 2005 atualizou alguns conceitos, e deu mais um passo na questão do controle da toxicidade nas águas continentais brasileiras. Ao definir os

parâmetros de qualidade de água baseado nos usos prioritários, ela traz em seu Art. 7º Parágrafo único que “Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como restringir os usos preponderantes previstos”. Traz também no artigo 8 - § 4º, testes os ecotoxicológicos como ferramenta de monitoramento da qualidade de água, e como forma de mensurar as interações químico-biológicas “As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigados utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos ou outros métodos reconhecidos”. Além de trazer como parâmetro do enquadramento a não verificação de efeito tóxico crônico a organismos para águas doces de classe 1 e 2; e não verificação de efeito tóxico agudo para águas doces de classe 3.

Para um controle eficiente da poluição hídrica, e estabelecimento de critérios compatíveis com cada estado, seria necessário que cada agência ambiental estadual estabelecesse os seus próprios critérios para a toxicidade dos efluentes. Entretanto, apenas poucas agências do sul e sudeste determinaram seus critérios. No intuito de auxiliar a maioria dos Estados que não apresentaram qualquer proposta de monitoramento de toxicidade de efluentes foi criada uma nova resolução ambiental, a CONAMA 430/2011.

A resolução CONAMA nº430 de 2011 é o mais recente avanço da legislação nacional para o controle da toxicidade no lançamento de efluentes. A resolução dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. De acordo com seus critérios, a avaliação dos efluentes precisaria ser realizada utilizando espécies de, pelo menos, dois níveis tróficos diferentes. Ademais, por se tratar de uma legislação federal, possibilita a formulação de leis estaduais ou municipais mais restritas, de acordo com a necessidade estadual ou municipal, ficando livres para estabelecerem seus próprios limites de toxicidade.

As resoluções CONAMA 344/04 e 393/07, também trazem à tona a importância da execução dos ensaios ecotoxicológicos. A resolução 393/07 Dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, e dá outras providências, enquanto a resolução 344/04 Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências.

Os principais órgãos estaduais que regulamentam testes de toxicidade e o impacto gerado por substâncias químicas ou efluentes lançados são: Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente (FEEMA-RJ), a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM-RS), Companhia Estadual de Tecnologia Ambiental (CETESB-SP), a Fundação de Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA-SC), o Instituto Ambiental do Paraná (IAP-PR) e a Companhia Pernambucana de Meio Ambiente (CPRH-PE).

1.4 Organismos-teste

Diversos grupos de organismos são utilizados como organismos teste, a maioria das espécies padronizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) são exóticas aos ecossistemas brasileiros. Os organismos utilizados são comumente peixes, algas, cladóceros e bactérias. Ainda que muitas pesquisas critiquem a utilização de espécies exóticas em testes ecotoxicológicos, há pouco conhecimento sobre a sensibilidade e potencial das espécies brasileiras para utilização neste monitoramento. Além disso, a nível nacional, os trabalhos em grande maioria são desenvolvidos na região sul e sudeste, havendo uma grande lacuna de conhecimento sobre as espécies e ecossistemas das regiões Norte e Nordeste.

A *Allonais inaequalis* Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) foi proposta por Corbi et al., (2015) como um organismo com potencial para ser utilizado em testes ecotoxicológicos. Trata-se de uma oligoqueta, tem comprimento corporal variando de 3 a 9 mm (37 a 85 segmentos), sem pigmentação. Esta espécie tem uma ampla distribuição, com registros na América do Norte, América do Sul, África, Austrália e Sudeste Asiático (CORBI; GORNI; CORREA, 2015).

Em Estudo, GORNI et al.,(2015) reuniram registros da distribuição da espécie *allonais inaequalis* em diversos ambientes no Brasil. Na cidade de Araraquara - SP, foram encontradas no sedimento do Rio Pinheirinho (ALVES; MARCHESE; ESCARPINATI, 2006), e no Rio Cruzes, associado aos Gastrópodes *Pomacea bridgesii* (GORNI; ALVES, 2006). Nos municípios de Brotas (SP) e Américo Brasiliense (SP): foi encontrada associada a macrófitas aquáticas, nos reservatórios de Lagoa Dourada e Ribeirão Ahumas (ALVES; GORNI, 2007), e na Lagoa Dourada associada à esponja *Metania spinata* (GORNI; ALVES, 2008). Além disto, a espécie também foi encontrada na bacia do rio Amazonas, em lagos de meandro na Reserva Pacaya-Samiria no Peru (SHAIN et al., 2007). Na Amazônia brasileira, o primeiro registro foi feito por GOMES et al., (2017), que identificou o organismo na reserva extrativista Lago do

Cuniã - Rondônia, em estação chuvosa.

O uso de algas em testes ecotoxicológicos é importante porque, por exercer um importante papel ecológico como produtores primários, pois se situam na base da cadeia alimentar e qualquer alteração na dinâmica de suas comunidades pode afetar os níveis tróficos superiores do ecossistema (FEITOSA et al., 2015). Testes de ecotoxicidade com microalgas são realizados para avaliar a presença de contaminantes que podem comprometer a qualidade da água, e conseqüentemente a biota aquática. Desta forma, podem contribuir na avaliação dos níveis de poluição em igarapés urbanos. Dentre as vantagens em se utilizar algas em testes de toxicidade podemos destacar sua grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto, o que possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações (COSTA et al., 2008; ZHANG et al., 2016).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi realizada com amostras de água e sedimento dos Córregos urbanos Dois de Abril e Pintado do município de Ji-Paraná (Rondônia). Os córregos estão inseridos na Bacia do rio Machado, região hidrográfica do Amazonas, sendo o Córrego Dois de Abril afluente da margem esquerda do rio Machado e o Pintado da margem direita (IBGE, 2006). A localização das microbacias se encontram na figura 01.

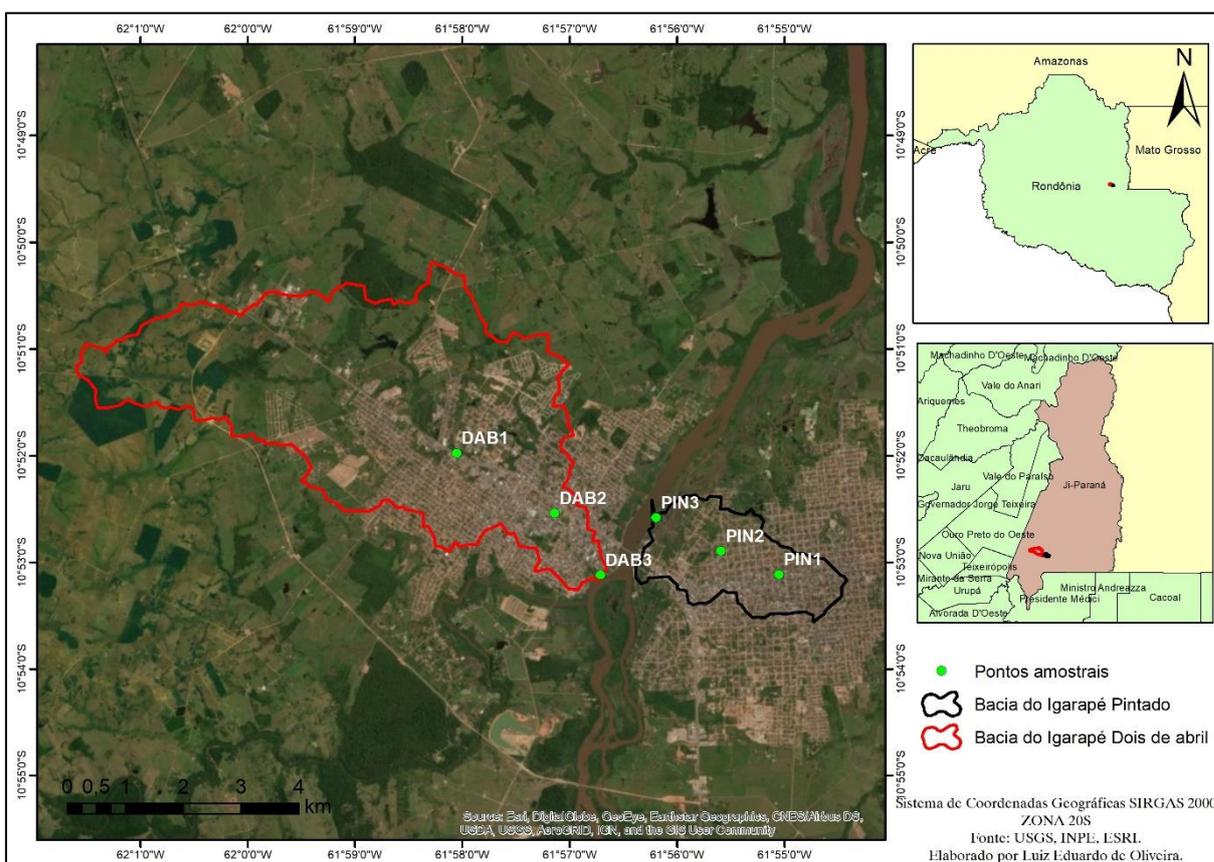


Figura 01: Localização das microbacias do Córrego Dois de Abril e Pintado, evidenciando os pontos de coleta.

O clima predominante é o tropical úmido e quente, sendo que o período úmido é característico de janeiro a março, úmido – seco de abril a junho, seco de julho a setembro e seco-úmido de outubro a dezembro. Apresenta temperatura média anual de 25°C, com média máxima de 32°C e mínima de 21°C. A precipitação total anual se encontra em torno de 1.962,8mm (SEDAM, 2012).

A microbacia do Córrego Dois de Abril possui em torno de 30.596 habitantes, drena os bairros: São Bernardo, Santiago, Jardim Presidencial, Dois de Abril e Casa Preta, que equivale

uma área de 23km², o talvegue principal é de 11,9km e apresenta uma declividade média de 0,7% (JI-PARANÁ, 2013). As condições de ocupação do solo das duas microbacias podem ser vistas na figura 02.

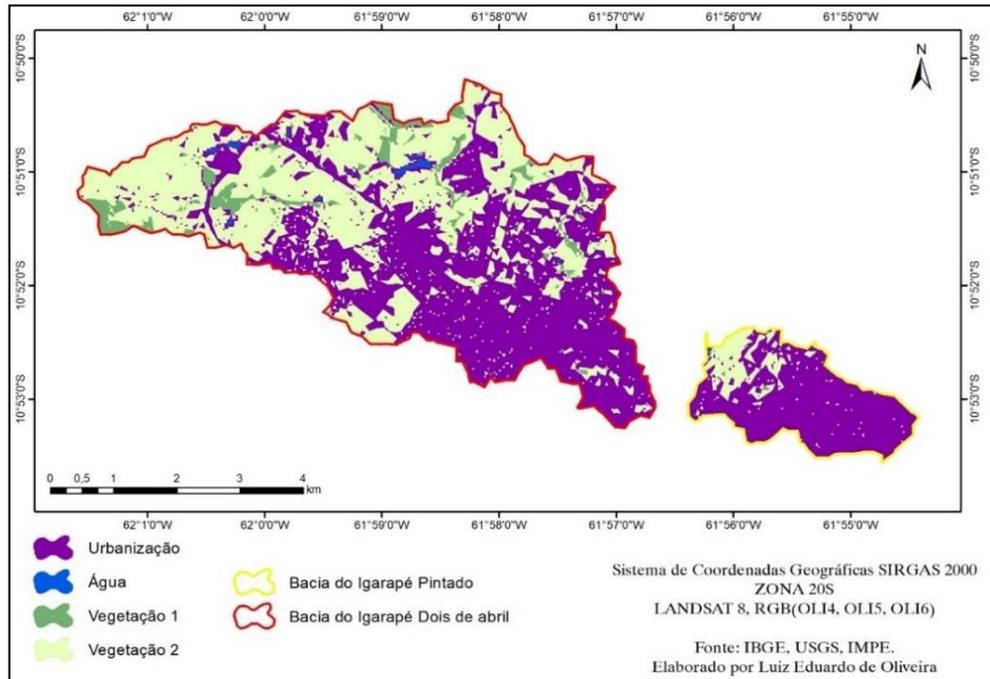


Figura 02: Uso e ocupação do solo nas microbacias Dois de abril e Pintado. (Elaborado pelo autor, fonte: IBGE, USGS, INPE)

A microbacia do Córrego Pintado possui aproximadamente 11.761 habitantes, drena os bairros: Duque de Caxias, Jotão, São Francisco, Nova Brasília e Cafezinho, que equivale uma área de 4,39km², o talvegue principal é de 3,6km e apresenta declividade média de 0,8% (JI-PARANÁ, 2013). A distribuição espacial da densidade populacional na parcela urbanizada das microbacias é apresentada na figura 03.

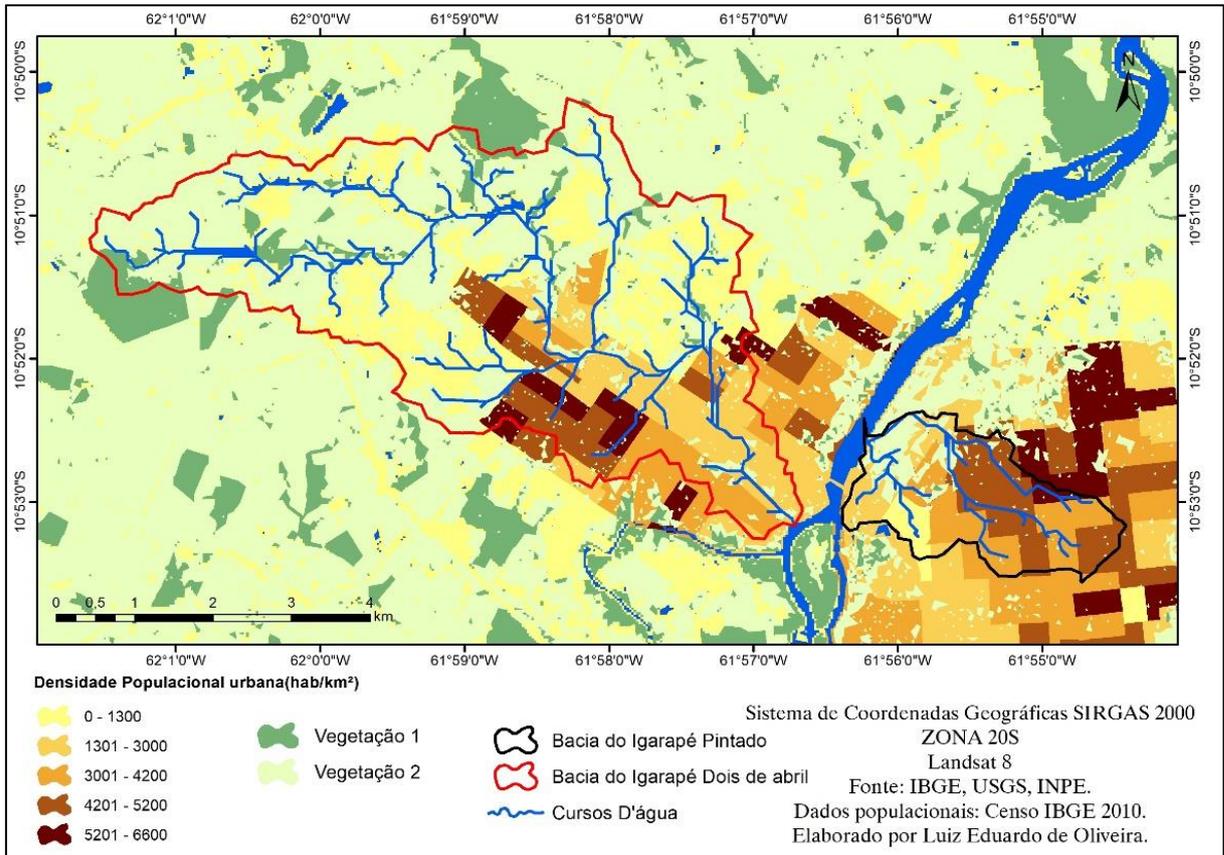


Figura 03: Densidade populacional na parcela urbanizada das microbacias Dois de abril e pintado. (Elaborado pelo autor, fonte: IBGE, USGS, INPE)

2.2 Coleta de água e sedimento

Antes de proceder a coleta das amostras de água foi realizada uma avaliação das condições ambientais do entorno e das características visuais dos córregos, assim como coletadas as coordenadas geográficas de diferentes pontos de uso e ocupação do solo ao longo das microbacias. As coordenadas foram obtidas com auxílio de GPS (Garmim Etrex Vista H 2,8”). A partir desta avaliação foram escolhidos os pontos de amostragem, com as coordenadas dos diferentes pontos de uso e ocupação do solo.

Foram escolhidos três pontos em cada microbacia. O quadro 01 traz a descrição de cada um deles. Para simplificação, a sigla DAB foi utilizada para descrever os pontos do Córrego Dois de abril, e a Sigla PIN para descrever os pontos amostrais do Córrego Pintado.

Quadro 01: Identificação e características dos pontos de coleta da pesquisa. (Fotos registradas pelo autor)

	CARACTERÍSTICAS	FOTOS
--	-----------------	-------

DAB1	<p>Mata ciliar formada de gramíneas e vegetação de médio porte. Presença de resíduos sólidos. Entorno composto de habitações, e um posto de combustível. Lat: 10°51'58,72" S Lon: 61°58'3,24" O</p>		
DAB2	<p>Trecho canalizado, sem mata ciliar. Entorno urbanizado, com presença majoritária de comércio, próximo à um posto de gasolina. Presença de resíduos sólidos. Com odor característico. Lat: 10°52'32,50" S Lon: 61°57'8,53" O</p>		
DAB3	<p>Exutório do Córrego, inicialmente possuía mata ciliar densa, mas foi canalizado na última coleta. Apresenta acúmulo de resíduos sólidos, e na cheia recebe refluxo do Rio Machado. Lat: 10°53'7,21" S Lon: 61°56'42,89" O</p>		
PIN1	<p>Nascente do Córrego, entorno composto de habitações e um Lava-Jato. Água apresenta coloração rosa, e resíduos de lavagem. Não possui mata ciliar, e alta presença de resíduos sólidos. Lat: 10°53'6,89" S Lon: 61°55'3,28" O</p>		
PIN2	<p>Trecho canalizado, coloração esverdeada. Odor característico. Entorno composto de habitações. Presença de resíduos sólidos. Lat: 10°52'53,80" S Lon: 61°55'35,58" O</p>		
PIN3	<p>Exutório do Córrego. Presença de mata ciliar, e entorno com características rurais, pouca habitação. Na cheia o ponto recebe refluxo do Rio Machado. Lat: 10°52'34,97" S Lon: 61°56'11,94" O</p>		

Foram realizadas quatro coletas, a saber: dezembro de 2017, fevereiro, abril e agosto de 2018.

As amostras de água foram coletadas com auxílio de coletor específico (500mL) e armazenados em garrafas pet (2L) descontaminadas e desinfetadas. Para as análises de oxigênio

dissolvido (OD) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) foram coletados também 720mL de amostra em frascos de tampa esmerilada.

A coleta de sedimento foi possível nos trechos não canalizados (DAB1, PIN1 E PIN3).

As amostras foram mantidas refrigeradas até o procedimento no Laboratório de Limnologia e Microbiologia - LABLIM (UNIR – campus Ji-Paraná).

2.3 Parâmetros físicos e químicos da água

2.3.1 Análises em campo

A condutividade elétrica e a temperatura foram medidas em campo através da sonda multiparâmetros (YSI, modelo EC 300), e os resultados expressos em microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) graus celsius ($^{\circ}\text{C}$) respectivamente.

O pH foi medido em campo através da sonda multiparâmetros (Water Quality Meter 8603).

2.3.2 Turbidez da água

A turbidez foi determinada em laboratório através do equipamento turbidímetro de bancada (HACH, modelo 2100 P) no Laboratório de Limnologia e Microbiologia (LABLIM-UNIR). Os resultados são expressos em unidades nefolométrica de turbidez (UNT).

2.3.5 Oxigênio Dissolvido (O.D.)

O Oxigênio Dissolvido foi determinado pelo método Titulométrico (WINKLER, 1888). Onde o oxigênio inicialmente presente na amostra é fixado após a adição das soluções: solução alcalina de iodeto de ainda e solução de sulfato manganoso ($\text{MnSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Após a adição do ácido sulfúrico e na presença do iodo (I), ocorre a liberação do iodeto (I_2) em uma quantidade equivalente ao oxigênio dissolvido contido originalmente na amostra. Então o I_2 é determinado por titulação com solução de tiosulfato de sódio, e sua concentração corresponde à concentração de oxigênio presente na amostra.

Em campo, com o uso do frasco de coleta de oxigênio de 60mL coleta-se a amostra sem formar bolhas. Tampa-se o frasco, e adiciona-se 250 μl da solução de sulfato manganoso e 250 μL da solução de azida.

Em laboratório adiciona-se a amostra 0,5mL de solução de ácido sulfúrico 50%, tampa-se o frasco e agita-se para dissolver todo o precipitado. Transfere-se 50mL da amostra para um

erlemeyer de 250mL. Titula-se com solução de tiosulfato de 0,01N, até que a amostra fique incolor.

2.3.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio (D.B.O.)

A DBO é um teste realizado a uma temperatura constante de 20°C e durante um período de incubação fixo de 5 dias. Uma amostra coletada em duplicata, tem o oxigênio dissolvido medido inicialmente (O_2 inicial) e o oxigênio da outra amostra é medido após 5 dias (O_2 final), período em que a amostra fica em uma estufa com temperatura controlada em 20°C. A diferença de concentração de oxigênio representa a demanda bioquímica de oxigênio (oxigênio consumido pelas bactérias para oxidar a matéria orgânica).

2.3.7 Nutrientes

As amostras, após passarem por filtragem em membrana de celulose com porosidade de 0,45 μ m, foram congeladas em frascos de 50mL para conservação até a data da análise.

As análises de amônia, nitrito, nitrato fósforo dissolvido e fósforo total foram realizadas pelo método espectrofotométrico conforme os métodos descritos em Standart of Methods for the Examination of Wastewater (APHA, 1995).

2.4 Determinação de metais pesados

Os metais pesados, alumínio, arsênio, bário, cádmio, cobalto, cromo, cobre, manganês, molibdênio, níquel, Chumbo, antimônio, estanho, estrôncio, prata, vanádio e zinco foram determinados por Espectrofotometria de Emissão Atômica por Plasma-ICPOS. As análises de metais pesados foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer da UNIR, campus de Porto Velho.

2.4.1 Metais pesados em amostras de água

Para determinação de metais pesados na fração total foram separados 10mL de amostra e acidificadas com HNO_3 (ácido nítrico) concentrado (70% m/m). Posteriormente as amostras foram filtradas em filtros PTFE Hidrofílico de 0,45 μ m de porosidade com auxílio de uma seringa. Já para fração dissolvida, a amostra bruta foi previamente filtrada (PTFE Hidrofílico de 0,45 μ m), com auxílio de bomba a vácuo, e então acidificada com HNO_3 (ácido nítrico) concentrado (70% m/m).

Após o preparo das amostras, as mesmas foram analisadas por ICP-OES (Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente).

2.4.2 Metais pesados em amostras de sedimento

Na preparação das amostras de solo e sedimento peneirou-se as amostras para padronizar o tamanho das partículas (peneiramento a úmido), numa peneira de inox de 0,075 mm (200 mesh), então as amostras foram postas em almofarizes de porcelana e deixadas em estufa com temperatura de 45°C até total evaporação da água presente. Após secas, as amostras foram maceradas e acondicionadas em frascos coletores devidamente identificados.

Posteriormente foram pesadas em béqueres de 100mL cerca de 2,0g de solo (em duplicata). Em seguida foram adicionados cerca de 8,0mL de HNO₃ (ácido nítrico) concentrado (70% m/m) e os béqueres foram levados à chapa aquecedora a uma temperatura de aproximadamente 120°C, por aproximadamente 1h.

Posteriormente a esta etapa, adicionou-se 8,0mL de água régia (HCl:HNO₃ [3:1]) e ainda em chapa-aquecedora, aguardou a volatilização quase completa da amostra (aproximadamente 1h). Para finalizar o processo de solubilização química, foram adicionados 15mL de HCl 0,1N, após filtração em filtros de celulose de porosidade de 3 micras e funis de polipropileno. As análises também foram realizadas por ICP-OS.

2.5 Testes ecotoxicológicos

Para este trabalho foram utilizados dois organismos testes, a alga unicelular *Chlorella* sp, representante do fitoplâncton, e a oligoqueta *Allonais inaequalis*, representante do zooplâncton bentônico. Para a alga foi analisada a inibição de crescimento celular, sendo resultado de uma resposta crônica à possíveis contaminantes (ABNT, 2018). Para o oligoqueta, a resposta analisada foi a mortalidade, resultado de uma resposta aguda à contaminantes Gorni et al. (2015) e NBR.

2.5.1 *Chlorella* sp

A cepa de *Chlorella* sp utilizada neste estudo foi gentilmente doada pelo laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias da Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ. O cultivo desta cepa é mantido no Laboratório de Limnologia e Microbiologia da UNIR, campus de Ji-Paraná. As condições de cultivo são: meio de cultivo líquido ASM-1, fotoperíodo de 12h:12h e temperatura controlada de 25°C.

2.5.1.1 Teste de toxicidade com algas

Antes do início dos ensaios toxicológicos, prepara-se um pré-cultivo da microalga. Para

isto, iniciou-se um cultivo único da alga em meio ASM-1, mantidas às mesmas condições de temperatura, luminosidade e agitação utilizadas no ensaio. O inóculo fica hábil para aplicação no teste com idade de quatro a sete dias (ABNT, 2018).

A Resolução CONAMA 357/05 determina que uma das condições de qualidade de água para rios de Classe I é a não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, portanto os ensaios foram realizados apenas com a amostra bruta. O controle é constituído de meio de cultivo ASM-1.

O método foi descrito na NBR 12648/2018, para ensaios com algas (*Chlorophyceae*) e consiste na exposição do organismo teste à uma amostra, durante o período de $96h \pm 2h$. O ensaio definitivo é conduzido sem renovação da água de cultura (estático), feito em triplicata, com temperatura controlada em $25^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$. A agitação foi realizada manualmente, duas vezes por dia.

Em Erlenmeyers de 250mL, são adicionados 95mL de amostra, e 5mL do inóculo da microalga. E então é realizado a leitura inicial em espectrofotometria com medição de absorvância na faixa de 750nm para se obter uma estimativa da biomassa. O crescimento celular foi monitorado diariamente durante 96h.

2.5.1.2 Determinação da toxicidade

O parâmetro de determinação da toxicidade é o crescimento da biomassa celular. A biomassa inicial de cada réplica é subtraída daquela obtida após o período de exposição, calculando-se assim a biomassa produzida durante o ensaio. Os resultados obtidos são utilizados nos cálculos estatísticos.

Para determinação da toxicidade, a porcentagem de inibição do aumento da biomassa algácea deve ser calculada para cada concentração, conforme a equação a seguir:

$$IC = \frac{Mc - Ma}{Mc} \times 100$$

Onde

IC: é a porcentagem de inibição da multiplicação das células algáceas;

Ma: é a média do número de células das soluções-teste ou absorvância obtida nas soluções-teste;

Mc: é a média do número de células do controle ou a absorvância média obtida no controle.

A partir da taxa de inibição de crescimento de cada uma das amostras ambientais foram calculadas as médias e comparadas com o controle, por meio da verificação da normalidade e homogeneidade de variância, e então a aplicação do Teste T, para verificar se existe diferenças significativas (toxicidade) entre amostras e controle.

Caso seja detectada uma diferença significativa entre o controle e uma amostra, esta é classificada como tóxica. Caso não haja diferença significativa, é classificada como não-tóxica.

2.5.2 *Allonais Inaequalis*

O cultivo de *Allonais inaequalis* foi obtido do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

Os organismos são cultivados em Becker de 1000mL na presença de água mineral contendo uma camada no fundo de areia utilizada em aquário. Sendo alimentados com ração de peixe em dias alternados. O cultivo também se encontra no Laboratório de Limnologia e Microbiologia – LABLIM.

2.5.2.1 Teste toxicológico com oligoquetas - amostras de água

Em béqueres de 100mL são adicionados 100mL das amostras ambientais, cada ponto foi testado em triplicata. Cada réplica recebe 10 organismos. A solução de controle é constituída de água mineral. A metodologia utilizada foi adaptada da proposta por Corbi et. al., (2015). O efeito observado é a mortalidade dos organismos em cada réplica após 96h.

O número de indivíduos mortos em cada réplica foi comparado ao controle, por meio da verificação da normalidade e homogeneidade de variância, e então a aplicação do Teste T, para verificar se existe diferenças significativas (toxicidade) entre amostras e controle.

Para as amostras que apresentaram toxicidade (diferença significativa entre as médias de mortalidade da amostra e do controle), foi realizado um segundo teste, com seis diluições da amostra (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12% e controle), com finalidade de estimar a concentração de efeito CL₅₀. Os organismos foram expostos às amostras durante 96h e após isso é feita a contagem dos organismos sobreviventes (CORBI; GORNI; CORREA, 2015).

Os resultados serão analisados utilizando programas estatísticos para estimar a CL₅₀ (Concentração que é letal à 50% dos organismos) (CORBI; GORNI; CORREA, 2015).

2.6.2.2 Teste toxicológico com oligoquetas - amostras de sedimento

Para testar a toxicidade do sedimento, adaptou-se o método proposto pelo guia da

Organização para a cooperação e desenvolvimento Econômico (OECD) para testes toxicológicos com oligoquetas bentônicas (OECD, 2008).

Como os igarapés possuem partes canalizadas, não foi possível a coleta de sedimento em todos os pontos, portanto foram testadas as amostras dos pontos DAB1, PIN1 e PIN3.

Cada réplica recebia 20g do sedimento úmido, e 100ml da amostra de água referente ao local. Cada ponto foi testado em triplicata. E em cada réplica foram adicionados dez organismos.

O efeito observado é a mortalidade dos organismos em cada réplica decorridas 96h.

2.7 Análise de Dados

Os dados foram submetidos à estatística descritiva e aos testes de Shapiro-Wilks para verificar a normalidade entre os dados. De forma que em caso de ocorrência da distribuição normal, os dados foram analisados através de testes paramétricos. As variáveis que não apresentaram distribuição normal, foram submetidas a testes não paramétricos. Também foi empregado o teste de correlação de Spearman para avaliar relações lineares entre as variáveis, e teste de comparações múltiplas (Teste de Dunnett). Para a compilação dos dados, utilizou-se os programas Microsoft Excel®, SigmaPlot®, e MiniTab®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação Limnológica

3.2.1 pH

O potencial hidrogeniônico representa a concentração de íons hidrogênio H^+ , dando uma indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade. As variações desse parâmetro ainda estão relacionadas com dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica, fotossíntese e sedimentação de contaminantes (VON SPERLING, 2014). Para essa variável, a Resolução do CONAMA 357/2005 determina para todas as classes, valores de pH entre 6 e 9.

Conforme apresentado na figura 04, em praticamente todo o período estudado, o pH se esteve próximo a neutralidade. Não houve diferença significativa entre os pontos. Em abril a nascente do córrego pintado (1PIN) apresentou pH básico (10,5), em desconformidade com a Resolução.

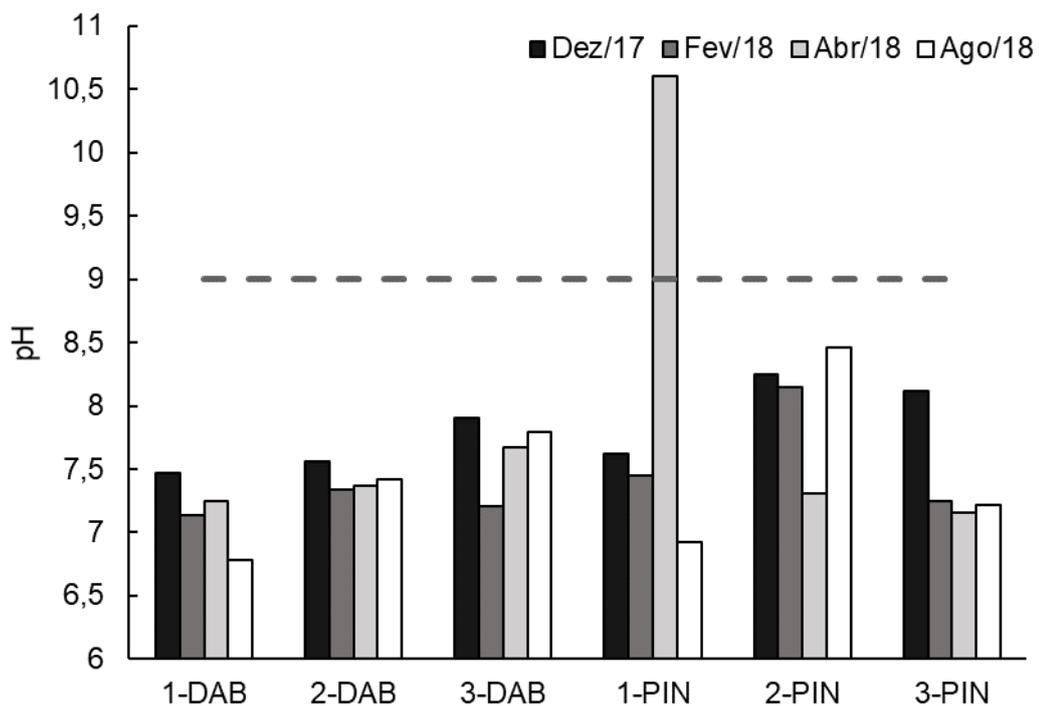


Figura 04: Valores de pH nos pontos amostrais dos Igarapés Dois de Abril e Pintado.

Outros estudos realizados em Igarapés da cidade de Ji-Paraná, tais como Butzke (2013) e Bezerra (2014) apresentaram valores similares. Enquanto Butzke et al. (2013) estudou o Igarapé Pintado e obteve valores entre 6,0 e 8,0, Bezerra (2014) ao analisar o Igarapé Riachuelo encontrou valores entre 5,8 e 8,0.

3.2.2 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica permite analisar a influência direta e indireta de atividades desenvolvidas nas bacias sobre o corpo hídrico, como lançamento de efluentes domésticos, industriais e atividades agrícolas (MARQUES, 2011). Os valores de condutividade elétrica estão apresentados na figura 05. A CONAMA 357/2005 não apresenta valores orientadores para a condutividade elétrica. No entanto, CETESB (2014) coloca que valores acima de $100\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ que o corpo hídrico pode estar recebendo efluentes domésticos ou industriais, e caracterizam ambientes impactados.

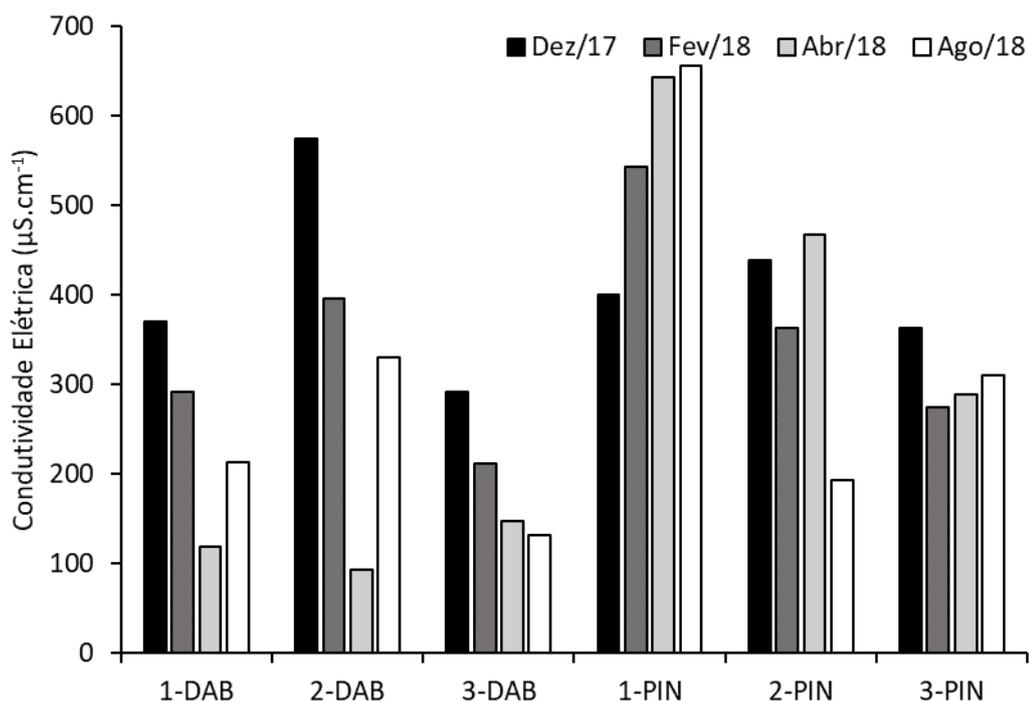


Figura 05: Valores de Condutividade elétrica nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

É válido destacar que os valores máximos de condutividade elétrica foram registrados na nascente do córrego Pintado (1PIN), que apresentou valores médios de condutividade de $560\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Através da comparação das médias, o igarapé Pintado apresentou valores significativamente ($p < 0,05$) maiores de condutividade elétrica do que o Igarapé Dois de abril.

Os valores encontrados para condutividade elétrica para o Igarapé Dois de Abril confirmam os de Cristo et al. (2017), que obteve medias de $118\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Trabalho realizado no Igarapé urbano do Bolívia, em Manaus (SOUZA et al., 2007), e no Igarapé Val-De-Cães (MARANHÃO, 2011) no Pará o qual também recebe elevadas cargas de efluentes, apresentaram valores de condutividades próximos aos encontrados nesta pesquisa ($280\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e $221\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ respectivamente).

3.2.3 Turbidez

A turbidez é a propriedade que mensura a redução da transparência da água, representa o grau de interferência dos sólidos em suspensão com a passagem da luz através da água,

conferindo uma aparência turva a mesma (VON SPERLING, 2014). A resolução CONAMA 357/2005 estabelece para rios de classe dois um limite de 100UNT.

A turbidez da microbacia Dois de abril (figura 06) apresentou variação sazonal. Os maiores valores foram encontrados no DAB2 em dezembro/17 (193UNT), superando o valor preconizado pela CONAMA 357/2005 para rios de classe II. Tal comportamento pode ser explicado pelo início das chuvas, que provoca turbilhonamento da água, e conseqüentemente arraste e ressuspensão de partículas orgânicas e inorgânicas.

Já no Igarapé Pintado, o PIN1 apresentou valores elevados em todos os períodos amostrados, com máxima de 988UNT em abril/18, superando os limites da CONAMA em todas as coletas. O PIN2 apresentou baixa turbidez nos quatro meses (média de 34,3 UNT). E o PIN3 superou o limite da resolução em abril/18 (190,9 UNT), e apresentou média de 91,25 UNT. Butzke (2013) encontrou valores máximos para o Pintado de 92 UNT.

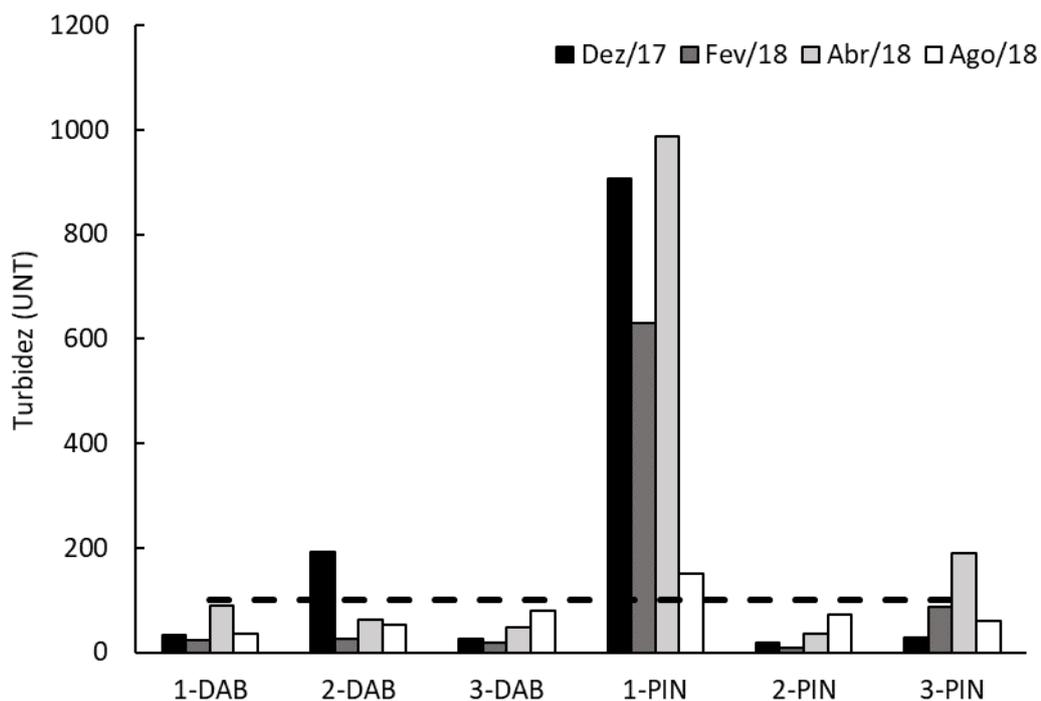


Figura 06: Valores de turbidez nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

A turbidez, além de reduzir a penetração da luz solar na coluna de água, danificando a fotossíntese do fitoplâncton e macrófitas (ESTEVEZ, 2011), pode cobrir ovos de peixe e invertebrados bentônicos (DAVIS, 1960). Os sólidos suspensos podem carregar nutrientes e

pesticidas (BUCZEK et al., 2018), entupir brânquias de peixe e até interferir na capacidade do peixe de se alimentar e se defender de seus predadores (CUMMING; HERBERT, 2016). Partículas suspensas localizadas perto da superfície podem absorver o calor adicional da luz solar, aumentando a temperatura da camada superficial da água (PAAIJMANS et al., 2008).

3.2.4 Amônia

O nitrogênio é considerado um dos elementos importantes para metabolismo de ambientes aquáticos, por conta da sua participação na formação de proteínas que atuam como fator limitante na produção primária desses ecossistemas, e em elevadas concentrações podem ser tóxicos aos organismos aquáticos (VON ESPERLING, 2014).

Os compostos de nitrogênio na forma orgânica ou de amoniacal referem-se à poluição recente, enquanto que o nitrito e nitrato, a poluição em estágios finais. Assim como ressalta Von Sperling (2014), em um corpo d'água, a determinação da parcela predominante de nitrogênio nas águas naturais, pode fornecer informações sobre seu estágio de poluição. A amônia é a forma reduzida presente em condições anaeróbias, o nitrito é a fase intermediária e instável da oxidação da amônia, e o nitrato é a forma mais oxidada indicando uma poluição remota por esgotos domésticos.

A toxicidade da amônia é influenciada diretamente pelo potencial hidrogeniônico, e se torna mais tóxica em pH básico (WURST, 2003). A toxicidade em vertebrados provoca convulsões, imobilizações e morte, provavelmente porque o NH_4^+ elevado desloca o K^+ e despolariza os neurônios, causando ativação do receptor de glutamato do tipo NMDA, o que leva a um influxo excessivo de Ca^{2+} e subsequente morte celular no sistema nervoso central (RANDALL; TSUI, 2002).

A figura 07 traz as concentrações de amônia encontradas no período estudado. Para o Igarapé Dois de abril, os valores máximos ($2,10\text{mg.L}^{-1}$), foram encontrados em fevereiro/18 e os mínimos ($0,08\text{mg.L}^{-1}$) em dezembro/17. Já para o Igarapé Pintado, o maior valor foi encontrado na nascente (PIN1), $5,77\text{mg.L}^{-1}$, e o mínimo no mês de abril ($0,76\text{mg.L}^{-1}$), os valores encontrados são maiores aos encontrados por Butzke (2013) no igarapé Pintando. A referida autora encontrou concentrações $> 0,2\text{mg.L}^{-1}$. Não foi encontrada diferença significativa sobre as concentrações de amônia entre os dois igarapés.

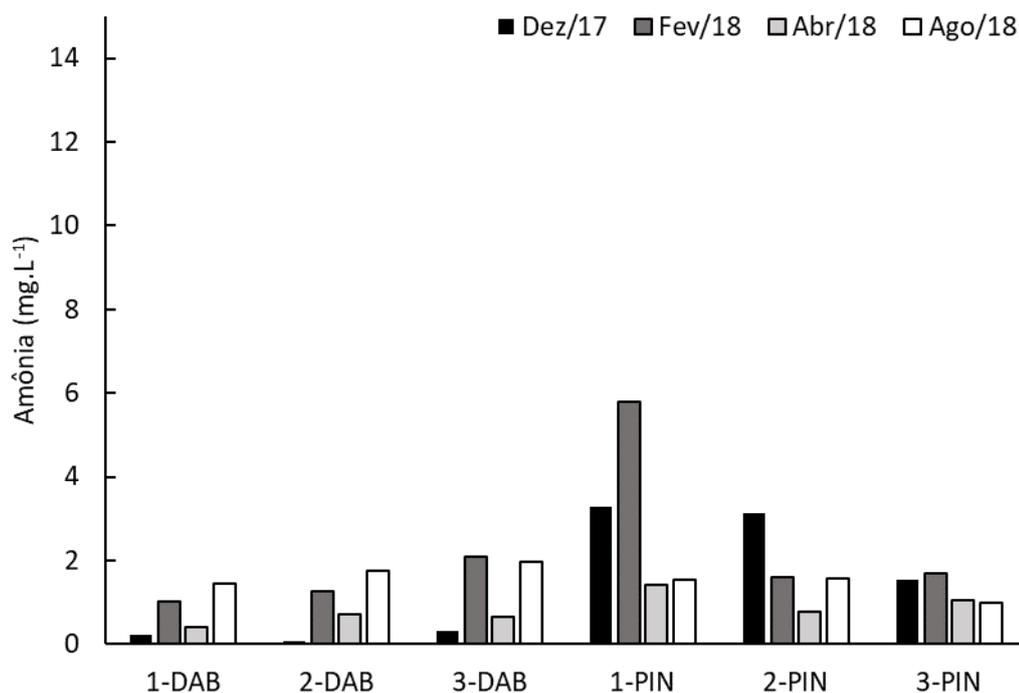


Figura 07: Concentrações de Amônia nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

Santos et. al., (2017) encontrou valores de $18,69\text{mg.L}^{-1}$ para o Igarapé Dois de Abril, valor superior aos encontrados nesta pesquisa. Butzke (2013) não encontrou para o Igarapé Pintado, valores de amônia superiores a $0,2\text{mg.L}^{-1}$.

Liu et al. (2018), testaram a toxicidade da amônia em 28 organismos, dentre eles, os mais sensíveis encontrados foram os peixe *Cottus confusus* ($\text{CL}_{50} 5,1\text{mg.L}^{-1}$), *Oryzias latipes* ($\text{CL}_{50} 19,5\text{mg.L}^{-1}$) e *Acipenser transmontanus* ($\text{CL}_{50} 61,3\text{mg.L}^{-1}$), além do cladóceros *Ceriodaphnia dubia* ($\text{CL}_{50} 65,7\text{mg.L}^{-1}$).

3.2.5 Nitrito

A figura 08 apresenta os valores encontrados para o nitrito. No Igarapé Dois de abril o valor mínimo foi de $0,024\text{mg.L}^{-1}$ em dezembro de 2017 e máximo de $0,88\text{mg.L}^{-1}$ em abril de 2018. Já para o Igarapé Pintado as concentrações variaram de $0,032\text{mg.L}^{-1}$ (1PIN) a $2,35\text{mg.L}^{-1}$ (2PIN), estando este ponto em desconformidade com a Resolução CONAMA 357/05 que estabelece um limite de $1,0\text{mg.L}^{-1}$ para rios de classe 2.

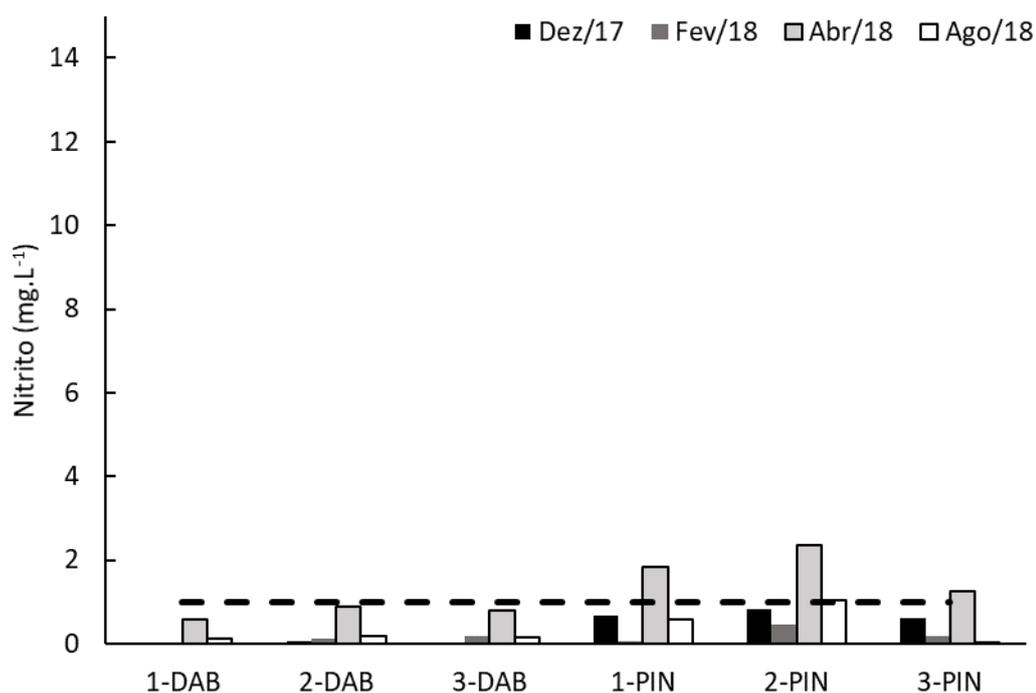


Figura 08: Concentrações de Nitrito nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

A exposição ao nitrito induz inibição do crescimento, distúrbio metabólico, estresse oxidativo, dano orgânico e mortalidade devido à infecção do organismo aquático (CHEN et al., 2011; MIAO et al., 2018). Para peixes de água doce, o nitrito entra na corrente sanguínea dos através das brânquias, e posteriormente entra nos glóbulos vermelhos e reage com a hemoglobina oxigenada para formar meta-hemoglobina e nitrato. Como a meta-hemoglobina não pode se ligar ao oxigênio, o principal efeito tóxico da contaminação por nitrito é a redução na capacidade de transporte de oxigênio do sangue (JENSEN; HANSEN, 2011; LEWIS; MORRIS, 1986).

Outros efeitos incluem alterações cardiovasculares e reguladoras de íons, bem como excesso de formação de NOx. A toxicidade do nitrito é diretamente dependente dos níveis de nitrito em relação aos níveis do íon Cl^- , e da taxa de absorção ativa de Cl, que varia muito entre as espécies de peixes de água doce (HVAS et al., 2016; JENSEN; HANSEN, 2011; MIAO et al., 2018).

2.2.6 Nitrato

A figura 09 apresenta as concentrações de nitrato encontradas para os dois Igarapés. O Dois de abril apresentou em todo o estudo valores de nitrato em conformidade com a resolução CONAMA 357/05, com concentração mínima $<0,2\text{mg.L}^{-1}$ (valor mínimo de detecção da análise) e máxima de $4,5\text{mg.L}^{-1}$. No Igarapé Pintado as concentrações variaram de $<0,2\text{mg.L}^{-1}$ e $14,6\text{mg.L}^{-1}$. Através do teste t para comparação das médias, constatou-se que o Igarapé Pintado apresentou concentrações significativamente ($p\text{-valor}<0,05$) maiores que do Dois de abril.

Santos et. al., (2017) encontrou valores de nitrato para o Igarapé Dois de abril entre $1,3\text{mg.L}^{-1}$ e $3,4\text{mg.L}^{-1}$, e Cristo et. al., (2017) encontrou concentrações de $6,60\text{mg.L}^{-1}$ para a mesma microbacia. Para o Igarapé Pintado Butzke (2013) não encontrou valores superiores à $0,04\text{mg.L}^{-1}$. Lima et. al., (2016) ao estudar a qualidade de um igarapé urbano na cidade de Manaus-AM, encontrou valores entre $0,005$ e $0,515\text{mg.L}^{-1}$, valores inferiores ao encontrado nesta pesquisa.

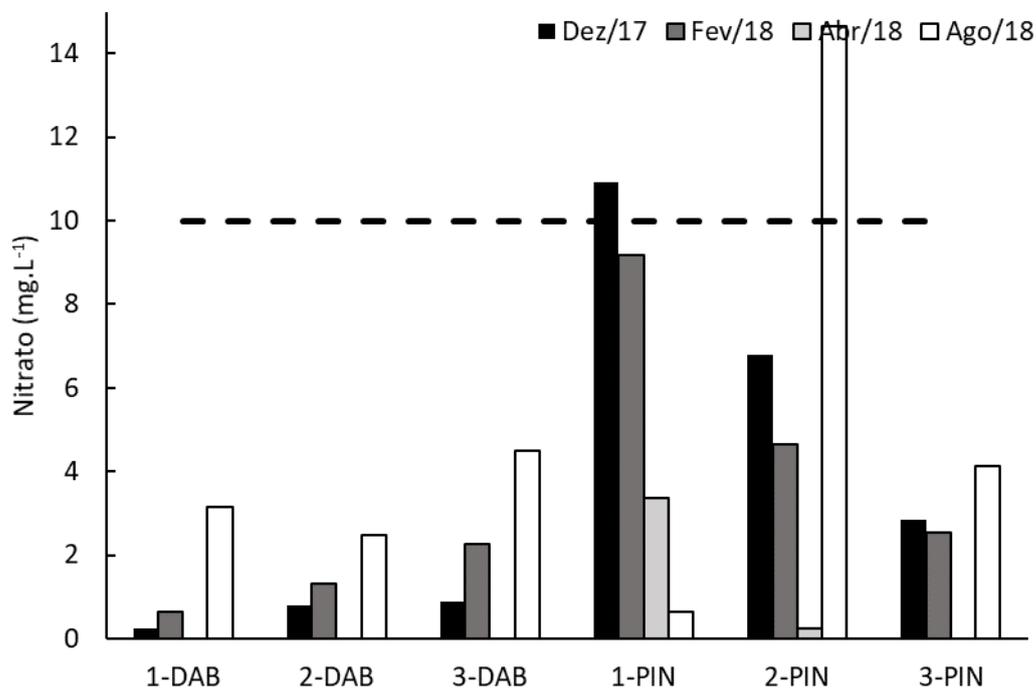


Figura 09: Concentrações de Nitrato nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

A principal ação tóxica do nitrato é devido à conversão de mecanismos transportadores de oxigênio em formas incapazes de transportar oxigênio. A toxicidade do nitrato pode diminuir com o aumento do tamanho corporal, a salinidade da água e a adaptação ambiental (BAKER et al., 2017). Uma concentração de nitrato de $10\text{mg.L}^{-1}\text{NO}_3\text{-N}$ (valor estipulado para rios de classe 2 pela resolução CONAMA 357/05) pode afetar negativamente, pelo menos por efeitos crônicos, invertebrados de água doce (*E. toletanus*, *E. echinosetosus*, *Cheumatopsyche pettiti* e *Hydropsyche occidentalis*), peixes (*Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus tshawytscha*, *Salmo clarki*) e anfíbios (*Pseudacris triseriata*, *Rana pipiens*, *Rana temporaria*, *Bufo bufo*) (CAMARGO; ALONSO; SALAMANCA, 2005). Níveis seguros abaixo desta concentração de nitratos são recomendados para proteger animais de água doce sensíveis da poluição por nitratos. Além disso, um nível máximo de 2mg.L^{-1} de NO_3 seria apropriado para proteger as espécies de água doce mais sensíveis (CAMARGO; ALONSO; SALAMANCA, 2005; GOLD; THOMPSON; PIEHLER, 2018; YU; MALIUTINA; TAHMASEBI, 2018).

3.2.7 Oxigênio dissolvido

A variação das concentrações de oxigênio dissolvido depende dos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem em um corpo de água, sendo considerada uma das variáveis limnológicas que mais refletem as alterações no ecossistema aquático (BOTONINO, 2011).

O oxigênio dissolvido é um dos principais parâmetros para caracterizar efeitos de poluição das águas em decorrência do despejo de matéria orgânica, visto que a decomposição deste material é um dos principais processos de consumo do OD (VON SPERLING, 2014).

A figura 10 apresenta as concentrações de oxigênio dissolvido para as duas microbacias. No Igarapé Dois de abril, baixos valores de O_2 foram encontrados em todo o período amostral, com mínimo de $(1,46\text{mgO}_2.\text{L}^{-1})$. Para o Igarapé Pintado a menor concentração ocorreu mês de $0,6\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$. Não foi encontrada diferença significativa entre as médias das concentrações de OD das duas bacias.

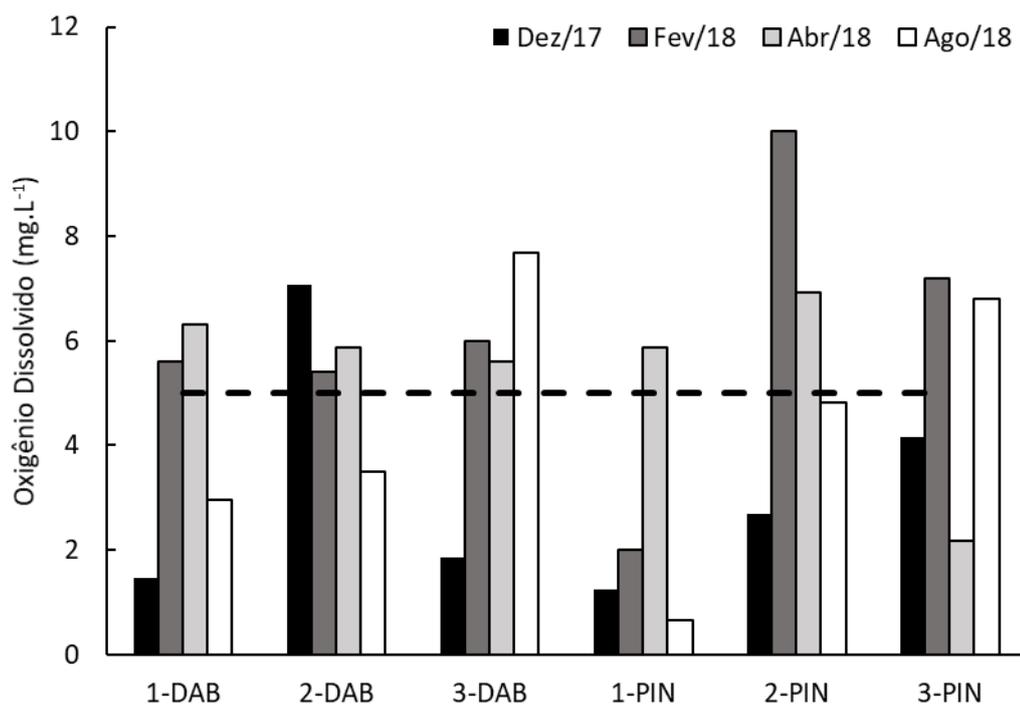


Figura 10: Concentrações de Oxigênio Dissolvido nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

Bezerra (2012) encontrou para igarapé Pintado (RO), valores semelhantes de oxigênio dissolvido, os quais variaram de 2 a 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Enquanto Butzke et al. (2015), também estudando o Igarapé Pintado (RO) encontrou concentrações inferiores a $4\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$.

Nascimento *et. al.* (2011), enuncia que águas com baixos teores de OD podem indicar entrada de matéria orgânica no meio, assim, a decomposição por bactérias aeróbias é geralmente acompanhada pela redução e consumo do oxigênio dissolvido.

É importante ressaltar que o oxigênio dissolvido é indispensável à sobrevivência dos organismos aeróbios, nas águas superficiais, seu valor de saturação é influenciado pela temperatura e altitude (Esteves, 2011). Águas com baixo teor de oxigênio indicam a presença de matéria orgânica em decomposição, matéria orgânica esta, que em centros urbanos é originada do lançamento de efluentes domésticos no leito do Igarapé.

3.2.8 Demanda bioquímica de oxigênio

As análises de DBO permitem deduzir a qualidade sanitária de corpos hídricos, sendo a quantidade de oxigênio necessária para estabilizar a matéria orgânica (APHA, 1999). Conforme

relata Von Sperling (2014) com a decomposição dos compostos orgânica, o oxigênio no corpo d'água é consumido, assim grandes quantidades de matéria orgânica, consomem grandes quantias de oxigênio. Portanto, quanto maior o grau de poluição, maior será a DBO.

O Igarapé Pintado apresentou as maiores concentrações de DBO, com valor máximo de 42 mg.L⁻¹ (sempre deve apresentar o nome do ponto e o mês e ano de coleta entre parênteses nesses casos). No Igarapé Dois de abril, o máximo valor encontrado foi de 31,3mg.L⁻¹ (ponto/mês/ano). Em ambos os igarapés, foi notado que as concentrações de DBO crescem a jusante, conforme mostra a figura 11, tal comportamento pode estar relacionado com o lançamento de efluentes, e o acúmulo de matéria orgânica ao longo da microbacia.

A Resolução CONAMA 357/2005 determina que para este parâmetro, concentrações sejam inferiores a 3mgO₂.L⁻¹ para rios de classe 1, 5mgO₂.L⁻¹ para classe 2 e 10mgO₂.L⁻¹ para classe 3. Logo, todos os pontos amostrados ultrapassaram o limite da resolução em 50% das coletas.

Siqueira et. al., (2012), ao analisar a qualidade de água do Rio Paraupebas – Para, encontrou valores de DBO entre 2,20 e 9,79mg.L⁻¹. Enquanto que Souza et. al., (2018) obteve valores de 35,85mg.L⁻¹, no Igarapé Mindu, curso d'água destino de despejos domésticos em Manaus.

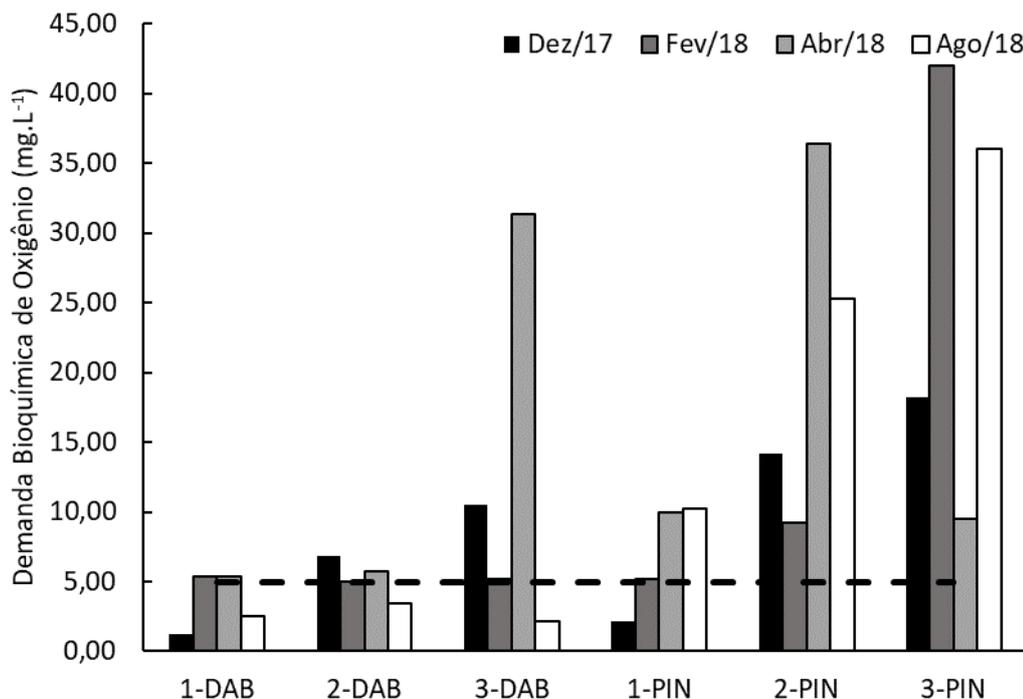


Figura 11: Valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio nos pontos amostrais dos igarapés Dois de Abril e Pintado.

3.2.9 Fósforo total e dissolvido

O fósforo constitui um dos principais nutrientes para processos biológicos, pois é exigido em grandes quantidades pelas células, contudo, em concentrações elevadas podem contribuir para diversos problemas, a exemplo, o processo de eutrofização (VON SPERLING, 2014).

Em ambas as microbacias, o fósforo total superou o limite estabelecido pela resolução CONAMA 357/05, que é de $0,1\text{mg.L}^{-1}$ para águas de classe 2. No Igarapé Pintado a concentração máxima foi de $1,5\text{ mg.L}^{-1}$ (colocar nome do ponto/data de coleta). No Igarapé Dois de abril a concentração máxima foi encontrada em dezembro/17 ($0,67\text{mg.L}^{-1}$). Entretanto não constatou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as duas microbacias.

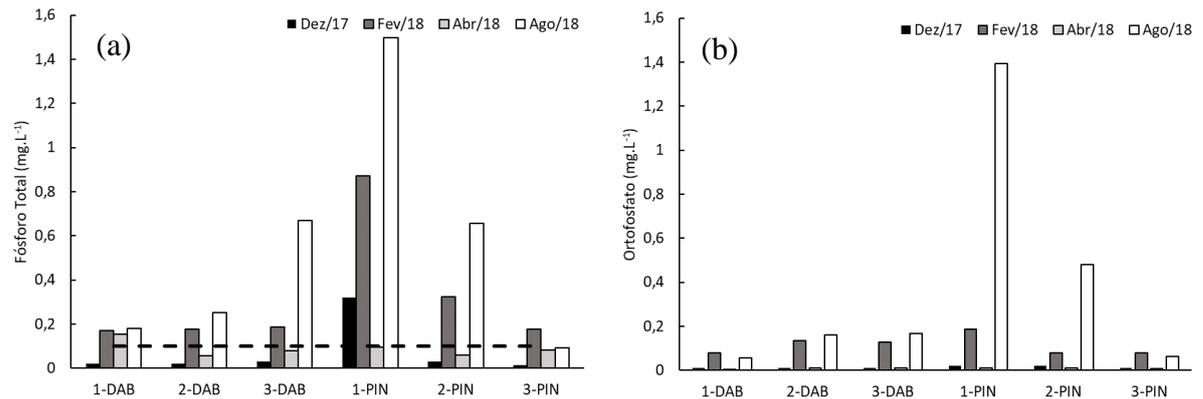


Figura 12: Concentrações de fósforo total (a) e dissolvido (b) para para as microbacias dos igarapés Pintado e Dois de abril.

A problemática do fósforo nos ambientes aquáticos não se dá pela toxicidade, mas pela sua importância no metabolismo. O fósforo dissolvido ou ortofosfato é um importante macronutriente para o metabolismo da comunidade fitoplânctonica. O ortofosfato constitui a forma de fósforo disponível para o fitoplâncton (DING et al., 2010).

A principal fonte natural de fósforo para os ambientes aquáticos são os sedimentos provenientes de rochas da bacia de drenagem (ESTEVES, 2011). O fósforo frequentemente se torna limitante à produção primária de ecossistemas aquáticos. Tal fato se deve à tendência de formar compostos insolúveis associados a argilas e cátions metálicos (VENKITESHWARAN; MCNAMARA; MAYER, 2018).

A Resolução CONAMA 357/2005 não estabelece valores de ortofosfato para rios de classe II, apenas para fósforo total. As maiores concentrações de ortofosfato encontradas nas amostras de água do igarapé Dois de abril foram todas inferiores à 0,20 mg.L⁻¹. Para o Igarapé Pintado entretanto foram encontradas máximas de 1,4mg.L⁻¹ no mês de agosto/18. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de ortofosfato dos os dois Igarapés.

Com exceção do mês de agosto, os valores foram todos inferiores a 0,40mg.L⁻¹, estando bem próximo ao estabelecido pela CONAMA 357/05 que é de 0,1mg.L⁻¹.

Butzke et al. (2015), encontrou valores bem abaixo do registrados na presente pesquisa para Igarapé Pintado, estando a maioria na faixa de 0,005mg.L⁻¹. O que comprova que o Igarapé Pintado, vem a cada ano recebendo maior carga orgânica decorrente principalmente de esgoto

doméstico não tratado. Soma-se ainda o fato do mesmo, após 2013 ter tido boa parte do seu trecho canalizado, prejudicando a dinâmica natural do corpo d'água.

3.2 Metais pesados.

As concentrações dos metais alumínio, arsênio, bário, cádmio, cobalto, cromo, cobre, manganês, molibdênio, níquel, chumbo, antimônio, estanho, estrôncio, prata, vanádio e zinco, estão expostas nas figuras 13 e 14. Na figura 15 encontram-se os valores para metais pesados nos sedimentos dos pontos 1DAB, 1PIN E 3PIN para os meses de dezembro de 2017 e fevereiro, abril e agosto de 2018.

Apenas a nascente do Igarapé Pintado (PIN1) superou os limites da CONAMA 357/05 em relação às concentrações de alumínio, entretanto o valor foi ultrapassado na maior parte das coletas (meses dezembro-17, fevereiro-18 e abril-18), o que pode estar relacionado a algum tipo de contaminação ou origem natural.

O alumínio biologicamente reativo está presente na maioria dos organismos aquáticos, embora, raramente, possa ser extremamente tóxico, e pouco se sabe sobre intoxicação crônica por alumínio. Existem indícios de que a doença de Alzheimer é um sintoma de intoxicação crônica por alumínio ao longo de décadas ou o câncer de mama é agravado pela aplicação tópica de um sal de alumínio ou se o autismo pode resultar de uma cascata imune iniciada por um adjuvante de alumínio, embora nenhuma pesquisa exista nenhuma pesquisa conclusiva, com evidências científicas mais atualizadas (EXLEY, 2016).

Rybak et al., (2017) descobriram que o alumínio se acumula em macrófitas, alcançando concentrações que inibem o crescimento das mesmas. SHUHAIMI-OTHMAN et al., (2013) testaram a sensibilidade de diversos organismos ao alumínio, dentre eles se destacam a larva de mosquito *C. javanus* (CL_{50} 1,43mg.L⁻¹), o peixe *R. sumatrana* (CL_{50} 1,53 mg.L⁻¹), o girino *D. melanostictus* (CL_{50} 1,87mg.L⁻¹), o crustáceo *M. lanchesteri* (CL_{50} 2,9 mg.L⁻¹), e o peixe *S. major* (CL_{50} 3,1 mg.L⁻¹). E TRENFIELD et al., (2012), determinou uma IC_{50} de para a alga *Chlorella sp.*

As concentrações de cádmio estão expostas na figura 13 (e). Em todos os pontos amostrais, não houve superação do limite estabelecido para classe 2, de 0,001mg.L⁻¹. Entretanto, valores inferiores de cádmio já foram comprovados sendo tóxicos para diversos organismos do ecossistema aquático. Shuhaimi-Othman et al., (2013) testaram a sensibilidade

de diversos organismos ao cádmio, e a toxicidade encontrada para os organismos mais sensíveis foram: ao crustáceo *M. lanchesteri* (CL₅₀ 0,007mg.L⁻¹), ao peixe *S. Major* (CL₅₀ 0,013mg.L⁻¹), e ao anelídeo *Nais elinguis* (CL₅₀ 0,027mg.L⁻¹). Para o fitoplâncton RODGHER et al., (2012) encontraram 0,004mg.L⁻¹ para a cianobactéria *microcystis aeruginosa*, e 0,009mg.L⁻¹ para a alga *pseudokirchneriella subcapitata*.

Todos os valores encontrados para o metal cromo ficaram dentro do estabelecido da resolução CONAMA 357/05 para rios de classe 2. O cromo ocorre nos estados de oxidação -2 a +6, porém somente o C(II), Cr(III) e Cr(VI) são os mais comuns. A forma bivalente é facilmente oxidada à forma trivalente pelo ar. Com relação a toxicidade, as formas tri e hexavalente são as mais importantes (WHO, 1988). SHUHAIMI-OTHMAN et al., (2013) testaram a sensibilidade de diversos organismos ao manganês, a toxicidade encontrada para os organismos mais sensíveis foram: anelídeo *Nais elinguis* (CL₅₀ 0,36mg.L⁻¹), o peixe *S. Major* (CL₅₀ 0,51mg.L⁻¹), larva de mosquito *C. javanus* (CL₅₀ 5,27mg.L⁻¹), e o peixe *R. sumatrana* (CL₅₀ 5,71mg.L⁻¹). Para o fitoplâncton RODGHER et al., (2012) encontraram 0,03mg.L⁻¹ para a cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, e 0,018mg.L⁻¹ para a alga *pseudokirchneriella subcapitata*.

Para as concentrações de cobre, o limite de 9µg.L⁻¹ foi superado em todos os pontos. A nascente do Igarapé Pintado (PIN1) esteve em desconformidade em todas as quatro coletas. Os efeitos da toxicidade do cobre são diversos, e atingem cada nível trófico de forma diferente, pode até mesmo alterar os níveis de remoção de nitrogênio da comunidade microbiana (WEN; CHANG; WANIELISTA, 2018). Shuhaimi-Othman et al., (2013) testaram a sensibilidade de diversos organismos ao cobre, e a toxicidade encontrada para os organismos mais sensíveis foram: ao peixe *R. sumatrana* (CL₅₀ 0,006mg.L⁻¹), ao anelídeo *Nais elinguis* (CL₅₀ 0,007mg.L⁻¹), ao peixe *S. Major* (CL₅₀ 0,025mg.L⁻¹), e ao girino *D. melanosticus* (CL₅₀ 0,028mg.L⁻¹).

O manganês dentre todos os metais analisados teve a maior porcentagem (83 %) de amostras em desconformidade com a Resolução CONAMA357/05. A toxicidade do manganês está relacionada a efeitos neurológicos nos organismos expostos (ONG; IBRAHIM; SENGUPTA, 2007).

Dentre as muitas fontes do manganês, encontram-se os resíduos de fertilizantes e os fungicidas utilizados. Como a bacia do Dois de Abril possui grande parte em zona rural, esta

poderia ser uma fonte. Entretanto, como a nascente e exutório do Pintado também ficaram fora dos limites, o alto teor de manganês nas águas pode ter relação com a composição das rochas da região.

Shuhaimi-Othman et al., (2013) testaram a sensibilidade de diversos organismos ao cobre, e a toxicidade encontrada para os organismos mais sensíveis foram: ao anelídeo *Nais elinguis* (CL_{50} 0,36mg.L⁻¹), aos peixes *S. Major* (CL_{50} 0,51mg.L⁻¹), *C. javanus* (CL_{50} 5,27mg.L⁻¹) e *R. sumatrana* (CL_{50} 5,71mg.L⁻¹). As concentrações encontradas no trabalho seriam capazes de causar efeitos deletérios nessas duas comunidades.

Para os valores de chumbo, as duas microbacias apresentaram baixos valores em todos os pontos amostrais à exceção do ponto PIN1, que em metade das coletas se encontrou em desconformidade com os limites estabelecidos pela resolução, atingindo valores máximos de 12,6µg.L⁻¹. Sabe-se que o Pb, é um metal não essencial, muito tóxico para os organismos aquáticos, mesmo em pequenas quantidades, devido à sua capacidade de se bioacumular (AOUINI et al., 2018). Os efeitos adversos do chumbo em organismos biológicos vão desde potenciais efeitos nos sistemas hematopoiético, renal, reprodutivo até no sistema nervoso central (BILLEN et al., 2017).

A nascente do Igarapé Pintado também apresentou concentrações de zinco acima do estabelecido pela Resolução CONAMA 357/05 (180µg.L⁻¹), com uma média de 312µg.L⁻¹. Destaca-se que as amostras estiveram acima do limite todas as coletas.

O zinco é um elemento essencial na vida, desempenha um papel no metabolismo de proteínas e ácidos nucleicos, estimula a atividade de mais de 100 enzimas, e na síntese de DNA (CIJI; NANDAN, 1995). Ele se acumula em macrófitas podendo alcançar níveis tóxicos (NÚÑEZ et al., 2011). Iwasaki et al.,(2018) trazem em seu estudo que concentrações de 70µg.L⁻¹ já são capazes de reduzir a biodiversidade de macro invertebrados.

Wu et al., (2016), também abordam que o sedimento de áreas urbanizadas é seriamente contaminado com Cr, Cu e Ni, e que estes causam toxicidade aguda. Metais pesados, exceto Cr e Pb, geralmente estão associados a frações não residuais, indicando sua alta mobilidade e biodisponibilidade. Causando a contaminação das áreas não antropizadas, devido a dispersão de metais pesados ao longo do rio. No geral, quando as fontes pontuais não são devidamente

reguladas, a intensa industrialização pode causar tanto contaminação séria quanto dispersão de metais pesados, que têm consequências de longo alcance na saúde pública e no meio ambiente.

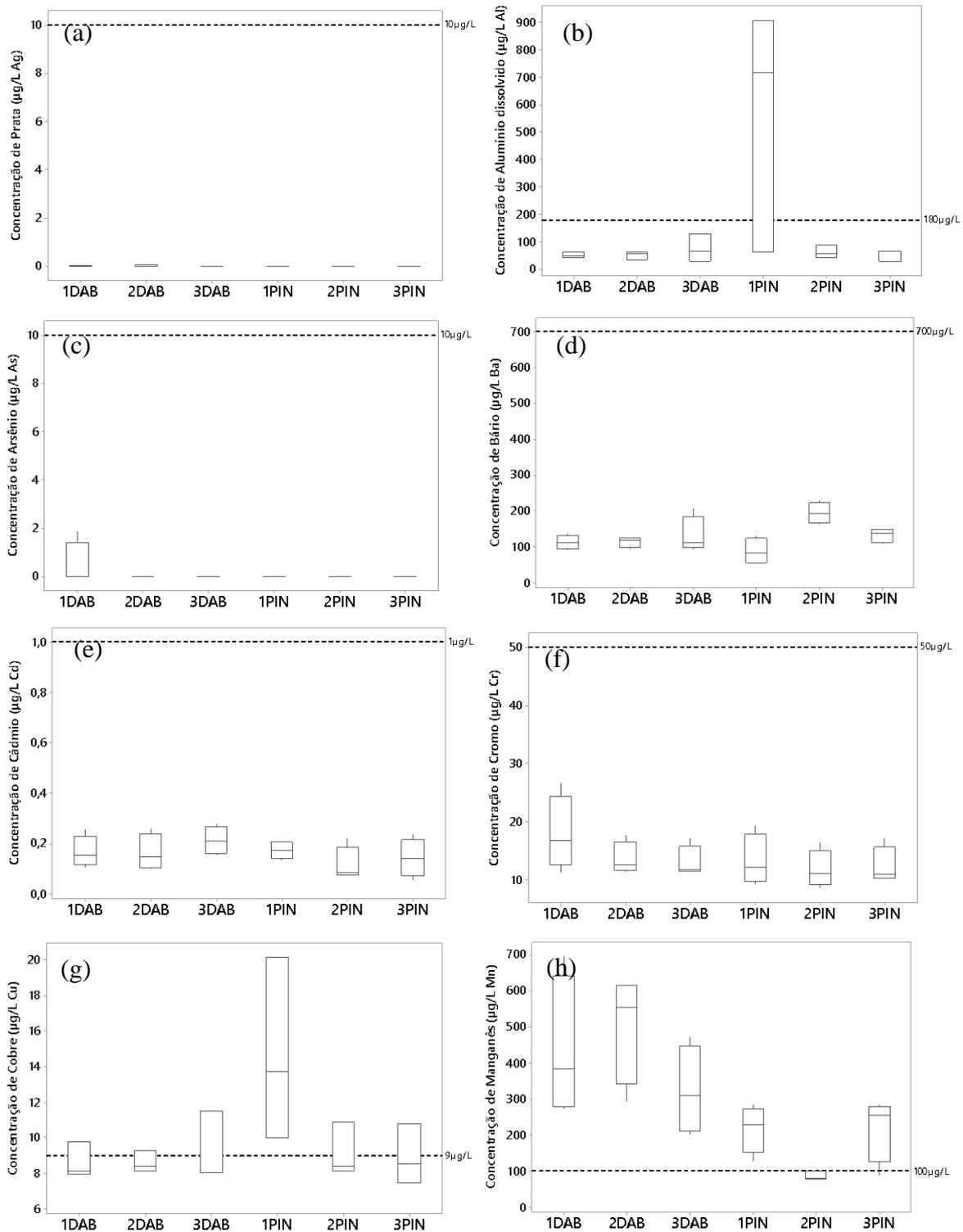


Figura 13: Concentrações dos metais (a)Ag, (b) Al, (c) As, (d)Ba, (e) Cd, (f) Cr, (g) Cu e (h) Mn em amostras de água, coletadas nos meses de dez/2017, fev/2018, abr/2018 e ago/2018.

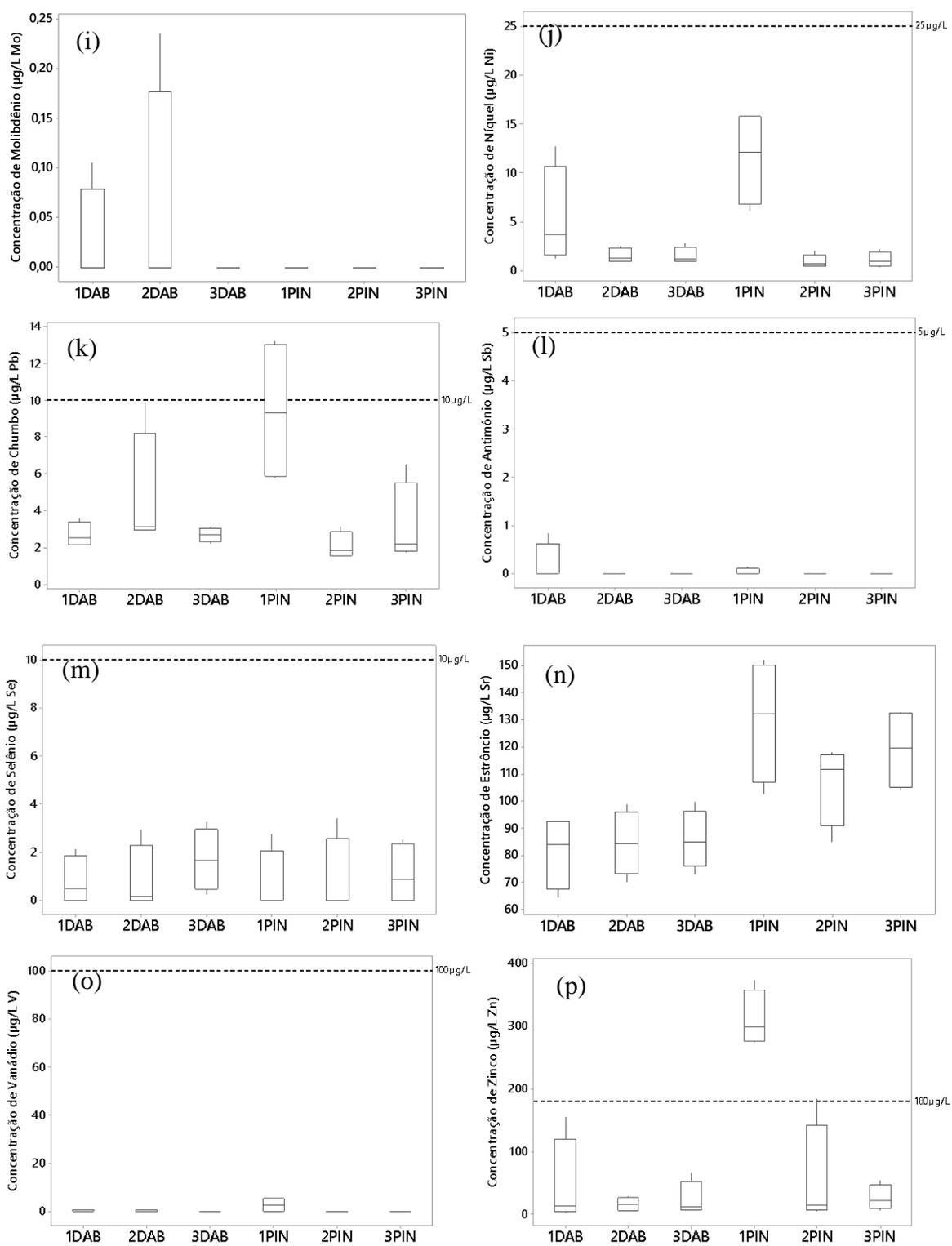


Figura 14: Concentrações dos metais Mo (i), Ni (j), Pb (k), Sb (l), Se (m), Sr (n), V (o) e Zn (p) em amostras de água, coletadas nos meses de dez/2017, fev/2018, abr/2018 e ago/2018.

3.3 Avaliação Ecotoxicológica

3.3.1 Testes com *Allonais inaequalis*

Os resultados dos testes de toxicidade com a oligoqueta *Allonais inaequalis* estão dispostos na figura 16. Os resultados estão expressos em mortalidade

Em amostras microbacia do córrego Dois de abril, não houve toxicidade para o organismo. No Ponto 2DAB houve uma pequena mortalidade nas coletas de dezembro-17 e fevereiro-18, com mortalidade de 10%, entretanto, através do teste de Dunnett não se encontrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra e o controle para comprovar a toxicidade.

Para o córrego Pintado, a nascente (PIN1) provocou a mortalidade de todos os organismos testados, altamente tóxica para níveis de amostras ambientais. PIN2 não provocou nenhum efeito deletério, enquanto o exutório (PIN3) provocou uma pequena mortalidade (10%) nas amostras de dezembro-17 e fevereiro-18, entretanto, através do teste de Dunnett não se encontrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra e o controle para comprovar a toxicidade. A Resolução CONAMA 357/05 traz em seu artigo 14, I a) Que uma condição de qualidade de água para rios de Classe II é a não verificação de efeito tóxico agudo a organismos.

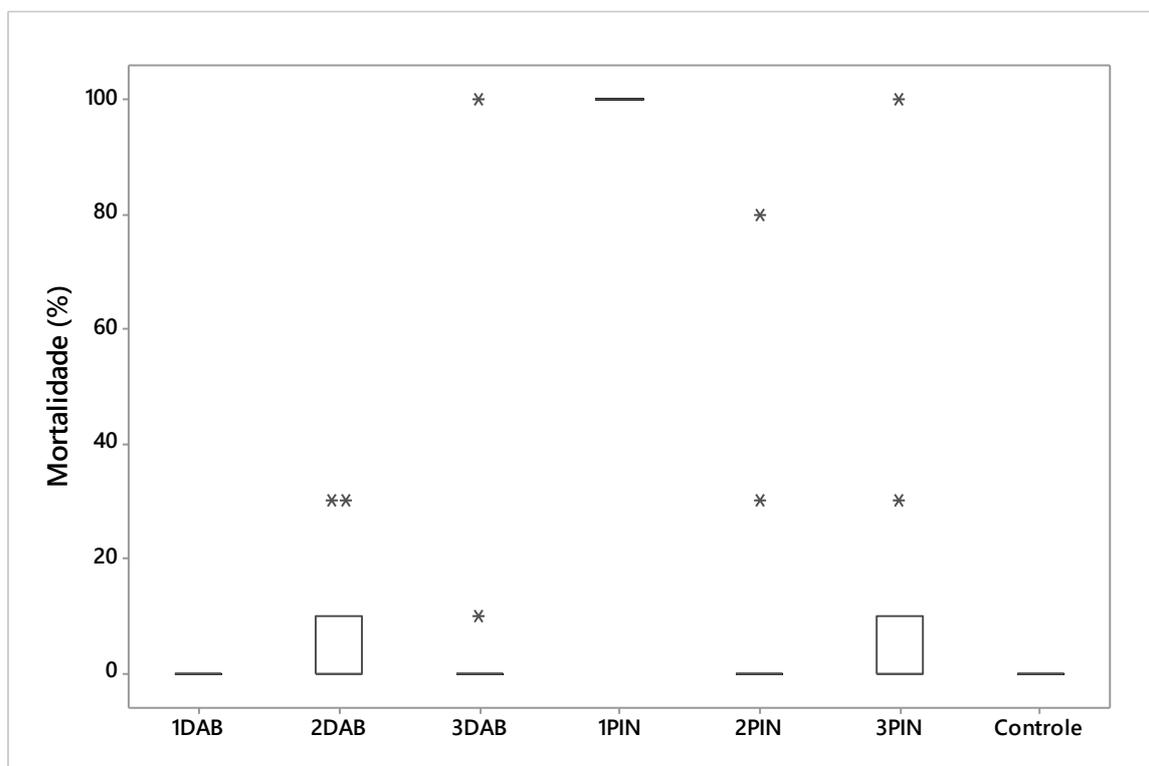


Figura 15: Mortalidade do oligoqueta *Allonais inaequalis* para as amostras ambientais.

Para a nascente que se mostrou altamente tóxica, foi realizado ensaios com diluições de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,12%, a fim de verificar a partir de qual concentração a amostra de água já apresentava toxicidade. As figuras 17, 18 e 19 trazem o resultado do experimento com diluições do ponto 1PIN, para os meses de fevereiro, abril e agosto respectivamente.

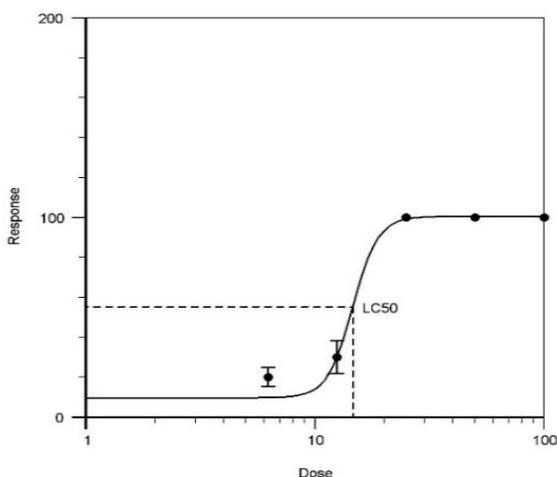


Figura 16: Determinação da CL_{50} do ponto 1PIN para o mês de fevereiro, $CL_{50}=14,28mL.L^{-1}$.

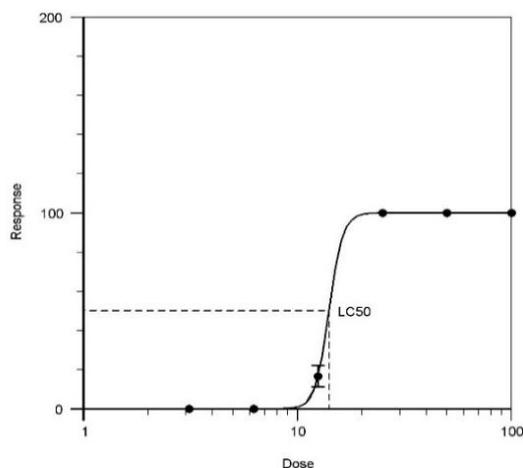


Figura 17: Determinação da CL_{50} do ponto 1PIN para o mês de abril, $CL_{50}=14,07mL.L^{-1}$.

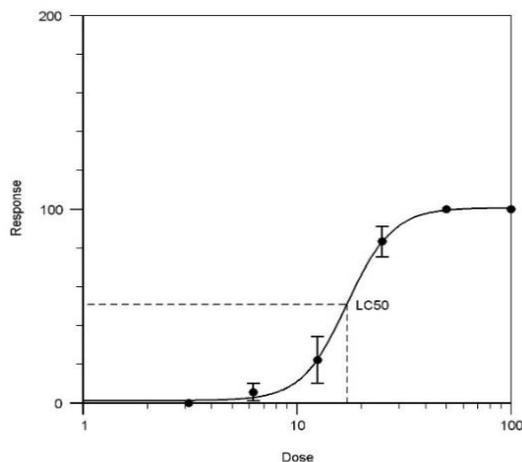


Figura 18: Determinação da CL_{50} do ponto 1PIN para o mês de agosto, $CL_{50}=17,14mL.L^{-1}$.

A CL_{50} expressa a concentração capaz de causar morte em 50% dos organismos. Quanto menor o seu valor, maior é a toxicidade da amostra. Nos meses de fevereiro e abril a CL_{50} do 1PIN foram bem similares (fev. 14,28% e abr. 14,07%), e em houve uma leve diminuição da toxicidade (ago. 17,14%). Esta alta toxicidade, pode indicar que o efeito observado na *A. inaequalis* também se replique em outros organismos do mesmo táxon, durante um grande

trecho do curso d'água. Nos pontos analisados à jusante, a toxicidade não foi detectada, possivelmente pelo aumento da vazão e contribuição de tributários, entretanto, a água deve apresentar toxicidade até o igarapé atingir uma diluição de efeito não observável.

O oligochaeta *Allonais inaequalis* também foi testado submetendo os organismos ao sedimento do local em três pontos amostrados. Para os testes com amostras do ponto 1DAB, não foi observado efeito tóxico (0% de mortalidade).

No Igarapé Pintado os dois pontos amostrados apresentaram toxicidade. A nascente 1PIN foi tóxica (100% de mortalidade) nos meses de dezembro/17, fevereiro/18 e abril/18. Enquanto que o exutório (3PIN) foi tóxico nos meses de abril/18 e agosto/18. Avaliar a toxicidade no sedimento é importante pois é nele que se depositam os principais contaminantes, caso haja algum evento de ressuspensão, os poluentes (como os apresentados na figura 15) podem voltar a ser prejudiciais aos organismos vivos (WU et al., 2016).

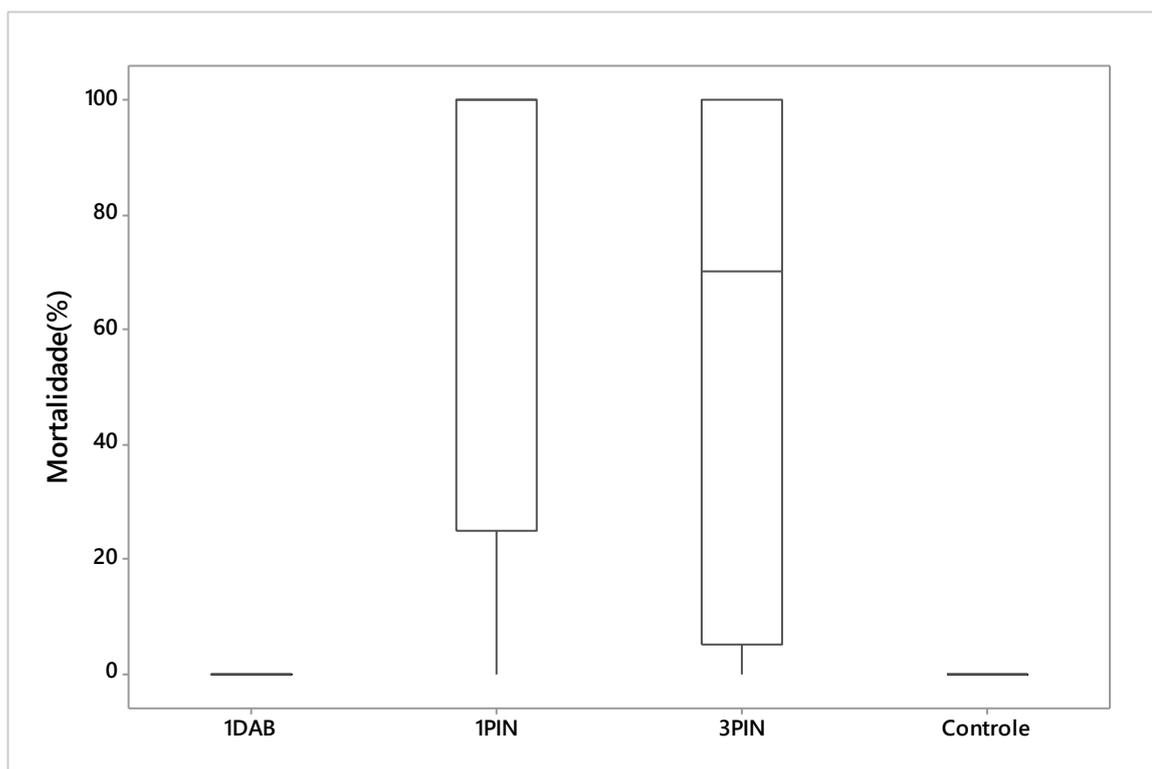


Figura 19: Mortalidade da oligoqueta *Allonais inaequalis* submetidas às amostras de sedimento.

Para tentar encontrar alguma causalidade, aplicou-se aos dados o método preditivo da Análise de Componentes Principais - ACP. O objetivo foi buscar quais dos fatores analisados

na pesquisa mais contribuíram com a variabilidade da Mortalidade do oligoqueta *A. inaequalis*. Os resultados estão expressos na figura 21.

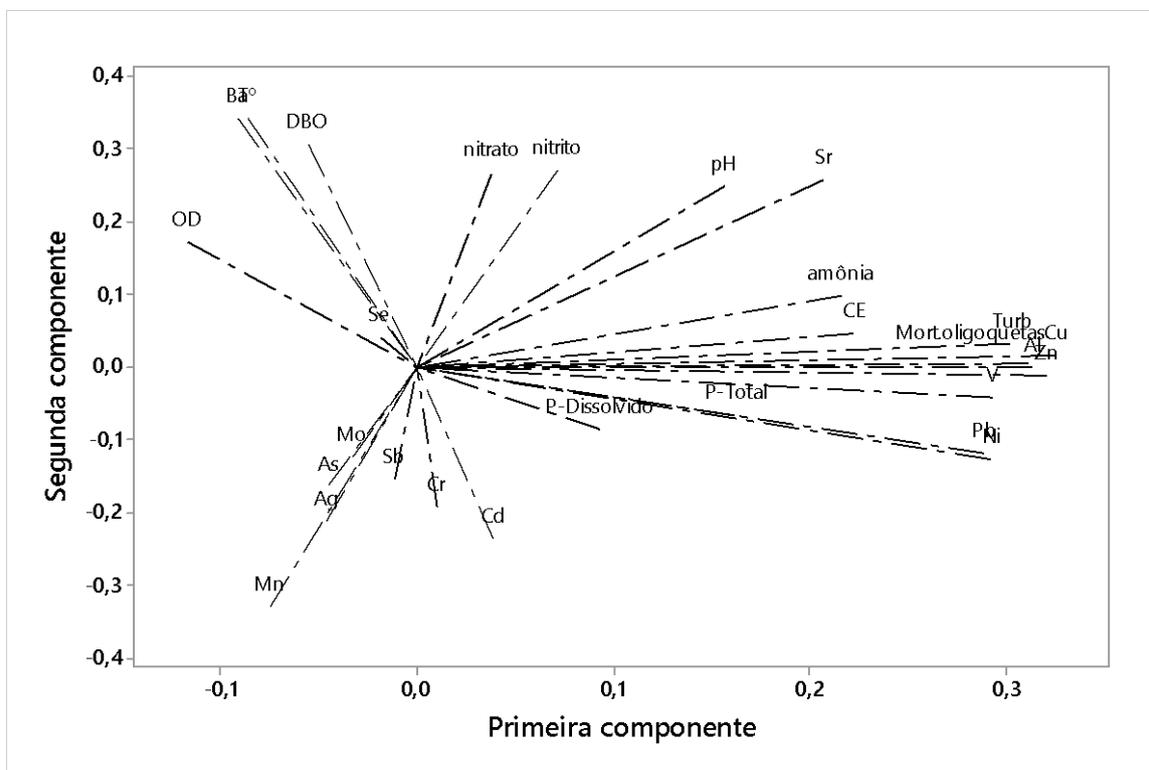


Figura 20: Análise de Componentes Principais – ACP, aplicada às variáveis limnológicas e os resultados dos testes de ecotoxicidade com o oligoqueta *A. inaequalis*.

Através da plotagem do gráfico, foi possível identificar um conjunto de variáveis que dividem similaridade com a mortalidade dos oligoquetas. Dentre eles estão Turbidez, Condutividade elétrica e os metais Al, Cu, Zn, V. É válido ressaltar que os parâmetros Turbidez, Al, Cu e Zn ultrapassaram os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 nas amostras coletadas, o que pode corroborar com a associação da toxicidade.

A oligoqueta *Allonais inaequalis* é um organismo novo na ecotoxicologia, ainda não existem estudos suficientes para consolidar seu uso em testes toxicológicos. Para este estudo, dadas as concentrações de nutrientes e metais pesados, ela se mostrou resistente à maioria dos contaminantes. Sanches et al., (2016) ao fazer o inventário de oligoquetas na bacia do Tietê, na cidade de Bocaina-SP, encontrou a *A. inaequalis* como o organismo mais abundante do local. O que pode indicar que se trata de um organismo adaptado ao ambiente urbano, e aos poluentes que ambientes desta natureza estão sujeitos. Segundo Oliveira et al. (2018), a urbanização afeta

diretamente na biodiversidade, com níveis avançados de alteração no ecossistema, permanecem apenas os organismos adaptados e resistentes.

3.3.2 Testes com *Chlorella* sp

Para a alga *Chlorella* sp, cada amostra testada teve seu crescimento celular em 96h comparados à um controle (meio de cultura ASM-1). A tabela 1 apresenta os resultados do Teste de Dunnett de comparação das médias. Quando há diferença significativa entre as médias, é comprovada a toxicidade.

Tabela 1: Resultados do teste t de comparação de médias, para determinar se houve diferença significativa entre o crescimento celular do controle e das amostras.

	Dez/17	Fev/18	Abr/18	Ago/18
1DAB	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico
2DAB	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico
3DAB	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico
1PIN	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Não tóxico
2PIN	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico
3PIN	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico

A figura 22 traz a inibição de crescimento (IC) celular causada por cada amostra durante as quatro coletas. Para as amostras que obtiveram crescimento celular superior ao controle, representadas por valores de (IC) negativo, caracteriza-se um efeito bioestimulatório. Isso ocorre quando as condições nutricionais (Figuras 7, 8, 9 e 12) nas amostras são mais favoráveis ao crescimento que o próprio meio de cultivo, e superam algum possível efeito tóxico (ABNT, 2018).

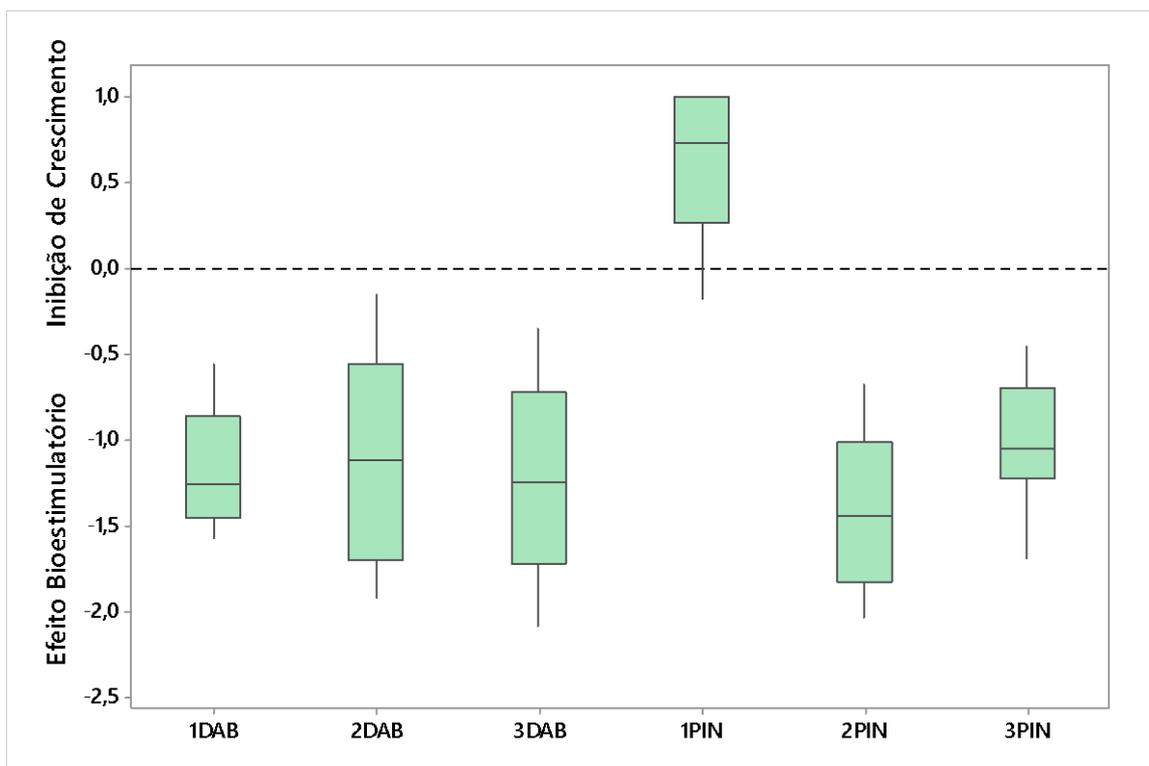


Figura 21: Inibição de Crescimento da microalga *Chlorella* sp nos pontos amostrais nos meses de Dezembro/2017, Fevereiro/2018, Abril/18 e Agosto/18.

O Igarapé Dois de abril não demonstrou toxicidade para a alga em nenhum dos pontos, além disso, em todos os períodos amostrados foi observado um efeito bioestimulatório, que provocou um crescimento celular de duas a três vezes maior que o obtido no meio de cultura.

Para o Igarapé Pintado os Pontos 2PIN e 3PIN também obtiveram estímulo no crescimento, enquanto que a nascente 1PIN foi detectada como tóxica em quase todos os períodos. A Resolução CONAMA 357/05 traz em seu artigo 14, I a) Que uma condição de qualidade de água para rios de Classe I é a não verificação de efeito tóxico crônico a organismos.

A figura 23 traz a Análise de Componentes Principais – ACP, com o objetivo de buscar alguma similaridade entre a variabilidade das variáveis limnológicas e a Inibição de Crescimento da alga *Chlorella* sp.

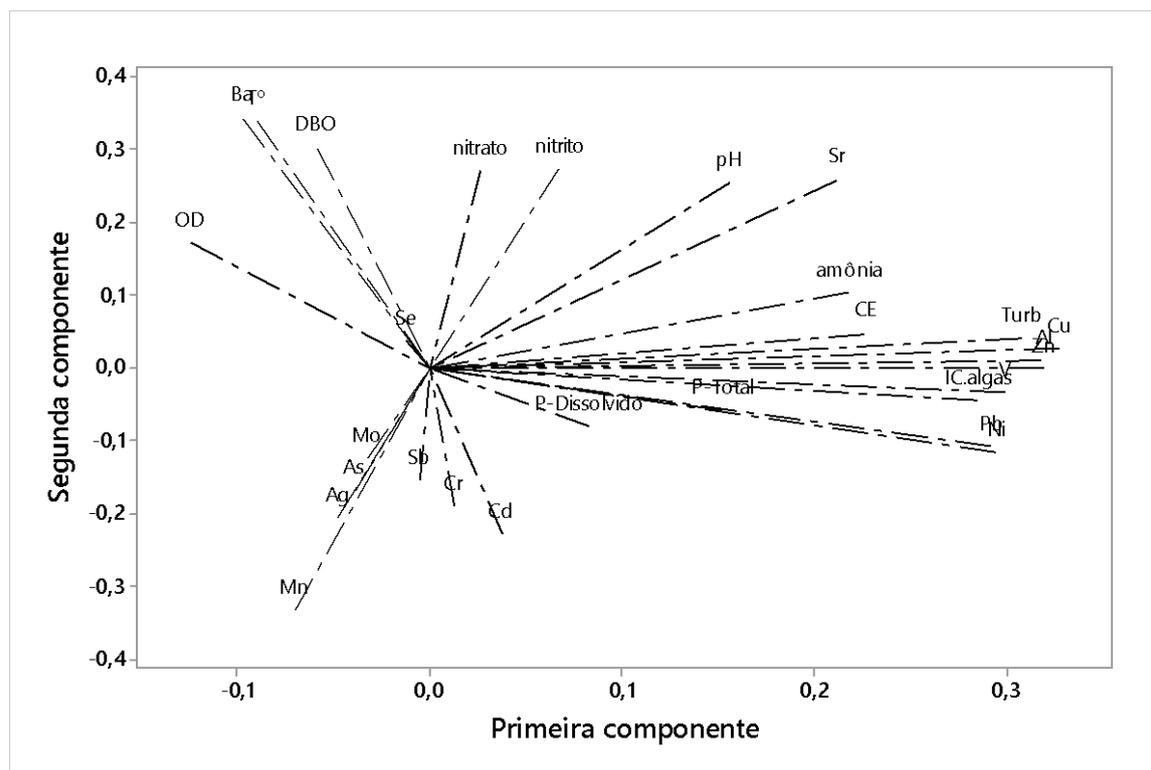


Figura 22: Análise de Componentes Principais – ACP, aplicada às variáveis limnológicas e os resultados dos testes de ecotoxicidade com a alga *Chlorella* sp.

Através da plotagem do gráfico, foi possível identificar um conjunto de variáveis que dividem similaridade com a Inibição de Crescimento verificado para a *Chlorella* sp. As mais próximas à Toxicidade para as algas foram Condutividade elétrica, Fósforo total, turbidez, e os metais Cu, Zn, V, Pb e Ni. Dentre elas, Fósforo total, turbidez, Cu, Zin, Pb e Ni ultrapassaram os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05. O que pode contribuir para a associação da presença dos contaminantes com a degradação ambiental das sub-bacias.

O gráfico agrupa as variáveis similares, apesar de relacionados, avaliar a real causa da toxicidade de amostras ambientais é complexa, e quando não há um agente químico preponderante, é difícil inferir sobre as causas da toxicidade. Para identificação precisa dos principais xenobióticos de uma amostra, são necessários testes como o TIE (Toxicity Identification Evaluation), que consistem em uma bateria de testes ecotoxicológicos associado a neutralização de grupos de contaminantes (BUDI et al., 2016).

Cristo et. al., (2017), ao analisar o tecido de peixes coletados na bacia do igarapé Dois de Abril, encontrou formação de micro núcleos, evidência significativa de genotoxicidade.

De todos os pontos analisados o 1PIN se destacou, por ser o único a apresentar toxicidade, e pelos altos valores obtidos nas variáveis pH, CE, turbidez, amônia, nitrato, fósforo, alumínio, cobre, chumbo e zinco. É importante ressaltar que o ponto em questão se trata de uma nascente, portanto a vazão é muito baixa, e os despejos realizados nesse ponto são pouco diluídos. Quando se observa os pontos a jusante (2PIN e 3PIN), poucos parâmetros permanecem altos. Isso se dá pela decantação dos metais pesados, pela diluição, e pela depuração da matéria orgânica. Entretanto, independente da diluição, a toxicidade encontrada no local é muito grande. Ao se analisar a zona de influência do ponto, é possível observar moradias bem próximas ao leito, uma pequena zona comercial e a montante uma empresa de lavagem de carros. Pela característica das amostras do local, coloração rosa, com muita espuma suspeita-se que o principal agente tóxico sejam os resíduos da lavagem dos carros. Os parâmetros Fósforo total, nitrito, nitrato se assemelham muito ao encontrado por Hashim et al., (2016) para efluente bruto de lavagem automotiva. Segundo ABAGALE et al., (2013) os principais metais pesados oriundos da lavagem automotiva são Ferro, Manganês, Cromo, Chumbo, Zinco e Cobre. Dentre eles, foram encontrados em concentrações acima do permitido pela resolução CONAMA 357/05 no 1PIN, os metais Cr, Pb, Zn e Cu.

As amostras da bacia do Córrego Dois de abril não apresentaram toxicidade para a alga *Chlorella* sp. e para a oligoqueta *Allonais inaequalis*, e que condiz com os parâmetros analisados. No geral, os parâmetros analisados para a bacia demonstram um impacto da urbanização no recurso hídrico, porém, não foram suficientes para causar efeitos agudos ou crônicos nos organismos. Sobre o uso e ocupação, cerca de 48% da bacia é ocupada por urbanização, 5% de vegetação arbórea e 47% de vegetação rasteira. As zonas de recarga da bacia se situam fora do perímetro urbanizado. Este pode ser um indicativo para o contraste entre a conservação ambiental apresentada pela bacia do Dois de abril em relação ao Pintado, que apresenta 82% de sua área em perímetro urbano.

Para a alga, à exceção do 1PIN, todos os pontos analisados obtiveram um efeito estimulatório no crescimento celular, ou seja, o crescimento apresentado nas amostras foi superior ao apresentado pelo meio de cultura. Apesar de não se caracterizar como um efeito tóxico, o efeito bioestimulatório pode ser prejudicial ao recurso hídrico. Ele é causado principalmente quando há a abundância de fatores limitantes ao crescimento fitoplanctônico, o principal deles, o fósforo. Para ambos os igarapés o fósforo foi encontrado acima do

preconizado na resolução CONAMA 357/05, e através da análise das principais componentes, foi possível relacionar suas concentrações ao crescimento das microalgas, e à mortalidade da *A. inaequalis*. O principal problema ambiental da disponibilidade do fósforo é o enriquecimento nutricional do ambiente aquático. O que pode provocar a floração de algas e cianobactérias, alterando toda a dinâmica do ecossistema, além da possível liberação de cianotoxinas, e aumento da toxicidade do igarapé.

Através da observação dos dados obtidos na presente pesquisa, nota-se que o período de seca é crítico nas duas microbacias, pois a pequena vazão não é suficiente para diluir, nem mesmo depurar os efluentes lançados nos Igarapés. O Igarapé Pintado apresenta a maior taxa de urbanização, e conseqüentemente tem a maior degradação ambiental.

As duas microbacias apresentam impactos da urbanização, desde a sua qualidade de água, até a ocupação do solo. É importante, porém, que a ação de enquadramento não aceite a condição atual de degradação dos recursos hídricos, mas que incentive a recuperação das áreas degradadas, e conseqüentemente as condições sanitárias da bacia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As amostras do 1PIN Inibiram o crescimento celular da *Chlorella* sp e causaram efeito deletério nas oligoquetas *A. inaequalis*, sua concentração de efeito (CL₅₀) foi encontrada na faixa de 14mL.L⁻¹.
- As demais amostras das duas sub-bacias provocaram um efeito bioestimulatório na alga *Chlorella* sp., e não provocaram efeito observável nas oligoquetas.
- Foi possível quantificar as concentrações de nutrientes nas microbacias. Destaca-se que o fósforo encontrado nas análises se apresentou muito alto. Com máximos para A bacia Dois de abril de 0,67mg.L⁻¹, e 1,49mg.L⁻¹ para a bacia do Pintado. E o nitrogênio também superou os limites da resolução.
- Sobre os parâmetros físico-químicos, DBO, OD, turbidez e pH se encontraram fora dos limites estabelecidos pela resolução.
- A microbacia do córrego Dois de abril altas concentrações dos metais Cobre e Manganês, ambos acima do preconizado pela Resolução CONAMA 357/05. A microbacia do córrego Pintado apresentou altas concentrações dos metais Zinco, Chumbo, Manganês, Cobre e Alumínio, todos acima do preconizado pela resolução. Os demais metais se encontraram em conformidade com a resolução.

RECOMENDAÇÕES

Visando melhor entendimento dos efeitos ecotoxicológicos que a água das microbacias estudadas possam oferecer à comunidade aquática, recomenda-se realizar experimento com organismos-teste de outros níveis tróficos.

REFERÊNCIAS

- ABAGALE, F. K. et al. Heavy metal concentration in wastewater from car washing bays used for agriculture in Tamale Metropolis, Ghana. **International journal of current research**, n. June, 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Atlas Esgotos Despoluição de Bacias Hidrográficas**. 2017.
- AGUILAR, M. I. et al. Nutrient removal and sludge production in the coagulation-flocculation process. **Water Research**, v. 36, n. 11, p. 2910–2919, 2002.
- ALVES, G.; MARCHESE, M. R.; ESCARPINATI, S. C. Oligochaeta (Annelida , Clitellata) in lotic environments in the State of São Paulo , Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 96, n. 4, p. 431–435, 2006.
- ALVES, R. DA G.; GORNI, G. R. Naididae species (Oligochaeta) associated with submersed aquatic macrophytes in two reservoirs (São Paulo, Brazil). **Acta Limnológica Brasileira**, v. 19, n. 4, p. 407–413, 2007.
- AOUINI, F. et al. Assessing lead toxicity in the clam *Ruditapes philippinarum*: Bioaccumulation and biochemical responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 158, n. April, p. 193–203, 2018.
- APHA AMERICAN PUBLIC HEALTH ORGANIZATION. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, D. C.:1999.
- APRILE, F. .; BOUVY, M. Distribution And Enrichment Of Heavy Metals In Sediments At The Tapacurá River Basin , Northeastern Brazil. **Brazil Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12648: Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro. 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12648: Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras Rio de Janeiro. 2006.
- BAKER, J. A. et al. Evaluation of the effect of water type on the toxicity of nitrate to aquatic organisms. **Chemosphere**, v. 168, p. 435–440, 2017.

- BECOUCZE-LAREURE, C. et al. Dynamics of toxicity within different compartments of a peri-urban river subject to combined sewer overflow discharges. **Science of the Total Environment**, v. 539, p. 503–514, 2016.
- BENNETT, E. M.; CARPENTER, S. R.; CARACO, N. F. Human Impact on Erodable Phosphorus and Eutrophication: A Global Perspective. **BioScience**, v. 51, n. 3, p. 227, 2001.
- BILLEN, P. et al. Comparative evaluation of lead emissions and toxicity potential in the cradle-to-gate life cycle of lead halide perovskite photovoltaics. **Energy**, v. 166, p. 1–6, 2017.
- BONAI, N. et al. Distribution of metals in the sediment of the Itá Reservoir , Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v. 21, n. 2, p. 245–250, 2009.
- CAMARGO, J. A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: A review with new data for freshwater invertebrates. **Chemosphere**, v. 58, n. 9, p. 1255–1267, 2005.
- CHEN, W. et al. Effect of urea on growth and microcystins production of *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 665–671, 2011.
- CHEN, W.; TONG, H.; LIU, H. Effects of nitrate on nitrite toxicity to *Microcystis aeruginosa*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 6, p. 1106–1111, 2012.
- CHILDERS, D. L. et al. Sustainability Challenges of Phosphorus and Food: Solutions from Closing the Human Phosphorus Cycle. **BioScience**, v. 61, n. 2, p. 117–124, 2011.
- CIJI, P. P.; NANDAN, S. B. Toxicity of copper and zinc to *Puntius parrah* (Day, 1865). **Marine Environmental Research**, v. 93, p. 38–46, 1995.
- CONAMA-CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE 2012. Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005.
- CONAMA-CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE 2012. Resolução Conama nº 430, de 13 de maio de 2011.
- CONAMA-CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE 2012. Resolução Conama nº 454, de 01 de novembro de 2012.
- CORBI, J. J.; GORNI, G. R.; CORREA, R. C. An evaluation of *Allonais inaequalis*

- Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) as a toxicity test organism. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 10, n. 1, p. 7–11, 2015.
- CORDELL, D.; WHITE, S. Life's Bottleneck: Sustaining the World's Phosphorus for a Food Secure Future. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 39, p. 161–188, 2014.
- COSTA, C. R. et al. A TOXICIDADE EM AMBIENTES AQUÁTICOS: DISCUSSÃO E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO. **Química nova**, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008.
- CUNHA, D. G. F. et al. Nutrient uptake in a simplified stream channel: Experimental manipulation of hydraulic residence time and transient storage. **Ecohydrology**, v. 11, p. e2012, 2018.
- DING, S. et al. Measurement of dissolved reactive phosphorus using the diffusive gradients in thin films technique with a high-capacity binding phase. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 21, p. 8169–8174, 2010.
- DODDS, W. K.; PERKIN, J. S.; GERKEN, J. E. Human Impact on Freshwater Ecosystem Services: A Global Perspective. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 9061–9068, 2013.
- EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. v. 20
- EL-SHAFI, S. A. et al. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 232, n. 1–4, p. 117–127, 2004.
- ELSER, J. J. et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 10, n. 12, p. 1135–1142, 2007.
- EXLEY, C. The toxicity of aluminium in humans. **Morphologie**, v. 100, n. 329, p. 51–55, 2016.
- FINKLER, N. R. et al. Nitrogen and phosphorus uptake dynamics in tropical Cerrado woodland streams. **Water (Switzerland)**, v. 10, n. 8, p. 17–19, 2018.
- GALLOWAY, J. N. et al. Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. **Science**, v. 320, n. 5878, p. 889–892, 2008.

- GOLD, A. C.; THOMPSON, S. P.; PIEHLER, M. F. Nitrogen cycling processes within stormwater control measures: A review and call for research. **Water Research**, 2018.
- GOLTERMAN, H. L.; CLYMA, R. S. AND; OHNSTADT, M. A. M. Methods for physical and chemical analysis of fresh water. **IBP Handbook**, v. 8, n. 2, p. 213, 1978.
- GOMES, D. F. et al. Aquatic oligochaeta (Annelida: Clitellata) in extractive reserve Lake Cuniã, Western Brazilian Amazon. **Biota Neotropica**, v. 17, n. 1, p. 1–7, 2017.
- GORNI, G.; PEIRÓ, D. F.; SANCHES, N. Aquatic Oligochaeta (Annelida: Clitellata) from State of São Paulo, Brazil: Diversity and Occurrence review. **biotaneotropica**, v. 15, n. 1, p. 1–8, 2015.
- GORNI, G. R.; ALVES, R. DA G. Naididae species (Annelida : Oligochaeta) associated with the sponge *Metania spinata* (Carter , 1881) (Porifera : Metaniidae) from a southeastern Brazilian reservoir. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 20, n. 3, p. 261–263, 2008.
- GORNI, G. R.; ALVES, R. G. Naididae (Annelida, Oligochaeta) associated with *Pomacea bridgesii* (Reeve) (Gastropoda, Ampullaridae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 4, p. 1059–1061, 2006.
- HASHIM, N. H.; ZAYADI, N. Pollutants Characterization of Car Wash Wastewater. **MATEC Web of Conferences**, v. 08, p. 4–9, 2016.
- HVAS, M. et al. The effect of environmental hypercapnia and size on nitrite toxicity in the striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Aquatic Toxicology**, v. 176, p. 151–160, 2016.
- IWASAKI, Y.; KAGAYA, T.; MATSUDA, H. Comparing macroinvertebrate assemblages at organic-contaminated river sites with different zinc concentrations: Metal-sensitive taxa may already be absent. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 241, p. 272–278, 2018.
- JENSEN, F. B.; HANSEN, M. N. Differential uptake and metabolism of nitrite in normoxic and hypoxic goldfish. **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 2, p. 318–325, 2011.
- KOOKANA, R. S. et al. Potential ecological footprints of active pharmaceutical ingredients: An examination of risk factors in low-, middle- and high-income countries. **Philosophical**

Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 369, n. 1656, 2014.

KOROLEFF, F. Determination of total nitrogen in natural waters by means of persulphate oxidation. **S.R. Carlberg (Editor), New Baltic Manual. ICES Cooperative Res. Rep., Ser. A**, n. 29, p. 73–78, 1972.

LEWIS, W. M.; MORRIS, D. P. Transactions of the American Toxicity of Nitrite to Fish : A Review **TRANSACTIONS. Transactions of the American Fisheries Society**, n. December, p. 37–41, 1986.

LIU, Z. et al. Toxicity of ammonia, cadmium, and nitrobenzene to four local fishes in the Liao River, China and the derivation of site-specific water quality criteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, n. April 2017, p. 656–663, 2018.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water Analysis: Some Revised Methods for Limnologists**.

MATSON, P. A. et al. The globalization of N deposition: Ecosystem consequences in tropical environments. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1–3, p. 67–83, 1999.

MAYER, B. K. et al. Innovative strategies to achieve low total phosphorus concentrations in high water flows. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 409–441, 2013.

MIAO, L. H. et al. Comparative transcriptome analysis reveals the gene expression profiling in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) in response to acute nitrite toxicity. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 79, p. 244–255, 2018.

MULHOLLAND, P. J. et al. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. **Nature**, v. 452, n. 7184, p. 202–205, 2008.

NÚÑEZ, S. E. R. et al. Hg, Cu, Pb, Cd, and Zn accumulation in macrophytes growing in tropical wetlands. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 216, n. 1–4, p. 361–373, 2011.

ONG, C.; IBRAHIM, S.; SEN GUPTA, B. A survey of tap water quality in Kuala Lumpur. **Urban Water Journal**, v. 4, n. 1, p. 29–41, 2007.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas

and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, n. 0, p. 3–27, 2014.

RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia toxicity in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 17–23, 2002.

RODGHER, S. et al. Cadmium and chromium toxicity to pseudokirchneriella subcapitata and microcystis aeruginosa. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 1, p. 161–169, 2012.

RYBAK, M. et al. Bioaccumulation and toxicity studies of macroalgae (Charophyceae) treated with aluminium: Experimental studies in the context of lake restoration. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, n. July, p. 359–366, 2017.

SANCHES, N. A. DE O. et al. INVENTÁRIO DE OLIGOCHAETA (ANNELIDA: CLITELLATA) EM CÓRREGOS URBANOS DE BOCAINA – SP, BRASIL. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 19, n. 1, p. 27–46, 2016.

SHAIN, D. H. et al. A survey of freshwater annelids in the Peruvian Amazon, South America. **Acta Hydrobiologica Sinica**, v. 31, n. 12, p. 47–51, 2007.

SHUHAIMI-OTHMAN, M. et al. Deriving freshwater quality criteria for copper, cadmium, aluminum and manganese for protection of aquatic life in Malaysia. **Chemosphere**, v. 90, n. 11, p. 2631–2636, 2013.

TOBERGTE, D. R.; CURTIS, S. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. In: **Journal of Chemical Information and Modeling**. v. 53p. 18–21.

TRENFIELD, M. A. et al. Dissolved organic carbon reduces the toxicity of aluminum to three tropical freshwater organisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 427–436, 2012.

ULLAH, S.; ZORRIEHZAHRA, M. J. Ecotoxicology: A Review of Pesticides Induced Toxicity in Fish. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 1, p. 40–57, 2015.

VENKITESHWARAN, K.; MCNAMARA, P. J.; MAYER, B. K. Meta-analysis of non-reactive phosphorus in water, wastewater, and sludge, and strategies to convert it for enhanced phosphorus removal and recovery. **Science of the Total Environment**, v. 644, p. 661–674, 2018.

WARREN, K. S. Ammonia toxicity and pH. **Nature**, v. 195, p. 47–49, 1962.

WEN, D.; CHANG, N. BIN; WANIELISTA, M. P. Comparative copper toxicity impact and enzymatic cascade effect on Biosorption Activated Media and woodchips for nutrient removal in stormwater treatment. **Chemosphere**, v. 213, p. 403–413, 2018.

WILLIAMS, M. et al. Emerging contaminants in a river receiving untreated wastewater from an Indian urban centre. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1256–1265, 2019.

WINKLER, L. W. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 21, n. 2, p. 2843–2854, 1888.

WU, Q. et al. Contamination, toxicity and speciation of heavy metals in an industrialized urban river: Implications for the dispersal of heavy metals. **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, n. 1–2, p. 153–161, 2016.

YU, J.; MALIUTINA, K.; TAHMASEBI, A. A review on the production of nitrogen-containing compounds from microalgal biomass via pyrolysis. **Bioresource Technology**, 2018.

ZHANG, W. et al. Enantioselective toxic effects of cyproconazole enantiomers against *Chlorella pyrenoidosa*. **Chemosphere**, v. 159, p. 50–57, 2016.

ZHOU, S. et al. Rapid in situ Determination of Heavy Metal Concentrations in Polluted Water via Portable XRF: Using Cu and Pb as Example. **Environmental Pollution**, v. 243, p. 1325–1333, 2018.