

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
CÂMPUS APUCARANA/LONDRINA**

ISADORA INEZ ALVES KOSZMA

**ANÁLISE DE RISCO ECOLÓGICO DA CABECEIRA DE UM
RIBEIRÃO URBANO**

DISSERTAÇÃO

LONDRINA 2018

ISADORA INEZ ALVES KOSZMA

**ANÁLISE DE RISCO ECOLÓGICO DA CABECEIRA DE UM
RIBEIRÃO URBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Câmpus Apucarana e Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira

LONDRINA

2018

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

K86a Koszma, Isadora Inez Alves
Análise de risco ecológico da cabeceira de um Ribeirão urbano / Isadora Inez Alves Koszma. – Londrina: [s.n.], 2018.
111 f. : il.; 30 cm.

Orientadora: Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2018.
Bibliografia: f. 85-97

1. Cambé, Rio, Bacia. 2. Avaliação de Riscos Ambientais. 3. Cádmio - Contaminação. I. Oliveira, Edson Fontes de, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. III. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.

CDD: 628



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

ANÁLISE DE RISCO ECOLÓGICO DA CABECEIRA DE UM RIBEIRÃO URBANO

por

Isadora Inez Alves Koszma

Dissertação de mestrado apresentada no dia 14 de dezembro como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A Candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira – Orientador (UTFPR - Londrina)

Prof. Dr. Erivelto Goulart – Membro Titular (UEM - Maringá)

Prof. Dra. Luciana Fernandes de Oliveira – Membro Titular (UEL - Londrina)

Prof. Dra. Alessandra Furtado da Silva – Membro Titular (UTFPR - Londrina)
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado em Engenharia Ambiental

Dedico este trabalho às futuras gerações,
nós tentamos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao apoio de minha família e amigos. Sair da cidade da gente nunca é fácil.

Agradeço em especial aos meus amigos Nath, Victor, Cris e Renato. Com toda certeza a amizade de vocês foi a melhor coisa que aconteceu durante meu mestrado em Londrina.

A todos os alunos do LETA pela parceria na coleta, sempre uma aventura, e ao seu Zé por nos levar e trazer sempre com segurança.

Aos professores, sem vocês não seria possível; Edson, Alessandra, Claudia, Canesin, Shibatta, Orlando, Adriana e também a todos os professores da UTFPR que nunca relutam em compartilhar conhecimento.

Agradeço também aos alunos Barbara da UTFPR e Tiago da UEL, que me ajudaram nas análises dos resultados químicos e toxicológicos.

RESUMO

KOSZMA, Isadora Inez Alves. **Análise de risco ecológico da cabeceira de um Ribeirão urbano**. 2018. 105 folhas. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2018.

As interações entre os organismos e os componentes abióticos dos ecossistemas aquáticos são complexas, tendendo a um equilíbrio dinâmico natural ao longo do tempo. Quando parte desse equilíbrio é perturbado, ocorre forte reação em cadeia com consequências imprevisíveis para a estrutura ecossistêmica. Para analisar tais consequências de forma sistêmica, levando-se em consideração a necessidade fundamental da gestão de recursos hídricos, aplicou-se o protocolo de Análise de Risco Ecológico (ARE) em um Ribeirão urbano (Ribeirão Cambé) localizado na zona metropolitana de Londrina, Paraná, Brasil. A partir da metodologia em tríade, que visa diminuir a subjetividade das análises, e base de dados primários e secundários (dados limnológicos, de uso da terra, concentração de cádmio, biomarcadores, riqueza e abundância de organismos aquáticos), calculou-se o risco integrado baseado na estimativa dos riscos químicos, toxicológicos e ecológicos para três estações de amostragem ao longo do trecho superior do Ribeirão. Os riscos integrados para as estações do Ribeirão Cambé foram elevados nas duas primeiras, mais próximas da nascente, e baixos na terceira. O risco químico só foi alto na segunda estação do Ribeirão Cambé, o toxicológico foi baixo em todas as estações e o ecológico foi alto em todas elas, principalmente para a composição da ictiofauna, a qual se revelou significativamente distinta daquela observada no riacho de referência deste estudo, localizado em uma Unidade de Conservação Municipal. Baseado nos resultados de cada linha de evidência e em pesquisas anteriores, sugere-se a continuidade do estudo com análises de mais parâmetros. Por fim, a partir da perspectiva do gerenciamento dos riscos analisados recomendam-se medidas de recuperação e restauração da mata ciliar e monitoramento da cabeceira do Ribeirão Cambé.

Palavras-Chave: Análise de risco ecológico, riacho urbano, biomarcador, composição da ictiofauna, contaminação por cádmio.

ABSTRACT

KOSZMA, Isadora Inez Alves. **Ecological risk analysis of the headwaters of an urban stream**. 2018. 105 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental) – Federal Technology University of Paraná. Londrina, 2018.

The interactions between organisms and the abiotic components of aquatic ecosystems are dynamic and complex, tending to a natural balance over time. When part of this equilibrium is disturbed, a strong chain reaction occurs, unpredictable consequences for the ecosystem structure can occur. In order to carry a systemic analyzes of these consequences, considering the fundamental need for the management of hydrological resources, the protocol of Ecological Risk Analysis (ERA) was applied to an urban stream potentially contaminated. This tool has been used in the academic and professional environments. Using triad methodology, seeking to reduce the subjectivity of the analyzes and primary and secondary data bases (limnological data, land use, cadmium concentration, biomarkers, richness and abundance of aquatic organisms), the risk analysis calculated the integrated risk based on the estimation of the chemical, toxicological and ecological risk of three sampling stations. The risks identified for the Cambé stream stations were high in the first two and low in the third one. The chemical risk was only high in the second station of the Cambé stream, the toxicological risk was very low in all stations and the ecological risk was high in all station mainly because of the difference between the ichthyofauna's composition in the Cambé stream and in the reference creek of this study. Based on the results of each line of evidence and in previous researches, the continuity of the study with analyzes of more parameters was suggested. Finally, it was recommended as risk management measures a revegetation program for the ciliary forest and a monitoring of the headwaters of the Cambé stream.

Key words: Ecological risk analysis, urban stream, biomarker, ichthyofauna composition, cadmium contamination.

Lista de Figuras

Figura 1: Fluxograma ilustrando as bases do conceito de risco ecológico	17
Figura 2: Fluxograma básico para avaliação de risco ecológico	20
Figura 3: Fluxograma da Etapa 3 da ARE seguindo os níveis de aperfeiçoamento do método.....	21
Figura 4: Apresentação esquemática da integração de três campos de pesquisa de acordo com a metodologia da tríade	24
Figura 5: Representação gráfica do fluxo de água e dos componentes principais de um riacho de maneira geral.	28
Figura 6: Representação em diagrama da ciclagem de nutrientes e fluxo de energia em riachos.	29
Figura 7: Caminhos que contaminantes e alterações provenientes da urbanização podem percorrer para impactar o ecossistema aquático.	35
Figura 8: Ilustração esquemática do mecanismo de formação de micronúcleos em células mononucleadas.	38
Figura 9: Tipos de anormalidades nucleares encontradas em células submetidas a stress ambiental: A - presença de micronúcleo; B - núcleo em forma de rim; C - núcleo segmentado; e D - núcleo lobulado.	39
Figura 10: Mapa de localização da bacia hidrográfica do Ribeirão Cambé destacando sua área de cabeceira com coordenadas SAD69/UTM zone 22S (EPSG:29192) desenvolvido no programa QGIS 2.18	40
Figura 11: Histograma para região de Londrina em 2017	41
Figura 12: Corte transversal do conjunto pedológico da parte noroeste da bacia do Ribeirão Cambé, seção segundo a direção leste-oeste, feita a partir do trevo rodoviário entre a rodovia Celso Garcia e a avenida Tiradentes.....	42
Figura 13: Mapa de localização das estações de amostragem (P1 Cambé, P2 Cambé, P3 Cambé e Ref) com coordenadas SAD69/UTM zone 22S (EPSG:29192) desenvolvido no programa QGIS 2.18	44
Figura 14: Registro fotográfico da estação de coleta P1 Cambé.....	46
Figura 15: Registro fotográfico da estação de coleta P2 Cambé.....	46
Figura 16: Registro fotográfico da estação de coleta P3 Cambé.....	47
Figura 17: Registro fotográfico da estação de coleta Ref.....	47
Figura 18: Estação de Coleta P1 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando o trevo rodoviário entre a rodovia Celso Garcia e a avenida Tiradentes, a indústria Global Stone Mármore e granitos, posto de combustível e a indústria Selaria Igapó e áreas residenciais.....	48
Figura 19: Estação de Coleta P2 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando o parque de exposições governador Ney Braga e áreas residenciais.	49
Figura 20: Estação de Coleta P3 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando empresas de transporte como a Jamef Transportes, Alfa Transport EIRELI e a Plimor carrier e áreas residenciais.	49
Figura 21: Estação de Coleta Ref com circunferência de raio de 30 m cercado por vegetação, porém com atividade agrícola próxima.	50
Figura 22: Fluxograma do processo de ARE Fonte: baseado em EPA (1998) e JENSEN e MESMAN (2006) construído no programa LUCIDCHART (2018).....	52

Figura 23: Endpoints e parâmetros determinados para cada linha de evidência após primeira etapa da ARE	54
Figura 24: Amostragem de ictiofauna. A - Pesca manual no Ribeirão Cambé, B - Pesca elétrica no Ribeirão Cambé, C - Coleta de sangue pela veia caudal e D – Armazenamento de espécies de interesse em sacolas plásticas esterilizadas.	58
Figura 25: Ilustração da amostragem das métricas da vegetação ripária por meio de sorteio de margem e quadrantes espaçados 3 m.....	60
Figura 26: Procedimento de biometria, separação das espécies por chaves de identificação (A), pesagem (B) e medição de comprimento (C).....	66
Figura 27: Resultados para LEQ para o endpoint de ictiofauna para parâmetro de concentração média e (\pm) desvio padrão de cádmio, destacando em vermelho o limite determinado por RIGG et. al. (2014).....	71
Figura 28: Valores de risco para cada linha de evidência e valor do risco integrado em porcentagem para as três estações de amostragem do Ribeirão Cambé, destacando em vermelho riscos de 50%.....	81
Figura 29: Pós secagem em estufa	99
Figura 30: Trituração da amostra	99
Figura 31: Processo de passagem da amostra seca através malha para a obtenção de mesma granulometria	100
Figura 32: Pós processo de digestão ácida em tubo digestor	100
Figura 33: Amostras em estufa (MED CLAVE Modelo 5)	100
Figura 34: Bloco digestor SOLAB	100
Figura 35: Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em Forno de Grafite (GF AAS) da marca Thermo Scientific, modelo ICE 3000.....	101
Figura 36: Método de esfregasso na lâmina	102
Figura 37: Processo de coloração das lâminas	103
Figura 38: Lâmina com laranja de Acridina	103
Figura 39: Microscópio de fluorescência da marca LEICA modelo DM2500	103
Figura 40: Exemplo de proteção para evitar contaminação do corante tóxico	103
Figura 41 Fotografia de uma das lâminas aalizadas no microscópio de fluorescência em que é possível observar células normais, com micronúcleo, com núcleo em forma de rim e células rompidas devido ao processo de esfregasso.....	104
Figura 42: Embalagem de produto de limpeza dentro do Ribeirão Cambé próximo às nascentes (P1 Cambé).	107
Figura 43: Diversas embalagens e sacolas plásticas na margem do Ribeirão Cambé (P2-Cambé).	107
Figura 44: Embalagens metálicas e sacolas plásticas nas margens do Ribeirão Cambé (P1 Cambé).	107
Figura 45: Container plástico à margem do Ribeirão Cambé (P3-Cambé).	107
Figura 46: Sacola plástica e carcaça de animal morto embaixo da ponte irregular sobre o Ribeirão Cambé (P3-Cambé).	108
Figura 47: Pneu enterrado na margem do Ribeirão Cambé (P3-Cambé).....	108
Figura 48: Erosão da margem do Ribeirão Cambé causado principalmente pelo assentamento de animais (P3-Cambé)	108

Lista de Tabelas

Tabela 1: Características gerais das estações de coleta	45
Tabela 2: Resultados dos riscos para LEQ.....	71
Tabela 3: Resultados para LET para o endpoint de ictiofauna para parâmetro de frequência de micronúcleo e de alterações eritrocíticas	73
Tabela 4: Resultados dos riscos para LET	74
Tabela 5: Números de indivíduos por espécies organizados por Ordem para cada estação de amostragem	74
Tabela 6: Resultados dos parâmetros para LEE para o endpoint de ictiofauna	76
Tabela 7: Resultados dos parâmetros para LEE para o endpoint de qualidade de água.....	78
Tabela 8: Resultados dos parâmetros para LEE para o endpoint de flora (média dos dois planos mensurados) dados em média e desvio padrão.....	79
Tabela 9: Resultados dos riscos para LEE para cada endpoint e do risco integrado para a LEE	80

Lista de Quadros

Quadro 1: Situações e possíveis conclusões de acordo com os resultados, positivos (+) ou negativos (-), das três componentes da Tríade de Qualidade de Sedimentos	25
Quadro 2: Parâmetros escolhidos para cada linha de evidência da ARE para cada endpoint identificado	55
Quadro 3: Métodos de preparação, procedimentos analíticos e referências das análises das amostras dos parâmetros avaliados nas linhas de evidência da ARE	61
Quadro 4: Espécies analisadas nas linhas de evidência química	64
Quadro 5: Processo de escalonamento para cada tipo de resultado de análise nas linhas de evidência deste trabalho	67
Quadro 6: Etapas do processo de cálculo de integração do risco	68
Quadro 7: Valores médios do risco e desvio padrão para a tomada de decisões	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	ANÁLISE DE RISCO ECOLÓGICO EM TRÍADE	15
2.2	ECOLOGIA DO AMBIENTE AQUÁTICO CONTINENTAL LÓTICO	27
2.3	IMPACTOS AMBIENTAIS EM RIACHOS URBANOS	32
2.4	BIOMARCADORES EM ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA	35
3	DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	39
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA BACIA DO RIBEIRÃO CAMBÉ	39
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS ESTAÇÕES DE AMOSTRAGEM	44
4	MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1	MÉTODO DA TRÍADE	51
4.2	PARÂMETROS ANALISADOS BASEADOS NOS ENDPOINTS IDENTIFICADOS	54
4.3	AMOSTRAGEM	57
4.4	PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS	60
4.4.1	Linha de evidência química	63
4.4.2	Linha de evidência toxicológica	64
4.4.3	Linha de evidência ecológica	65
4.5	MÉTODO PARA CÁLCULO E AVALIAÇÃO DOS RISCOS	67
5	RESULTADOS E DESCRIÇÃO DOS RISCOS	71
5.1	RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA QUÍMICA	71
5.2	RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA TOXICOLÓGICA	72
5.3	RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA ECOLÓGICA	74
5.4	RISCO INTEGRADO	81
6	GERENCIAMENTO DO RISCO	82
7	REFERÊNCIAS	85
	APÊNDICES	98
	APÊNDICE 1 - AMOSTRAGEM DA ICTIOFAUNA	98
	APÊNDICE 2 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DA ICTIOFAUNA PARA A LEQ	99
	APÊNDICE 3 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DA ICTIOFAUNA PARA A ANÁLISE DA LET	102
	APÊNDICE 4 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA PARA ANÁLISE DE DBO	105
	APÊNDICE 5 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA PARA ANÁLISE DE FOSFATO	105
	APÊNDICE 6 - ÍNDICES DE BIODIVERSIDADE	106
	APÊNDICE 7 - REGISTRO FOTOGRÁFICOS DE IMPACTOS AMBIENTAIS ÀS MARGENS DO RIBEIRÃO CAMBÉ	107
	APÊNDICE 8 - RESULTADO DAS ANÁLISES DOS DADOS DA LET NO PROGRAMA DE ESTATÍSTICA R STUDIO	109

1 INTRODUÇÃO

Existe um risco de 39,8% de enfrentar-se crise hídrica mundial nos próximos 10 anos (WORLD ECONOMIC FORUM, 2016). Na medida em que a água é recurso natural fundamental à vida, ela tem inquestionável relevância para as políticas públicas mundiais. Destaca-se a necessidade de uma gestão hídrica mais eficaz e assertiva quanto às medidas de mitigação e preservação dos sistemas aquáticos. Para garantir gestão eficiente, são necessárias ferramentas que expressem as reais situações dos ecossistemas aquáticos impactados. Porém, por ser extremamente complexo, considerando suas interrelações bióticas e abióticas, é muito desafiador compreender esse ambiente de forma clara. Assim, existe um esforço de se elaborar ferramentas que possam integrar os resultados de parâmetros de qualidade de água e do ecossistema resultando em visão sistêmica dos problemas.

A Análises de Risco Ecológico (ARE) têm se constituído como importantes ferramentas visando a compreensão dos impactos no ambiente frente a determinados estressores. Esta ferramenta possui diferentes métodos de aplicação e pode ser utilizada nos mais diversos passivos ambientais. A EPA (Agência Americana de Proteção Ambiental) publicou em 1998 um guia de como realizar uma análise de risco (EPA, 1998), gerando um documento que padroniza a metodologia no país (EUA), definindo a ferramenta como o processo de avaliação da probabilidade de impactos ao meio ambiente causados por estressores como contaminação química, chegada de espécies invasoras e mudanças climáticas. Outros países, como Reino Unido (ENVIRONMENT AGENCY, 2008), Austrália (STEERE, 2009) e Canadá (STEPHENSON e SOLOMON, 2007) vêm utilizando métodos próprios para prever a cadeia de impactos que tem potencial de ocorrer a partir de um passivo ambiental.

Na área acadêmica, a ARE é um instrumento de análise ambiental consagrado, que foi muito utilizado na década de 90 como em HUNSAKER *et. al.* (1990), NORTON *et. al.* (1992), SOLOMON *et. al.* (1996) e GIESY *et. al.* (1999) e que continua sendo utilizado no início do século XXI, como NIEMEYER, SILVA e SOUSA (2007), DAGNINO *et. al.* (2008), RIBÉ *et. al.* (2012), REBELO e CALDAS (2014), MONTEIRO *et. al.* (2011), GUTIÉRREZ *et. al.* (2015).

Especificamente em relação aos recursos hídricos, ARE foi utilizada nos trabalhos de SANTOS *et. al.* (2016) e SANCHEZ (2016), por exemplo. Estes autores a realizaram pelo método da tríade, que se baseia na integração matemática de três linhas de evidências complementares: química, toxicológica e ecológica. Analisando e integrando as três, é possível a visão de probabilidade de danos e melhor compreensão do passivo ambiental. Este método específico tem apresentado bons indicativos ecológicos da situação na qual o ambiente aquático se encontra.

Dessa forma, para melhor gerir os recursos hídricos e garantir o seu uso sustentável, os gestores podem utilizar a análise de risco pelo método da tríade, compreendendo melhor a dinâmica do ecossistema aquático. Ao aplicar esta ferramenta, o gestor terá uma visão integrada e, assim, poderá tomar decisões mais assertivas quanto às medidas mitigadoras e de proteção. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo aplicar a Análise de Risco Ecológico (ARE) utilizando o método adaptado da tríade na cabeceira do Ribeirão Cambé, inserido em uma paisagem com diversas fontes de poluição na zona metropolitana de Londrina – Paraná, Brasil, e, a partir dos resultados, traçar as principais medidas de gerenciamento dos riscos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANÁLISE DE RISCO ECOLÓGICO EM TRÍADE

A ARE envolve, como o próprio nome diz, o conceito de risco. Há diversas definições para risco, variando em função da área de conhecimento envolvida. Para CALDAS (1999), um ponto comum entre as definições de risco é a inclusão da noção de probabilidade de ocorrência de um evento. KOLLURU *et. al.* (1996) afirmam que risco é a probabilidade de um acontecimento combinado com a avaliação de uma ou mais consequências. De forma semelhante, THEODORE e DUPONT (2012) definem risco em termos de probabilidade e magnitude das consequências. Os riscos são inerentes à vida e analisá-los faz parte do processo de tomada de decisão (AMARO, 2005). Saber, por exemplo, o risco de um investimento financeiro significa saber a probabilidade da descida do valor de compra na bolsa e o peso desse efeito econômico na riqueza do investidor. Saber o risco de um evento atmosférico extremo significa saber a probabilidade de ocorrência deste evento e a gravidade de suas consequências. Essa informação torna o julgamento da situação mais eficaz e, portanto, mais plausível decidir aplicar ou não o dinheiro, liberar ou não certo volume de água de uma barragem prevendo-se chuvas extremas. Diferentemente de um diagnóstico geral, a análise de risco não avalia apenas um acontecimento e seus efeitos, mas a probabilidade desse acontecimento e a magnitude das consequências, tornando a tomada de decisões um processo mais assertivo.

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 1998), uma das pioneiras em Análise de Risco Ecológico, afirma que ARE avalia a probabilidade de efeitos adversos ocorrerem, ou de já estarem ocorrendo, como resultado à exposição do ecossistema a um ou mais estressores. Dessa forma, na engenharia ambiental, a ARE proporciona a avaliação de um acontecimento em um ecossistema pela probabilidade, devido as características de vulnerabilidade ambiental do local, e suas consequências em relação a magnitude dos danos ecológicos, como perda de biodiversidade, diminuição da produção e perda de serviços ecológicos. Este instrumento de gestão é fundamental nos processos de decisão que ocorrem durante a gerenciamento de locais poluídos, permitindo uma avaliação mais exata dos riscos

reais para os receptores ecológicos potencialmente afetados pelos poluentes, incluindo a população humana (SOUSA, 2005). De acordo com a EPA (1998) esta ferramenta auxilia a tomada de decisões em diversos processos como:

- Pesquisar diferentes alternativas ou determinar até que ponto os estressores devem ser reduzidos para alcançar um determinado resultado, a partir dos impactos ecológicos analisados na ARE em função da exposição aos estressores;
- Concentrar a pesquisa nas áreas que levarão a reduções na incerteza, já que a ARE aponta para incertezas nos resultados;
- Priorizar medidas de controle, pois a ARE fornece uma base para comparar, classificar e priorizar riscos, podendo essa informação também ser usada em análises de custo-benefício e custo-efetividade, possibilitando melhor interpretação dos efeitos das alternativas de manejo.

A Figura 1 sintetiza a definição de risco ecológico, definido a partir da determinação da probabilidade de um evento que causa dano ocorrer e da magnitude do dano provocado. Na ARE, a probabilidade de uma contaminação está ligada à capacidade de contaminação do agente poluidor e as condições de exposição dos receptores. Quanto maior a toxicidade de um contaminante e a exposição do receptor, maior a probabilidade de contaminação. De acordo com VIANA (2012), se um contaminante está em um invólucro inviolável, ou não existe nenhum receptor para sofrer danos, a probabilidade de contaminação é nula. A magnitude do dano pode ser determinada pelo distancimento do equilíbrio ambiental provocado, pois dano ambiental, segundo EPA (1998), é definido como toda e qualquer desestabilização do ecossistema, redução da biodiversidade, perda de espécies-chave e redução ou eliminação de espécies ameaçadas de extinção.

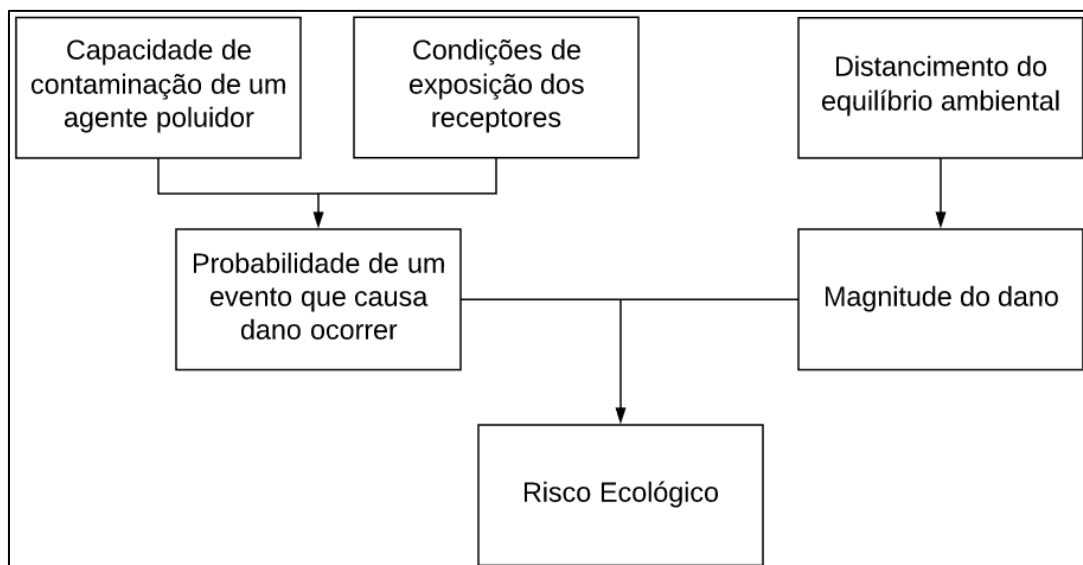


Figura 1: Fluxograma ilustrando as bases do conceito de risco ecológico

Fonte: Autoria própria

Na primeira Conferência Mundial sobre o Meio Ambiente das Nações Unidas, ocorrida na Suécia em 1972, a questão dos impactos negativos ao meio ambiente provenientes das atividades humanas conduziu à criação do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA), no qual é dada grande ênfase à questão da gestão de riscos ecológicos (SOUZA *et. al.*, 2012). A partir de então, muitos países dedicaram-se a elaborar e aplicar métodos de estimativa e gerenciamento de risco ecológico. A ARE é uma ferramenta que, apesar de nova, já é utilizada em diversos países. A EPA publicou em 1998 um guia para a elaboração de ARE gerando um documento que padronizou a metodologia nos Estados Unidos (EPA, 1998). A agência ambiental do Reino Unido também desenvolveu o modelo de ARE para o país (ASHTON *et. al.*, 2008), assim como Austrália (BARTOLO, BAYLISS e VAN DAM, 2008) e Canadá (MINISTRY OF ENVIRONMENT, 2000). No Brasil, a ARE é prevista como estudo ambiental na Resolução CONAMA 237/97 (BRASIL, 1997), porém a sua metodologia não é padronizada nacionalmente, como já é o Estudo de Impacto Ambiental e o Relatório de Impacto Ambiental (EIA/RIMA). De acordo com NIEMEYER, DA SILVA e SOUSA (2017), a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) iniciou o debate sobre a elaboração de metodologia da ARE em 2014. Em 2017 o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) lançou o manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos especificamente para abelhas (IBAMA, 2017), o qual possui estrutura semelhante a apresentada em EPA (1998), porém com metodologia de cálculo de risco e

gerenciamento de risco específicos.

Na área acadêmica, a ARE também é vastamente utilizada. Desde a década de 90, como por exemplo os trabalhos de HUNSAKER *et. al.* (1990), que afirmaram que a ARE é uma ferramenta que estima e compara os impactos de danos ambientais de maneira quantitativa e sistemática, levando em conta a escala de abrangência do impacto ambiental; SOLOMON *et. al.* (1996), que utilizaram a ARE para avaliar o risco de contaminação de pesticidas em corpos d'água superficiais norte-americanos; e NORTON *et. al.* (1992), que descreveram os elementos básicos da ARE com o objetivo de sistematizar a ferramenta. Até trabalhos mais recentes, como RABELO e CALDAS (2014), que revisaram o processo de ARE especificamente para agrotóxicos no Brasil e concluíram que apesar do Brasil possuir leis que prevêm a ARE no processo de registro de agrotóxicos, até o ano de 2014, tal ferramenta não foi implementada sistematicamente pelo IBAMA; XU *et. al.* (2016), que analisaram o risco de contaminação de um lago na Califórnia, e ressaltaram no fim a necessidade de dados de bioensaios para utilizar ferramentas de ARE baseadas na tríade; e YAN *et. al.* (2018), que utilizaram a ARE como indicador final para avaliar o efeito ecológico negativo do acúmulo de poluentes nas águas superficiais em Xiamen, China.

Uma das principais dificuldades das metodologias elaboradas para ARE é a eliminação da subjetividade. De acordo com AQUINO, PALETTA e ALMEIDA (2017), a subjetividade é intrínseca da caracterização do risco, sendo responsabilidade dos especialistas fazerem observações empíricas e objetivas acerca dos riscos, sempre observando os limites impostos por essa subjetividade inerente. Os órgãos ambientais têm estimulado a realização da ARE, sobretudo as análises quantitativas, que mostram, em termos numéricos (probabilísticos), os riscos ambientais, retirando um pouco o caráter subjetivo que existe na análise qualitativa (SOUZA *et. al.*, 2012). Outro desafio da ARE é quanto a seleção de um local de referência. Possuir dados de um ecossistema de referência, ou seja, sem contaminação, é fundamental para a estimar a magnitude do risco ecológico (EPA, 1998; JENSEN e MESMAN, 2006), porém está cada vez mais difícil encontrar ambientes com as características necessárias para esta função. Além disso, o riacho de referência deve ser o mais semelhante possível ao riacho avaliado na ARE, pois a diferença dos parâmetros pode estar mais ligada a estrutura do riacho do que aos parâmetros de qualidade ambiental, como destacado por ZENI e CASATTI (2014). EPA (1998) destaca a necessidade de uma maior discussão sobre a seleção de locais de referência.

JENSEN e MESMAN (2006) elaboraram um método para ARE, segundo os quais há dois principais tipos de análise de risco ecológico: o preventivo e o retrospectivo. O primeiro avalia os possíveis danos ambientais de uma contaminação ocorrer, ou seja, é realizado anteriormente à descarga de substâncias químicas ou à introdução de algum estressor. Já o segundo tipo, possui um caráter de diagnóstico, pois é realizado após a contaminação ambiental já ter ocorrido, analisando os riscos que o ecossistema já está lidando. Para NIEMEYER, DA SILVA e SOUSA (2007), que conduziram experimento em Santo Amaro da Purificação - Bahia, a ARE retrospectiva visa determinar a probabilidade de efeitos adversos no ambiente como resultado da exposição a um ou mais agentes perturbadores de contaminação histórica.

A ARE possui quatro principais etapas: formulação do problema, análise, caracterização e gerenciamento dos riscos (EPA, 1998; JENSEN e MESMAN, 2006). Embora as etapas da ARE sejam apresentadas em sequência, elas são frequentemente interativas (EPA, 1998). JENSEN e MESMAN (2006) organizam a ARE da seguinte forma (Figura 2 e 3):

- Estágio I. Caracterização da área e descrição do uso da terra.
- Estágio II. Determinação de aspectos ecológicos.
- Estágio III. Avaliação específica do local (performance da tríade):
 - Nível 1: Triagem simples
 - Nível 2: Rastreamento refinado
 - Nível 3: Avaliação detalhada
 - Nível 4: Avaliação final



Figura 2: Fluxograma básico para ARE.
Fonte: Adaptado de JENSEN e MESMAN (2006)



Figura 3: Fluxograma da ARE seguindo os níveis de aperfeiçoamento do método. O Estágio III da ARE proposta pelos autores possui 4 níveis de aprofundamento das análises a depender do resultado anterior ser aceitável ou não.

Fonte: Adaptado de JENSEN e MESMAN (2006)

No Estágio I da ARE, o propósito da avaliação deve ser determinado assim como o futuro uso da área analisado, no Estágio II o problema descrito e o plano para analisar o risco esquematizado (EPA, 1998). O plano de análise, segundo REBELO e CALDAS (2014), deve conter a seleção dos *endpoints*, dos parâmetros a serem analisados e da estação de referência. Para este trabalho adota-se a seguinte definição: *Endpoints* são definidos como uma entidade ecológica (uma espécie, um grupo funcional de espécies, uma comunidade) ou atributos (característica da entidade que deve ser protegido e está potencialmente em risco) de um valor ambiental que se deseja proteger (REBELO e CALDAS, 2014). A estação de referência deve ser escolhida após a caracterização da área de estudo, pois os ecossistemas comparados na ARE devem ser semelhantes (DAGNINO *et. al.*, 2008).

A seleção dos *endpoints* e dos parâmetros é complexa, pois, eles devem fornecer a resposta para determinar o risco ecológico de forma eficaz, ou seja, eles devem refletir os riscos aos indivíduos, às populações e às interações e interrelações bióticas e abióticas do ecossistema. VAN DEN BRINK *et. al.* (2011) afirmam que a ARE descreve os processos que determinam o nível de exposição a indivíduos e as consequências dessa exposição em efeitos diretos, indiretos e padrões de recuperação, além de como os efeitos nos indivíduos se propagam para os níveis populacional, comunitário e dos ecossistemas. NIEMEYER, SILVA e SOUSA (2007) destacam, por exemplo, a necessidade dos bioensaios na ARE em áreas contaminadas, visto a importância da interação entre os contaminantes e as propriedades do solo, ou água, os efeitos da mistura de contaminantes e, ainda, o efeito da biodisponibilidade, na avaliação ecologicamente relevante dos efeitos derivados da exposição.

No Estágio III da ARE são realizadas as análises. Os dados primários são gerados com a coleta de amostras e análises em laboratório. Estes dados devem ser verificados, pois se os resultados não forem satisfatórios, ou seja, se houver algum problema com as amostras ou resultado com alto grau de incerteza, outra amostragem deve ser conduzida (EPA, 1998). Deve-se determinar os pontos fortes e as limitações destes dados sobre a exposição e aos receptores do ecossistema (EPA, 1998). Algo identificado durante esta fase pode levar a uma reavaliação da formulação do problema (EPA, 1998).

Depois do Estágio III da ARE, tem-se a caracterização de risco, que contém a explanação das relações entre estressores e efeitos nas entidades ecológicas existentes ou previstos (EPA, 1998). Os avaliadores explanam sobre os riscos ecológicos encontrados na área de estudo, indicando o grau de confiança nas estimativas e citando as evidências que fundamentam tais estimativas a fim de construir o cenário de risco (EPA, 1998). O produto desta etapa é uma descrição dos riscos que contém uma interpretação dos resultados, os pontos fortes e as limitações das análises (EPA, 1998). Na caracterização do risco realizada por RIGG *et. al.* (2014), por exemplo, dados sobre a comunidade, reprodução, análises químicas de tecido, análises toxicológicas e análises de qualidade da água em peixes foram usadas como evidências para estimar a magnitude e a probabilidade de potenciais efeitos adversos nos peixes do lago Watts Bar, nos Estados Unidos, causados pela exposição às cinzas de carvão de um bairro industrial próximo. Os autores destacaram quatro principais limitações: 1) conjuntos de dados limitados para análise de tecidos e química da superfície da água; 2) biomarcadores toxicológicos não específicos do local; 3) uso de organismos sensíveis criados em laboratório para o estudo de exposição; 4) interações entre os contaminantes que não podem ser previstas com segurança.

Por fim, depois da caracterização do risco, pode-se desenvolver o gerenciamento do risco. Os gestores usam os resultados da avaliação de risco, juntamente com outros fatores, por exemplo, preocupações econômicas ou jurídicas, na tomada de decisões (EPA, 1998). Estas decisões devem levar em conta o objetivo que os gestores têm para a área, por exemplo, JENSEN e MESMAN (2006) apresentam um estudo de caso em que um risco baixo é aceitável para a agricultura, porém não é aceitável para a conservação ambiental. O produto desta etapa é o plano de gerenciamento e o plano de monitoramento (EPA, 1998; JENSEN e MESMAN, 2006). O gerenciamento de risco engloba todas as ações tomadas para eliminar ou reduzir os riscos identificados a um nível aceitável, levando em consideração alguns fatores, como questões sociais, econômicas, políticas ou legais (REBELO e CALDAS, 2014). Além do uso apropriado, a ARE fornece informação sobre o que precisa ser feito para diminuição do risco. No trabalho de NIEMEYER *et. al.* (2015), os autores aplicaram a ARE em uma área industrial abandonada em Santo Amaro da Purificação, Bahia, e o resultado permitiu que eles sugerissem ações de remediação em locais específicos, como melhor encapsulamento dos depósitos de rejeitos e a recuperação

da vegetação na área de fundição da antiga planta da indústria.

O método de ARE de JENSEN e MESMAN (2006) possui um diferencial no Estágio III em comparação com outros métodos. As análises dos dados são realizadas pelo método da tríade (Figura 4). Esta abordagem foi proposta anteriormente por CHAPMAN (1990) para análise de contaminação em sedimentos. O autor nomeou o método de Tríade de Qualidade de Sedimentos, e explica que consiste em três componentes: a química dos sedimentos, que mede a contaminação; os bioensaios de sedimentos, que mede a toxicidade; e parâmetros *in situ*, que medem a alteração, por exemplo, da estrutura da comunidade bentônica. A informação fornecida por componente é única e complementar e é necessária porque nenhum componente sozinho fornece informações sistêmicas (CHAPMAN, 1990). Por exemplo, a química do sedimento informa sobre a concentração de contaminantes, mas não fornece informação sobre seus efeitos biológicos, testes de toxicidades podem dar esta informação, mas como são feitos em laboratório não fornecem informação sobre as condições reais do ambiente, que só é fornecida com análises de parâmetros medidos *in situ* (CHAPMAN, 1990). Para interpretar o resultado final o autor declarou oito cenários que correspondem a todas as possibilidades de combinação das três componentes sendo o resultado da análise positivo ou negativo (Quadro 1).



Figura 4: Apresentação esquemática da integração de três campos de pesquisa de acordo com a metodologia da tríade

Fonte: Adaptado de JENSEN e MESMAN (2006)

Quadro 1: Situações e possíveis conclusões de acordo com os resultados, positivos (+) ou negativos (-), das três componentes da Tríade de Qualidade de Sedimentos

Situação	Contaminação	Toxicidade	Alteração	Possível conclusão
1	+	+	+	Forte evidência de degradação induzida pela poluição
2	-	-	-	Forte evidência de que não há degradação induzida pela poluição
3	+	-	-	Contaminantes não são biodisponíveis
4	-	+	-	Substâncias químicas não mensuradas existem com potencial para causar degradação
5	-	-	+	Alteração não é devido a produtos químicos tóxicos
6	+	+	-	Produtos químicos tóxicos estão estressando o sistema
7	-	+	+	Produtos químicos tóxicos não medidos estão causando degradação
8	+	-	+	Os produtos químicos não são biodisponíveis ou a alteração não é devida a produtos químicos tóxicos

Fonte: Adaptado de CHAPMAN (1990)

Tal método foi utilizado por SANTOS *et. al.* (2016) para avaliar o risco da contaminação em rios da França para a ictiofauna. Os autores avaliaram a concentração de diversos contaminantes na água como parte da componente química da tríade. Na componente toxicológica eles utilizaram uma série de biomarcadores em peixes e na terceira componente, os autores utilizaram sete parâmetros que refletem o nível da degradação na assembleia de peixes: número total de espécies, densidade total de indivíduos, número de indivíduos de espécies invertívoras, número de reofílicos, número de espécies litofílicas, número de espécies tolerantes e número de espécies onívoras. JENSEN e MESMAN (2006) adaptaram o método de CHAPMAN (1990) para contaminação de solos e retiraram o peso qualitativo da abordagem, desenvolvendo um tratamento dos dados mais quantitativo. Os autores escalam as três componentes como sendo três linhas de evidência: linha de evidência química (LEQ), linha de evidência toxicológica (LET) e linha de evidência ecológica (LEE). Definiram também os possíveis parâmetros para cada uma delas, sendo:

- Linha de evidência química (LEQ): a concentração de contaminantes no meio ambiente (totais e biodisponíveis), acumulado na biota, ou modelados a partir de cadeias alimentares;
- Linha de evidência toxicológica (LET): bioensaios com espécies coletadas no ambiente estudado ou cultivadas em laboratório, ou biomarcadores.
- Linha de evidência ecológica (LEE): observações ecológicas como densidade de vegetação, microfauna, biodiversidade, matéria orgânica, nutrientes.

Cada linha de evidência tem seu próprio método de análise e o risco é calculado para cada uma, sendo em seguida, integrados no risco final, que resulta em um número de 0 a 1, sendo 0, baixo risco, e 1, risco máximo (JENSEN e MESMAN, 2006). No trabalho de RIBÉ *et. al.* (2012), que conduziram o método de JENSEN e MESMAN (2006) em uma área industrial, os autores avaliaram na LEQ a concentração de contaminantes no solo, na LET conduziram testes de toxicidade crônica utilizando um microcrustáceo (*Heterocypris incongruens*) e na LEE realizaram testes de nitrificação e mineralização de carbono. Apesar do método de JENSEN e MESMAN (2006) focar em contaminação de solos, o mesmo pode ser adaptado para ambientes aquáticos. CRÉVECOEU *et. al.* (2011), por exemplo, utilizaram este método para avaliar o risco ecológico em águas subterrâneas na Bélgica. Os autores utilizaram concentração de metais, poluentes orgânicos e hidrocarbonetos clorados na água para compor a LEQ; testes ecotoxicológicos como mortalidade de *Brachionus calyciflorus*, inibição de reprodução de *B. calyciflorus* e mortalidade de *Gammarus pulex* para compor a LET; e parâmetros de condutividade e pH da água para compor a LEE.

Além disso, JENSEN e MESMAN (2006) separaram o processo da ARE em quatro níveis, afim de aumentar o custo benefício do processo (Figura 3). Os níveis aumentam a depender da profundidade dos testes e análises requeridas. O primeiro nível é a triagem simples, o segundo a triagem refinada, o terceiro a avaliação detalhada e o quarto a avaliação final (JENSEN e MESMAN, 2006). A ideia principal é utilizar métodos de análise na tríade mais baratos e simples, e de acordo com o resultado, verificar se testes mais caros e complexos serão necessários, ou se os riscos já foram aferidos de forma eficiente neste nível e não serão necessários mais testes. No estudo de NIEMEYER, DA SILVA e SOUSA (2017) foram necessários dois

níveis para realizar a ARE em um local contaminado por metais em Santo Amaro da Purificação, Bahia. Já no estudo de GUTIÉRREZ *et. al.* (2015), foram necessários três níveis para realizar a ARE em um aterro sanitário no País Basco, Espanha.

Embora uma tendência geral de respostas biológicas seja esperada em áreas contaminadas, a relação entre fontes, exposição e efeitos em organismos é complexa e frequentemente específica para um local particular, para um conjunto de condições ambientais e para um organismo receptor específico (NIEMEYER, DA SILVA e SOUSA, 2017). Por isso a realização da ARE para esse tipo de passivo ambiental é importante. O método da tríade apresentado é eficaz na avaliação dos impactos ambientais nos ecossistemas, pois avalia os riscos levando em consideração as interrelações ambientais que fazem o ecossistema tão enigmático. É um método multidisciplinar e sistêmico. As linhas de evidência são consideradas complementares e permitem tirar conclusões sobre os impactos ambientais dos poluentes de forma mais eficaz (SANTOS *et. al.*, 2016), pois diminuem a incerteza na tomada de decisão (RIBÉ *et. al.*, 2012; SANTOS *et. al.*, 2016).

2.2 ECOLOGIA DO AMBIENTE AQUÁTICO CONTINENTAL LÓTICO

Os riachos são ambientes com propriedades e características físicas particulares que criam uma série de nichos ecológicos únicos (GOLDMAN e HORNE, 1983). Estes sistemas fazem parte das bacias hidrográficas, que, de acordo com MOURA e HENRY-SILVA (2015), estão sendo usados como importantes modelos para entender o funcionamento dos ecossistemas aquáticos de maneira sistêmica. As microbacias dos riachos apresentam sensibilidade aos efeitos das chuvas e do uso do solo no entorno (LIMA e ZAKIA, 2009). Para avaliar esta vulnerabilidade, é preciso entender a ecologia desses riachos, incluindo a diversidade de canais e tipos de habitats, a biota, o processamento e o transporte de materiais da nascente até a foz, tais como a ciclagem de carbono, nitrogênio e fósforo, além do fluxo de energia através de cadeias alimentares (ALLAN e CASTILLO, 2007).

De acordo com GOLDMAN e HORNE (1983), os riachos são caminhos da água corrente divididos entre piscinas (*pools*) e cascatas (*riffles*), as primeiras caracterizadas por um substrato mais argiloso, corrente de água mais lenta e biota menos densa, e as segundas caracterizadas por um substrato mais rochoso,

escoamento turbulento e onde mais se concentram os macroinvertebrados bentônicos (Figura 5). ALLAN e CASTILLO (2007) afirmam que esses ambientes (*pools* e *riffles*) formam habitats no leito do riacho e nas margens, e o acúmulo de folhas ou cascalhos criam microhabitats para a fauna e a flora aquáticas. No trabalho de ZENI e CASATTI (2014), por exemplo, a estrutura física dos riachos, mesmo com condições ambientais alteradas, teve um papel modulador na estrutura trófica dos peixes, influenciando a oferta de recursos alóctones (como frutas e insetos), na heterogeneidade do habitat do canal (como ramos, troncos de árvores e folhas) e na disponibilidade de luz. Portanto, a diversidade de canais está relacionada com a estrutura física do riacho e a topografia da região, e influencia o ecossistema a ser estabelecido no riacho, sendo necessário que os sistemas sejam semelhantes em relação a características físicas para a comparação assertiva entre eles.

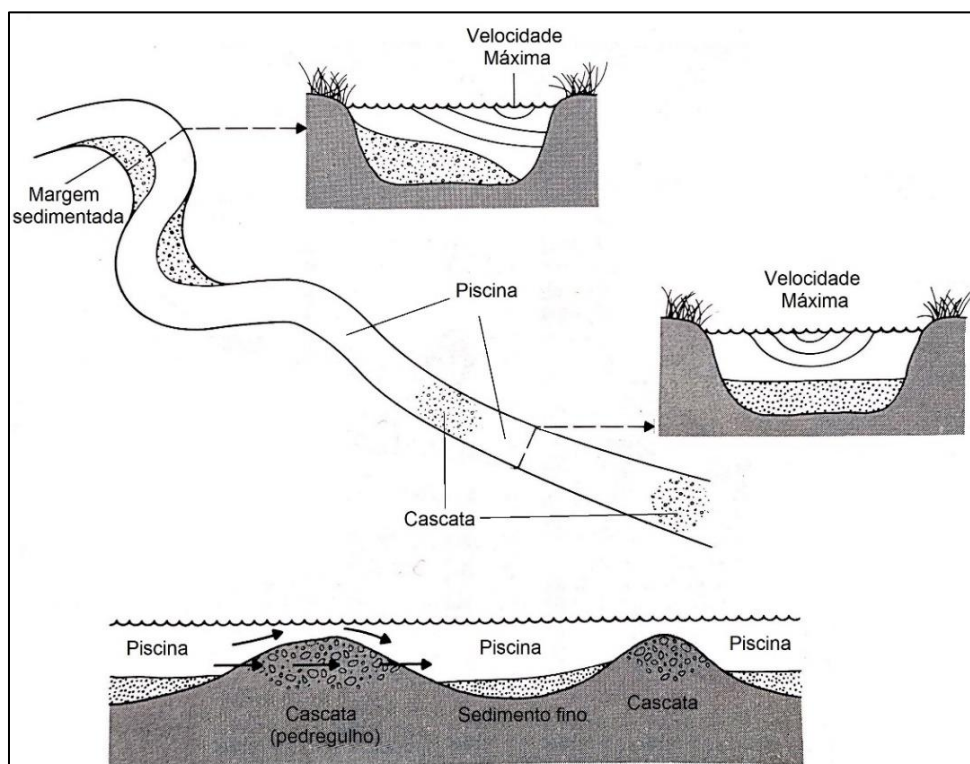


Figura 5: Representação gráfica do fluxo de água e dos componentes principais de um riacho de maneira geral.

Fonte: adaptado de GOLDMAN e HORNE (1983).

A hidrologia inclui conceitos como vazão, velocidade, tipo de escoamento, profundidade e propriedades térmicas (GORDON *et. al.*, 2004), que influenciam, por exemplo, a quantidade de material em suspensão que é transportado pelo riacho, moldando os diversos tipos de nichos ecológicos, com toda a biota sendo influenciada

pela corrente unidirecional (GOLDMAN e HORNE, 1983). Variações hidrológicas causam efeitos severos na dinâmica do fluxo de energia e nas teias alimentares que podem levar ao colapso ou a impactos de longo alcance no funcionamento de todo o ecossistema do rio (LEDGER *et. al.*, 2013). De acordo com FALASCO *et. al.* (2018), que estudaram os efeitos de alterações hidrológicas na comunidade de diatomáceas, mudanças como a lentificação dos riachos, devido a construção de barragens, podem levar à homogeneização das comunidades biológicas. A homogeneização destas aumenta a vulnerabilidade a mudanças ambientais (por exemplo, secas extremas ou poluição), diminui a resiliência e/ou resistência após algum distúrbio e causa dano às funções ou serviços ecológicos (por exemplo, ciclagem de nutrientes e produção de peixes, respectivamente) (OLDEN *et. al.*, 2004).

Segundo ESTEVES (2011), a biota dos rios é adaptada a algumas características particulares deste ambiente, como alta capacidade de solubilização de compostos químicos, distribuição desigual de luz, nutrientes, temperatura e gases devido aos gradientes verticais e horizontais e à alta densidade e viscosidade da água. Além dessa interação com o meio físico, os ecossistemas aquáticos lóticos também possuem interrelações peculiares interespecíficas, como mostra a Figura 6.

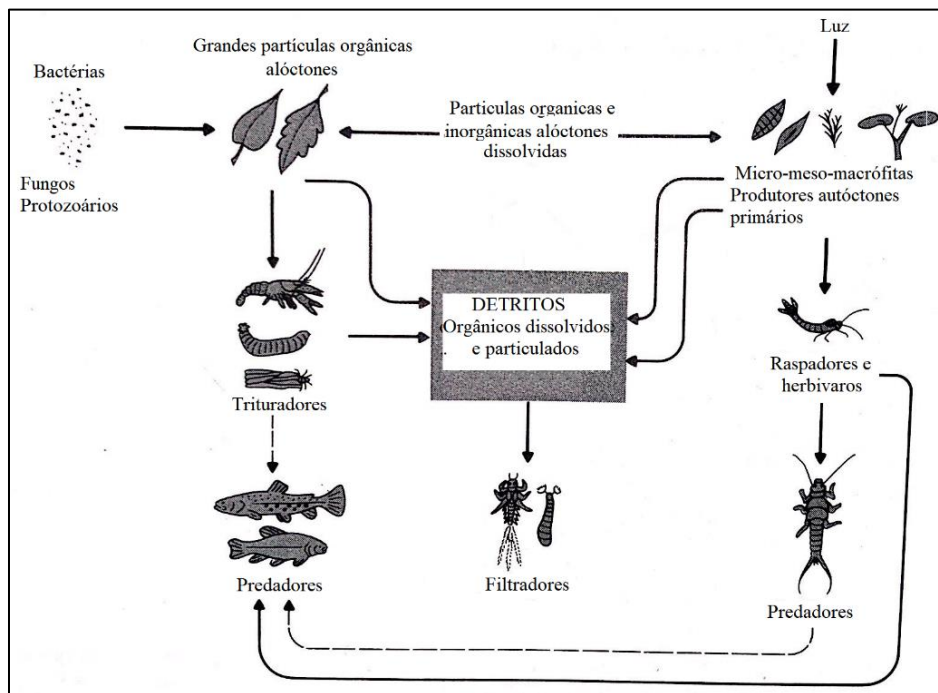


Figura 6: Representação em diagrama da ciclagem de nutrientes e fluxo de energia em riachos.
Fonte: adaptado de GOLDMAN e HORNE (1983).

Até onde a luz consegue penetrar, a produção primária de algas, plantas aquáticas e musgos compõem a base da cadeia alimentar, ao passo que, os detritos vindos do escoamento superficial e das margens dos riachos são consumidos por organismos detritívoros (GOLDMAN e HORNE, 1983). Diferentemente de lagos, os invertebrados bentônicos, principalmente larvas de insetos, constituem a massa da fauna de invertebrados (GOLDMAN e HORNE, 1983), porém ainda inclui-se neste grupo crustáceos e moluscos (ALLAN e CASTILLO, 2007). Herbívoros e raspadores consomem algas na superfície do substrato e em pedras, enquanto os trituradores consomem folhas que caem no riacho enriquecidas com micróbios, os predadores consomem outros animais, e os filtradores se alimentam de partículas orgânicas finas originadas do processo de decomposição (ALLAN e CASTILLO, 2007).

A ictiofauna é o conjunto das espécies de peixes que habita um riacho. Estas populações estão localizadas mais acima na cadeia alimentar e, por isso, refletem vários dos fatores ecológicos apresentados anteriormente. Por exemplo, GUIMARÃES, MENEZES e PERET (2010) observaram em um riacho costeiro de floresta atlântica no Paraná, uma relação direta entre o tipo de substrato e a composição da ictiofauna. Segundo os autores, em regiões onde a granulometria do substrato era maior, prevaleceram peixes da ordem Siluriformes e em regiões onde o sedimento apresentava menor granulometria ocorreram espécies de Characiformes. No estudo de GONÇALVES e BRAGA (2012), a ocorrência de espécies de Characidae (*Astyanax ribeirae*, *Mimagoniates microlepis*, *Hollandichthys multifasciatus*) e Poeciliidae (*Phalloceros cf. reisi*) esteve relacionada à presença de poças ou áreas marginais com água de fluxo mais lento, enquanto de Crenuchidae (*Characidium cf. pterostictum*, *C. cf. schubarti*, *C. lauroi*) e Loricariidae (*Schizolecis guntheri* e *Kronichthys heylandi*) estiveram relacionadas às corredeiras.

Além disso, o estudo da ictiofauna pode indicar a integridade ambiental de ecossistema aquático. LYONS *et. al.* (1995) apresentaram um índice para verificar a qualidade biológica em riacho e concluíram que ambientes com boas condições de integridade possuem espécies de peixes nativas com várias classes de tamanhos e a estrutura trófica balanceada. OLIVEIRA e BENNEMANN (2005), em seu estudo sobre a relação entre os recursos alimentares da ictiofauna e as interferências antrópicas no Ribeirão Cambé, afirmam que a alta dominância do detrito como principal recurso alimentar utilizado pelas espécies difere do que é geralmente encontrado em riachos preservados e pode estar relacionada às alterações ambientais.

Em qualquer ecossistema, a ciclagem de nutrientes se dá a partir da absorção de algum nutriente, na fase inorgânica dissolvida com a sua subsequente incorporação ao tecido biológico (ALLAN e CASTILLO, 2007). Em riachos, a ciclagem está intrinsicamente ligada aos fluxos hidrológicos, geológicos (processo de erosão e sedimentação) e biológicos (entrada de matéria orgânica alóctone oriunda da vegetação ripária) (MITRE, 2016). Diferentemente de lagos, a ciclagem de nutrientes em riachos é normalmente medida em comprimento de espirais, que é a distância a jusante pela qual uma molécula de nutriente viaja enquanto circula de uma forma dissolvida para uma forma particulada e de volta para uma forma dissolvida (ESSINGTON e CARPENTER, 2000). Riachos com fluxo hiporréico (subsuperfície) extensivo têm comprimentos de captação mais curtos e, portanto, têm taxas mais altas de ciclos de nutrientes (ESSINGTON e CARPENTER, 2000). O principal processo envolvido na ciclagem de nutrientes em riachos é a decomposição, visto que o processo de fotossíntese é discreto. A decomposição do material alóctone é possível por causa de processos como a lixiviação, abrasão e fragmentação do detrito pela ação da água, que reduzem o tamanho das partículas, e de processos de transformação química (BEGON, TOWNSEND e HARPER, 2007).

A composição química dos riachos varia mais que em ambientes lênticos, tendo uma descarga maior em períodos de chuva, pois estas trazem, pelo escoamento superficial, nutrientes como fósforo e ferro, que estão associados ao material particulado, e nitrato e sílica (GOLDMAN e HORNE, 1983). Nas águas doces, cálcio, magnésio e carbonato são os íons mais abundantes, mas também estão presentes compostos de sódio, potássio, fósforo, ferro, enxofre e silício (COSTA *et. al.*, 2008). Além de componentes conservativos, as águas também são constituídas por componentes não conservativos, os quais incluem: gases dissolvidos como O₂, CO₂ e N₂; nutrientes como fosfato e nitrato; compostos orgânicos dissolvidos como aminoácidos e substâncias húmicas; elementos traços como cobre, zinco, cromo, molibdênio, vanádio, manganês, estanho, ferro, níquel, cobalto e selênio e, materiais particulados como areia, argila, colóides, tecidos não vivos (COSTA *et. al.*, 2008).

Além dos fatores descritos acima, as características do entorno dos riachos são fundamentais para a dinâmica e a estrutura dos ecossistemas aquáticos. A produtividade dos riachos depende, de maneira geral, dos detritos ao longo de suas margens, portanto, não podem ser considerados de forma independente das atividades ao redor (GOLDMAN e HORNE, 1983). Como já foi explicitado, a vegetação

riparia contribui para a entrada de materiais alóctones, tão importantes para o ciclo biológico, para o estabelecimento de habitats e para o balanço da produção primária. Segundo VOGEL, ZAWADZKI e METRI (2009), a vegetação ripária é importante para a conservação do ecossistema aquático, pois desempenha ação na filtragem de poluentes, impedindo-os de chegar aos cursos d'água formando uma barreira, também chamada de “zona tampão”, além de ser habitat, possuir fontes de alimento para a fauna aquática e terrestre e de servir como corredor ecológico, facilitando o trânsito de animais e a troca genética, contribuindo, assim, para a manutenção da biodiversidade.

Os serviços ecológicos que os ecossistemas dos riachos provêm incluem o fornecimento de água de qualidade (CORDEIRO *et. al.*, 2016), a regularização do microclima (MOGGRIDGE, HILL e WOOD, 2014), promoção da migração de espécies e da conectividade entre habitats isolados e populações (MOGGRIDGE, HILL e WOOD, 2014).

2.3 IMPACTOS AMBIENTAIS EM RIACHOS URBANOS

Historicamente, os centros urbanos se estabeleceram próximos a corpos de água, devido aos serviços ecossistêmicos que eles fornecem à sociedade, como o abastecimento de água, alimento, energia e transporte (MOGGRIDGE, HILL e WOOD, 2014). As sociedades se desenvolveram, em maioria, próximas a rios, portanto os riachos urbanos, muito comuns no mundo, são aqueles em que a microbacia é inteiramente ou quase totalmente inserida em ambiente urbano. O Ribeirão Cambé estudado no presente trabalho é um bom exemplo.

Os riachos urbanos comumente sofrem pressão das atividades antrópicas, como lançamento de efluentes e resíduos sólidos, desmatamento da mata ciliar, canalização e captação de água. Nos dias de hoje, é raríssimo encontrar riachos urbanos que ainda desempenhem seus papéis ecológicos integralmente. HUGHES *et. al.* (2014) citam a denominada “síndrome do fluxo urbano” em que estes apresentam sintomas típicos como: fluxo bastante variado, qualidade da água degradada, canais homogêneos, riqueza biológica baixa e dominância de espécies tolerantes a perturbações. FRANCIS (2014) afirma que os riachos urbanos podem ser considerados ecossistemas híbridos, que sofreram mudanças bióticas e abióticas tão

substanciais que se torna extremamente problemático qualquer processo para retornar ao estado funcional original.

O estabelecimento das cidades inicia-se com processo de desmatamento. A retirada da vegetação ripária acarreta uma série de efeitos no riacho como o aumento da entrada de material lixiviado, erosão da margem, assoreamento, alteração dos processos biológicos devido a maior entrada de radiação solar, diminuição da entrada de material alóctone proveniente das folhas e galhos das árvores e redução da biodiversidade. COUCEIRO *et. al.* (2007), em seu estudo sobre os efeitos do desmatamento e da descarga de esgotos sobre os macroinvertebrados aquáticos em riachos urbanos em Manaus, concluíram que o desflorestamento teve correlação negativa significativa com a profundidade dos riachos e com a riqueza de espécies de macroinvertebrados. Os resultados de IWATA, NAKANO e INOUE (2003) revelaram fortes efeitos contínuos do desmatamento ciliar ocorrido no passado nos habitats de riachos da Indonésia, como a diminuição da riqueza de organismos bentônicos devido a alteração física de seus habitats. GHOLAMI (2013), que utilizou modelos matemáticos e imagens de satélites para avaliar a erosão na bacia de Kasiliana no Irã, associou o aumento do potencial de geração de escoamento superficial e descarga de sedimentos ao desmatamento da mata ciliar nos últimos quarenta anos. BOJSEN e BARRIGA (2002) afirmam que com o desmatamento e, conseqüentemente, a redução de recursos alimentares e habitats disponíveis, os riachos tendem a apresentar dominância de espécies tolerantes, diminuindo a biodiversidade do ecossistema. A proteção da mata ciliar é prevista no Brasil pela LEI Nº 12.651, de 25 de maio de 2012 (BRASIL, 2012), que prevê proteção permanente de 50 m de raio de mata para nascentes, 30 m para os cursos d'água de menos de 10 m de largura, 50 m para os cursos d'água que tenham entre 10 e 50 m de largura e assim por diante.

Outro processo que acompanha o início da urbanização é a construção de estradas, casas e calçamento que impermeabilizam a área de drenagem dos riachos. Esta impermeabilização altera a hidrologia do riacho, forçando o escoamento superficial a ocorrer mais rapidamente durante os eventos de precipitação, diminuindo assim a quantidade de tempo que a água leva para alcançar os riachos e reduzindo a recarga dos lençóis freáticos (FINDLAY e TAYLOR, 2006). PENNINO *et. al.* (2016) em seu estudo sobre os impactos da impermeabilização do solo destacaram o problema do aumento do arraste de carbono orgânico e nutrientes para os riachos.

LEE *et. al.* (2012), que estudaram os efeitos da impermeabilização em um riacho urbano na Coreia do Sul, obtiveram um cenário de degradação em relação a parâmetros de qualidade de água (aumento da DBO, da concentração de poluentes orgânicos e da condutividade elétrica) quando a taxa de impermeabilização do solo aumentava. O índice de diatomáceas indicadoras de poluição orgânica também foi maior com o aumento da taxa de impermeabilização do solo (LEE *et. al.*, 2012). Os resultados encontrados por LOUCAIDES, CAHOON e HENRY (2007) sugerem que a cobertura impermeável pode ser responsável tanto pela limitação da sílica dissolvida de curto prazo durante os eventos de chuva quanto pela redução a longo prazo. A disponibilidade de sílica dissolvida (SiO_4) é um fator que afeta a composição das populações de algas nos ecossistemas aquáticos (LOUCAIDES, CAHOON e HENRY, 2007).

Quanto às atividades intrínsecas das cidades, abrangendo residências, comércios e indústrias, além de consumir a água dos riachos, também lançam nos corpos d'água seus efluentes e resíduos sólidos. Assim como existem diversos tipos de atividades nas cidades, diversos tipos de contaminantes têm sua destinação final o riacho urbano mais próximo. Para controlar este lançamento, implementou-se nas cidades as plantas de tratamento de efluentes. A capacidade de muitas delas foram recentemente ampliadas da remoção de carbono orgânico para incluir a remoção de nitrogênio por nitrificação e desnitrificação, bem como a remoção de fosfatos e metais pesados (HOLT, 2000). Porém, nem todo o efluente produzido é tratado nas cidades. De acordo com o INSTITUTO TRATA BRASIL (2018), apenas 45% do esgoto gerado no Brasil passa por algum tipo de tratamento. Além disso, existem falhas no tratamento, como a contaminação por alumínio. Segundo HOLT (2000) a descarga de lodo de alumínio das estações de tratamento de águas residuais municipais é risco potencial de contaminação.

A vulnerabilidade do ambiente aquático aos contaminantes provenientes das atividades das cidades depende de cinco fatores principais: propriedades físicas e químicas dos contaminantes e seus produtos de transformações; concentração e carga dos contaminantes de entrada; duração e tipo de entrada de contaminantes (descarga intermitente ou contínua); propriedades do ecossistema (capacidade tampão das águas, a concentração de matéria orgânica dissolvida, grau de autodepuração); localização em relação lançamento dos contaminantes (RAND, WELLS e MCCARTY, 1995). Os contaminantes seguem o ciclo de nutrientes e fluxo

de energia do ecossistema aquático, passando por processos de transporte (volatilização, advecção, dispersão, adsorção, deposição, sedimentação, ressuspensão, mistura de sedimentos, difusão), transformação (biodegradação, hidrólise, fotólise, especiação) e absorção (bioacumulação, bioconcentração) (HOLT, 2000). O contaminante pode alterar diretamente o indivíduo e atingir todo o ecossistema passando por todos os níveis de organização, ou pode alterar diretamente as propriedades dos rios e comprometer diretamente o ecossistema, como mostra a Figura 7.

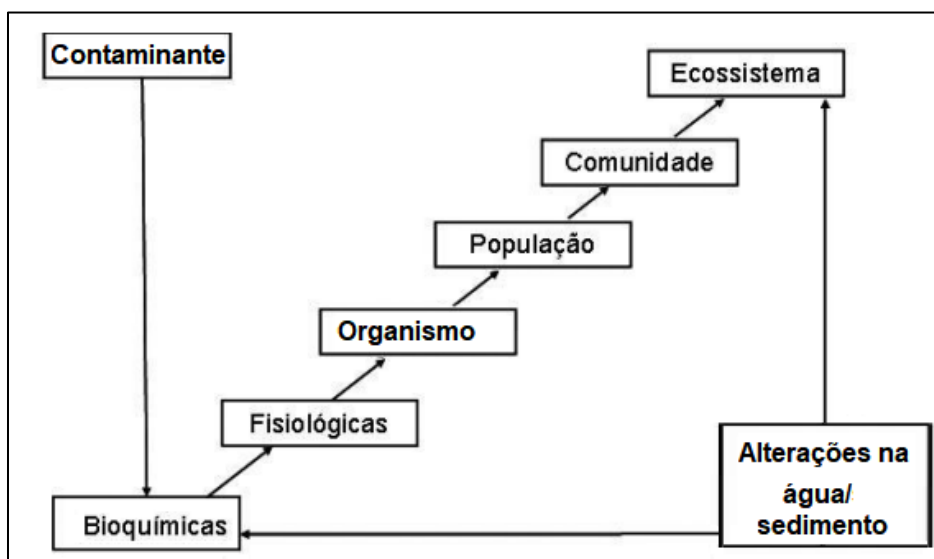


Figura 7: Caminhos que contaminantes e alterações provenientes da urbanização podem percorrer para impactar o ecossistema aquático.

Fonte: MAGALHÃES e FILHO (2008).

2.4 BIOMARCADORES EM ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA

Os biomarcadores podem ser usados como ferramentas para avaliar e monitorar ecossistemas aquáticos (SIMONATO *et. al.*, 2016), pois esclarecem a relação, se houver, entre a exposição a um composto químico e o comprometimento à saúde do indivíduo exposto a esta substância (NAS, 1989). Os biomarcadores podem ser mais sensíveis e mais ecologicamente relevantes do que medir diretamente as concentrações de contaminantes no meio ambiente (THEODORAKIS *et. al.*, 1992). Isto ocorre porque as medidas de concentração química não levam em consideração a biodisponibilidade dos contaminantes, o que dificulta a interpretação dos reais efeitos tóxicos (PEAKALL, 1994).

Segundo VAN GESTEL e VAN BRUMMELEN (1996), biomarcadores são

qualquer resposta biológica, incluindo bioquímica, fisiológica, histológica e morfológica (como aparência, pigmentação, deformação superficial), no nível individual, medida no interior de um organismo ou nos seus produtos (urina, fezes, pêlos, penas), indicando um desvio do estado normal. Definido de forma semelhante por DEPLEDGE, AAGAARD e GYORKOST (1995), um biomarcador ecotoxicológico pode ser uma variação bioquímica, celular, fisiológica ou comportamental que pode ser medida em tecidos ou amostras de fluidos corporais ou ao nível de organismos e que fornece evidências de exposição a efeitos de um ou mais poluentes químicos e/ou radiações.

Segundo AQUINO, PALETTA e ALMEIDA (2017), a análise de biomarcadores em programas de avaliação da contaminação ambiental, como a ARE, é de grande importância e de interesse atual, pois permite detectar precocemente a existência de contaminação por substâncias tóxicas biologicamente significativas, identificar populações em risco de contaminação, avaliar a magnitude da contaminação, e determinar o grau de severidade dos efeitos causados pelos contaminantes. Tanto EPA (1998) quanto JENSEN e MESMAN (2006) recomendam biomarcadores como método de análise do risco ecológico. SANTOS *et. al.* (2016), por exemplo, utilizaram uma bateria de biomarcadores em peixes, que incluiu biomarcadores enzimáticos de biotransformação xenobiótica, estresse oxidativo, biomarcador de neurotoxicidade e dano primário ao DNA nos eritrócitos, para determinar o risco ecotoxicológico em rios no norte da França. Esta bateria de análises com biomarcadores é importante pois não existe um único biomarcador que possa diagnosticar de forma precisa os efeitos de contaminantes ambientais nos organismos (VIEIRA *et. al.*, 2016).

Um tipo de biomarcador que pode ser usado para o estudo da genotoxicidade de agentes tóxicos em organismos, e, portanto, para avaliações de riscos ambientais, é o grau de alterações no DNA (ZHU, HUANG e LIU, 2005). Vários contaminantes na água são capazes de interagir com o DNA das células causando efeitos genotóxicos, como modificações na base do DNA, quebras nas cadeias, depurinação (erro na replicação do DNA) e *cross-linkages* (FRENZILLI *et. al.*, 2004). O dano ao DNA pode afetar a probabilidade de sobrevivência ou a reprodução do organismo, e se isto resultar em uma alta mortalidade, um gargalo genético pode ocorrer, alterando o curso evolucionário (THEODORAKIS *et. al.*, 1998).

De acordo com JHA (2004), vários métodos foram elaborados para aumentar a capacidade de avaliar a interação de toxinas com o material genético da biota

aquática, assim como métodos biológicos realistas para identificar a mutagenicidade expressa nesses organismos. Um destes métodos é o ensaio do micronúcleo. ALSABTI e METCALFE (1995) trazem alguns exemplos da utilização para testar a atividade multagênica de produtos químicos em peixes afirmando que tais ensaios são úteis para testes de mutagenicidade *in vivo* e têm potencial para monitoramento *in situ* da qualidade da água. No estudo de CAVAS, GARANKO e ARKHIPCHUK (2005), por exemplo, os autores concluíram que o ensaio de micronúcleo em peixes é uma técnica válida para monitorar os efeitos mutagênicos induzidos por metais, inclusive advindos de exposição a longo prazo.

Os micronúcleos são pequenas massas de cromatina citoplasmática presentes fora do núcleo principal das células que podem surgir a partir da ruptura dos cromossomos ou da disfunção do aparato do fuso mitótico das células (WINTER, ELLIS e HUTCHINSON, 2007). São pequenos núcleos separados do núcleo principal da célula, visíveis em microscópio, formados durante a divisão celular quando um ou mais cromossomos fragmentados ou inteiros atrasam em relação aos outros cromossomos durante a anáfase (separação de cromossomos homólogos), por causa de um evento aneugênico (causado por agentes que induzem a perda de cromossomos inteiros por segregação cromossômica anormal) ou clastogênicos (causados por agentes que induzem a perda de fragmentos cromossômicos (CARRASCO, TILBURY e MYERS, 1990). Existem, de fato, quatro mecanismos reconhecidos pelos quais podem surgir os micronúcleos: (1) perda mitótica de fragmentos acêntricos (quando o centrômero do cromossomo está muito próximo de uma das extremidades), (2) uma variedade de consequências mecânicas da quebra e troca cromossômica, (3) perda mitótica de cromossomos inteiros e (4) apoptose (morte celular geneticamente programada) (HEDDLE *et. al.*, 1991). A Figura 8 ilustra o processo de formação do micronúcleo durante a divisão celular devido a ação de agentes mutagênicos.

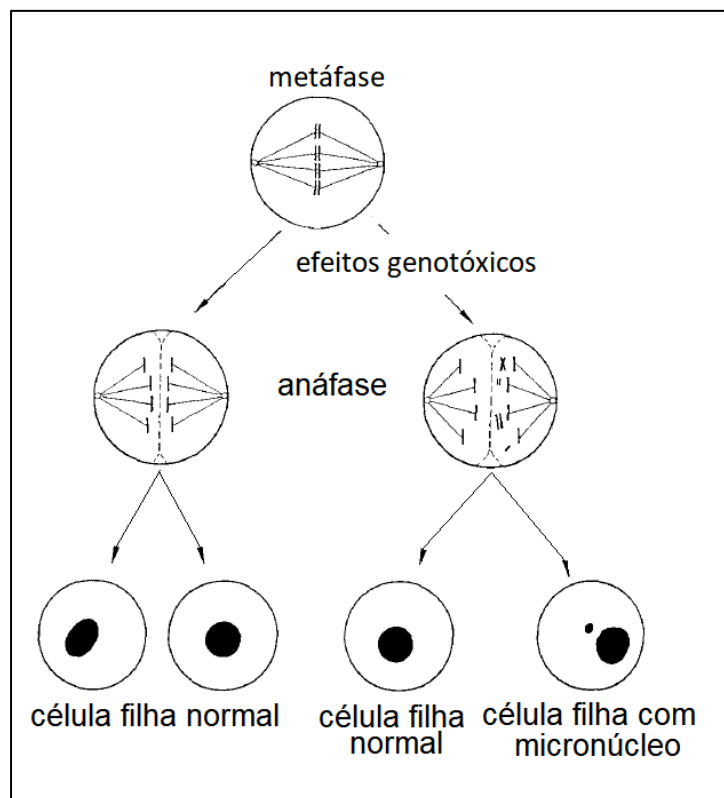


Figura 8: Ilustração esquemática do mecanismo de formação de micronúcleos em células mononucleadas.

Fonte: Adaptado de AI-SABTI e METCALFE (1995).

Apesar de ser muito utilizado, o teste do micronúcleo as vezes não é tão sensível quanto necessário. MONTEIRO *et. al.* (2011), por exemplo, concluíram que a frequência de micronúcleo em células sanguíneas de peixes não aumentou após a exposição ao Pb a curto prazo. Porém, os mesmos autores afirmam que a frequência de outras anomalias eritrocitárias nucleares (AEN), nas células sanguíneas de peixes, como núcleos em forma de rim, núcleos segmentados e núcleos lobulares, aumentou significativamente após curta exposição ao Pb, indicando que a análise das AENs é um biomarcador complementar ao teste de micronúcleo para exposição ao Pb. CARRASCO, TILBURY e MYERS (1990) foram um dos primeiros a apontar para este problema e por isso incluíram no estudo além da frequência de micronúcleo, a avaliação de outras lesões nucleares. ERGENE *et. al.* (2007) afirmam que apesar das AENs ainda não serem totalmente explicadas, são consideradas indicadoras de danos genotóxicos e, portanto, podem complementar a frequência de micronúcleos em pesquisas de genotoxicidade. A Figura 9 ilustra diferentes tipos de anormalidades nucleares possíveis de serem observadas em células submetidas a genotoxinas.

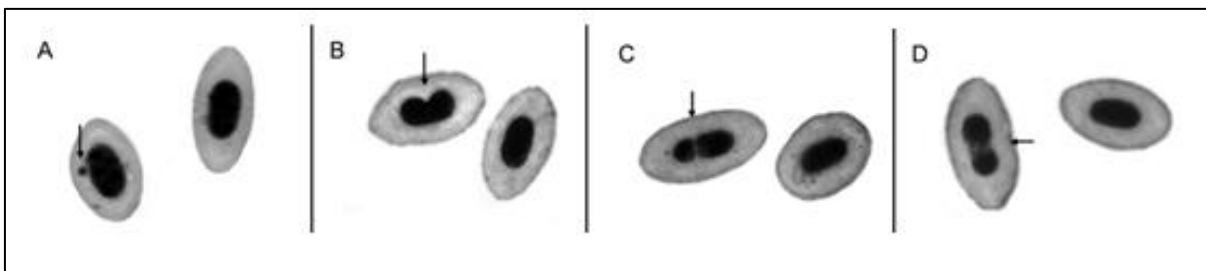


Figura 9: Tipos de anormalidades nucleares encontradas em células submetidas a stress ambiental: A - presença de micronúcleo; B - núcleo em forma de rim; C - núcleo segmentado; e D - núcleo lobulado. **Fonte:** Monteiro *et. al.* (2011).

Assim como MONTEIRO *et. al.* (2011), VIEIRA *et. al.* (2016) também não encontraram diferença significativa entre a frequência de micronúcleo em peixes mantidos em ambientes de diferentes condições ambientais, porém, identificaram diferença significativa nas AENs, em relação a ambientes com presença de metais e agrotóxicos e ambientes mais conservados. Já ERGENE *et. al.* (2007) encontraram um aumento significativo tanto na frequência de micronúcleo quanto em outras alterações nucleares quando compararam peixes mantidos em condições ideais em laboratório e peixes em habitat natural contaminado com metais (Cu, Cd, Pb e Ni). COSTA *et. al.* (2008) também observaram aumento nas frequências de micronúcleo e AEN quando realizaram testes em laboratório expondo peixes a sedimentos contaminados com metal (Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd e Pb) e contaminantes orgânicos. Em análise de risco ecológico, esses testes são recomendados como biomarcadores de mutagenicidade (HAGGER *et. al.*, 2006 e AKPOILIH, 2013).

3 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA BACIA DO RIBEIRÃO CAMBÉ

A bacia do Ribeirão Cambé está localizada no estado do Paraná – Brasil, inserida majoritariamente no município de Londrina (Figura 10; OLIVEIRA e BENNEMANN, 2005), que possui uma população, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017) superior a 550.000 habitantes. O curso principal percorre cerca de 25 km, sendo que apenas 3,5 km do riacho na

cabeceira e um trecho após o primeiro tributário, encontra-se na fronteira entre os municípios de Londrina e Cambé. O Ribeirão Cambé é de quarta ordem e é tributário do Ribeirão Três Bocas, que por sua vez, deságua no Baixo Rio Tibagi. A bacia tem aproximadamente 77 km² de área de drenagem (TORRES e SILVA, 2007).

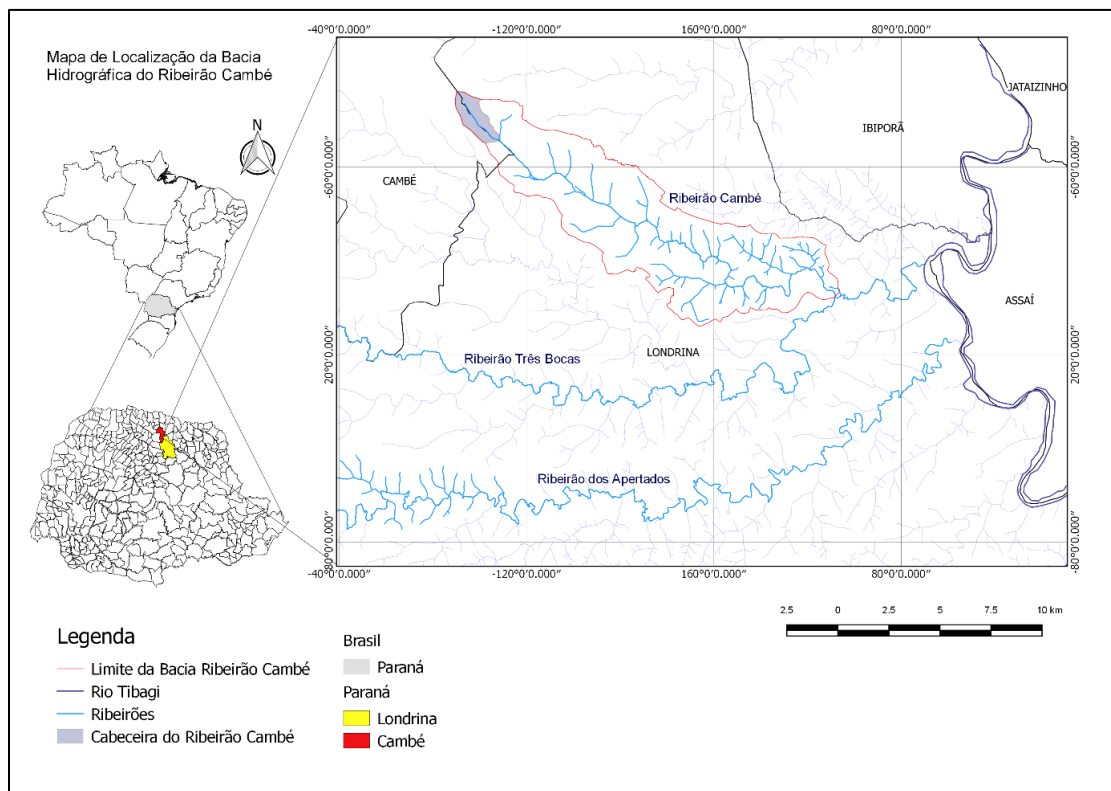


Figura 10: Mapa de localização da bacia hidrográfica do Ribeirão Cambé destacando sua área de cabeceira com coordenadas SAD69/UTM zone 22S (EPSG:29192) desenvolvido no programa QGIS 2.18

Fonte: Autoria própria

De acordo com TAGIMA e TERABE (2005), que estudaram a bacia do Ribeirão Cambé, a temperatura média anual na região é de aproximadamente 20,7°C e a precipitação pluviométrica anual em torno de 1.615 mm. No ano de 2017, os dados do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) (IAPAR, 2017a) mostraram temperatura média anual de 22,14°C e precipitação anual total de 1.885 mm, sendo, portanto, um ano mais quente e mais chuvoso do que a média. Os dados de temperatura média e pluviosidade total mensal para o ano de 2017 estão na Figura 11, na qual é possível observar o comportamento climatográfico da região: chuva o ano todo, com estiagem no inverno e variação da temperatura anual de aproximadamente 10°C. Um clima subtropical úmido mesotérmico classificado como Cfa na classificação climática de

Köppen (TAKEDA *et. al.*, 2013). Os ventos correm na direção leste com cerca de 9,4 km/h em média anual (IAPAR, 2017b), podendo atingir 146 km/h, como ocorreu em novembro de 2017 (IAPAR, 2017b).

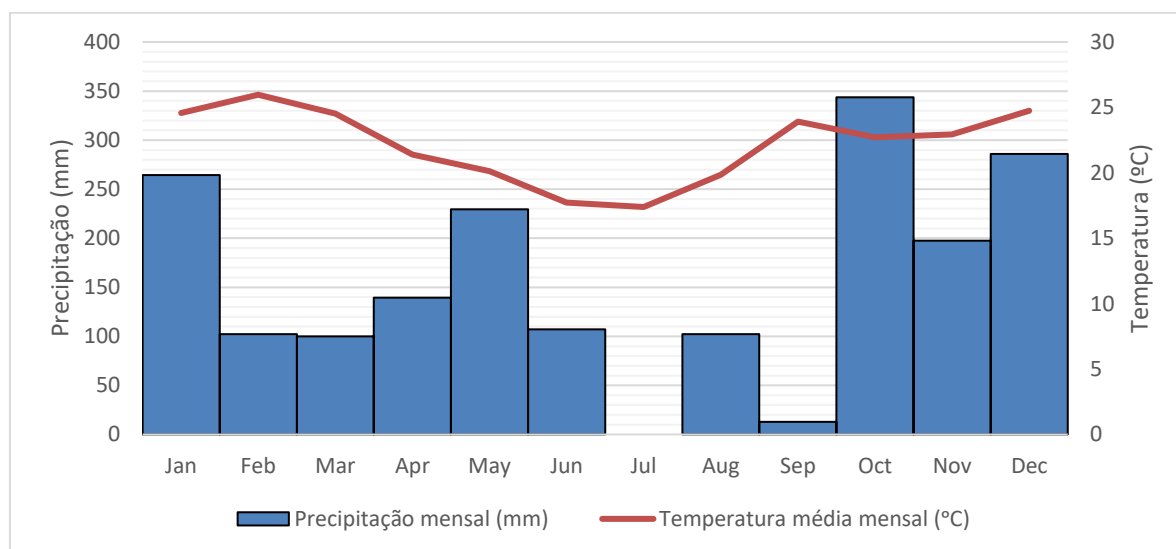


Figura 11: Histograma para região de Londrina em 2017

Fonte: Autoria própria com dados de IAPAR (2017a)

TRABAQUINI *et. al.* (2009) afirmam que Londrina está situada no Terceiro Planalto Paranaense (Planalto de Guarapuava), que é essencialmente constituído por basaltos, resultando em geral na formação de solos argilosos. A bacia do Ribeirão Cambé possui três principais classes de solo: Latossolos Vermelhos Distroféricos (LVdf), Nitossolos Vermelhos Eutroféricos (NVef) e Neossolos Litólicos (RLe) (TAGIMA e TERABE, 2005). Na área da cabeceira, de acordo com ROCHA (1995), tem-se a predominância de latossolos, solos profundos e bem permeáveis, situados em relevo pouco declivoso com presença de Terra Roxa Estruturada Distrófica/Eutrófica (TRd/e), ou seja, solos que apresentam potencial erosivo, com argilas de baixa atividade de troca iônica e acidez elevada.

Na Figura 12, que ilustra um corte transversal do solo da parte noroeste da bacia do Ribeirão Cambé, observa-se, a partir dos topos do relevo em direção ao vale, a predominância do material latossólico muito permeável e profundo, sendo gradualmente substituído por uma cobertura menos permeável e mais estruturada (horizonte B textural - pode acentuar processos erosivos caso não se recorra à práticas de conservação do solo) que altera a dinâmica vertical da água, influenciando na velocidade de drenagem das águas pluviais em áreas com edificações e em locais

com fossas sanitárias (ROCHA, 1995). Na parte inferior das encostas o solo se enriquece de fragmentos e blocos de rocha basáltica semi-alterada, solos rasos, litólicos, que apresentam potencial erosivo devido à sua pouca espessura (somente horizonte A) (ROCHA, 1995). A camada inferior (horizonte C) é rica em fragmentos intemperizados e bastante fraturada, denotando características geotécnicas de baixa resistência para as edificações (ROCHA, 1995). Por fim, o fundo do vale, em que a saturação da água condiciona solos hidromórficos (ROCHA, 1995).

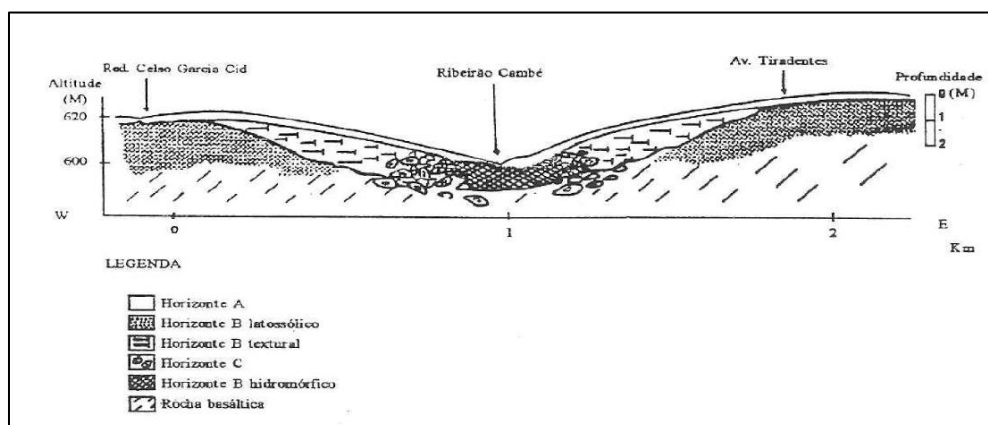


Figura 12: Corte transversal do conjunto pedológico da parte noroeste da bacia do Ribeirão Cambé, seção segundo a direção leste-oeste, feita a partir do trevo rodoviário entre a rodovia Celso Garcia e a avenida Tiradentes.

Fonte: ROCHA (1995)

A cidade de Londrina ocupa uma região originalmente coberta pela Floresta Estacional Semidecidual (MENDONÇA e BARROS, 2002). Estas florestas ocupam ambientes entre zonas costeiras e semiáridas, apresentando um porte em torno de 20 metros e produção de serapilheira com maiores picos no inverno, caracterizado por baixa precipitação (VITAL *et. al.*, 2004). Espécies típicas incluem a peroba (*Aspidosperma polyneuron*), a figueira (*Ficus sp.*) e o pau-d'alho (*Gallesia guararema*), entre outras (MENDONÇA e BARROS, 2002). Levantamentos indicam, porém, que no Estado do Paraná remanescem apenas 7% da cobertura florestal, a qual no final do século XIX cobria 83% de sua área (CAMPOS, 1999).

A bacia do Ribeirão Cambé tem importância nas três esferas do desenvolvimento sustentável. Na esfera ambiental, como faz parte da bacia do rio Tibagi, o Ribeirão Cambé pode contribuir com a conservação e a recuperação da biodiversidade da bacia, visto que, de acordo com MEDRI *et. al.* (2002), o baixo Tibagi é a região da bacia com maior concentração de atividades antrópicas. Na esfera

econômica, a bacia do Ribeirão Cambé, principalmente o lago Igapó, contribui para o setor turístico da cidade de Londrina, que na análise geral apresentada por BATTISTUZ e ZARDO (2014), vem se consolidando como um importante polo regional de turismo. Na esfera social, além de contribuir para o abastecimento de água da região (LONDRINA, 2015), colabora no enriquecimento da qualidade de vida dos moradores da cidade Londrina, gerando lazer para a população.

Apesar do tipo de solo, de maneira geral, não ser apropriado para a construção de edifícios e o clima subtropical com chuvas presentes todo o ano contribuir com a vulnerabilidade da região à erosão, a bacia do Ribeirão Cambé é quase totalmente cercada por áreas residenciais, comerciais, e por algumas indústrias. A bacia sofre ainda com impactos como: interrupções de seu fluxo natural, desmatamento e poluição. YABE e OLIVEIRA (1998) já encontravam indícios de contaminação por metais desde da década de 90, sendo os efeitos apontados em diversos outros estudos. WINKALER *et. al.* (2001), por exemplo, encontraram alterações histopatológicas severas em peixes do Ribeirão Cambé. RIGONATO, MANTOVANI e JORDÃO (2010), que avaliaram efeitos genotóxicos em moluscos em diversos pontos da bacia do Ribeirão Cambé, concluíram que houve um aumento significativo no número de células com danos no DNA em relação ao controle e que em todos os locais amostrados, as influências antrópicas se destacaram como as principais causas da introdução de agentes xenobióticos. TRABAQUINI *et. al.* (2009), que desenvolveram um mapa de ocupação de Área de Proteção Permanente (APP) nas bacias do Paraná, incluindo a do Ribeirão Cambé, concluíram que em várias áreas, a legislação pertinente à proteção ambiental não está sendo respeitada e que diversas áreas de fundo de vale estão sendo ocupadas por usos irregulares. No estudo de OLIVEIRA e BENNEMANN (2005) sobre a ictiofauna e os recursos alimentares disponíveis na porção superior do Ribeirão Cambé, ficou evidente o efeito de alterações antrópicas do ambiente urbano, como a remoção da mata ciliar, lançamento de efluentes na água, mudança no canal natural e a introdução de espécies exóticas.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS ESTAÇÕES DE AMOSTRAGEM

A ARE desenvolvida neste trabalho limita-se à cabeceira do Ribeirão Cambé, uma área de aproximadamente 2,7 km² na parte noroeste da bacia, um trecho longitudinal de aproximadamente 2,5 km do Ribeirão Cambé. A Figura 13 apresenta o mapa de localização das quatro estações de coleta deste estudo: três na cabeceira do Ribeirão Cambé (P1, P2 e P3) e uma em um riacho totalmente inserido no Parque Estadual da Mata dos Godoy (Ref). A Tabela 1 contém as coordenadas geográficas das quatro estações, as profundidades, as larguras médias e as observações feitas em campo. As Figura 14, Figura 15, Figura 16 e Figura 17 são registros fotográficos de cada uma delas.

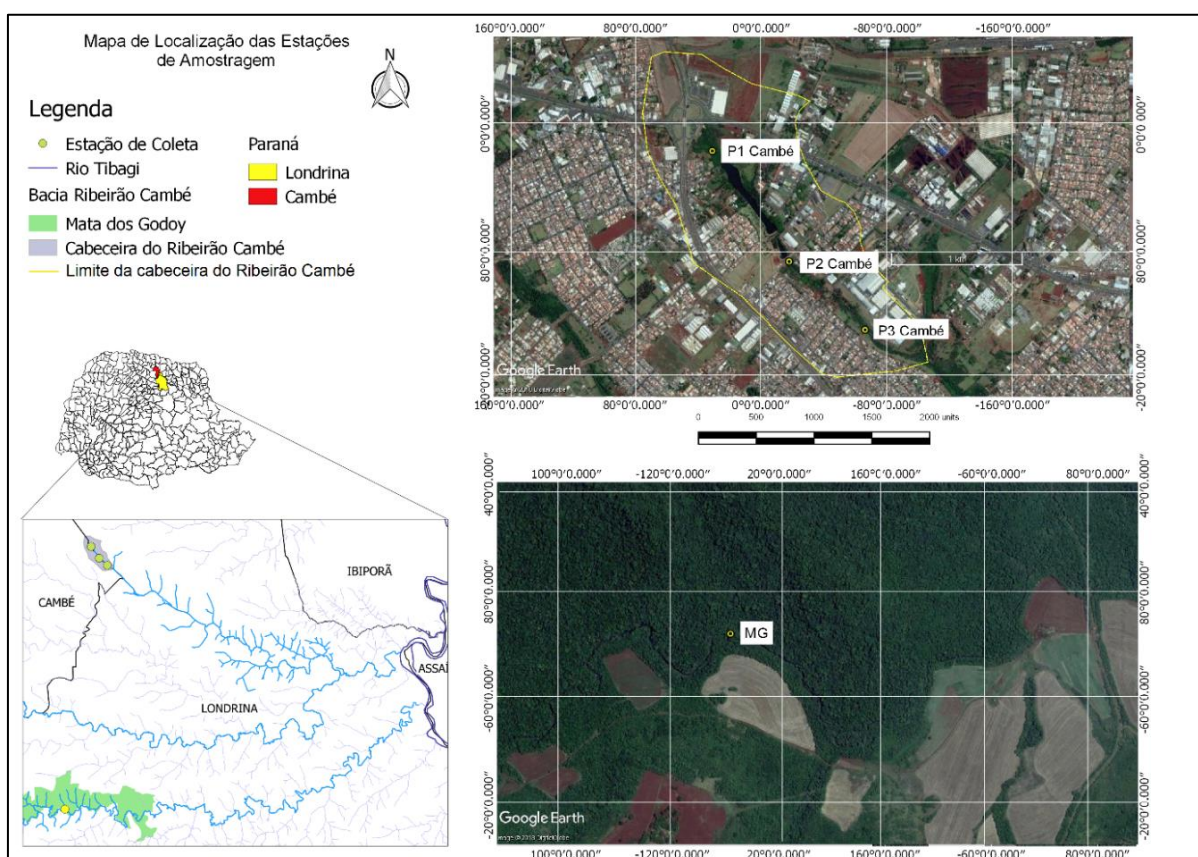


Figura 13: Mapa de localização das estações de amostragem (P1 Cambé, P2 Cambé, P3 Cambé e Ref) com coordenadas SAD69/UTM zone 22S (EPSG:29192) desenvolvido no programa QGIS 2.18
Fonte: Autoria própria

Tabela 1: Características gerais das estações de coleta

Estações de amostragem	Micro Bacia	Latitude/ Longitude	Largura média (m)	Profundidade média (cm)	Observações de campo
P1 Cambé	Ribeirão Cambé	23°17'14,46" 51°13'58,50"	1,7±0,28	7,45±4,95	Presença de resíduo sólido nas margens, porém com vegetação relativamente densa.
P2 Cambé	Ribeirão Cambé	23°17'42,06" 51°13'37,91"	2,04±0,38	10,31±5,44	Após barragem artificial, presença de resíduo sólido nas margens, erosão próxima a margem.
P3 Cambé	Ribeirão Cambé	23°17'58,74" 51°13'17,34"	2,03±0,55	15,43±12,12	Ausência de vegetação em partes das margens, presença de uma ponte artesanal, erosão acentuada na margem, presença de resíduos sólidos, grande declividade.
Ref	Ribeirão Apertados	23°27'31,37" 51°15'5,55"	2,32±1,09	4,84±3,30	Vegetação densa, presença de pequenas cascatas.

Fonte: Autoria própria

De acordo com a Tabela 1, as quatro estações de amostragem são em trechos com largura semelhantes, em torno de 2 m, e com baixa profundidades. Por serem estações que seguem o fluxo do rio, as profundidades das estações do Cambé são crescentes, enquanto que a da Mata dos Godoy se assemelha a estação P1 Cambé, mais próxima à nascente.



Figura 14: Registro fotográfico da estação de coleta P1 Cambé
Fonte: Autoria própria



Figura 15: Registro fotográfico da estação de coleta P2 Cambé
Fonte: Autoria própria



Figura 16: Registro fotográfico da estação de coleta P3 Cambé
Fonte: Autoria própria

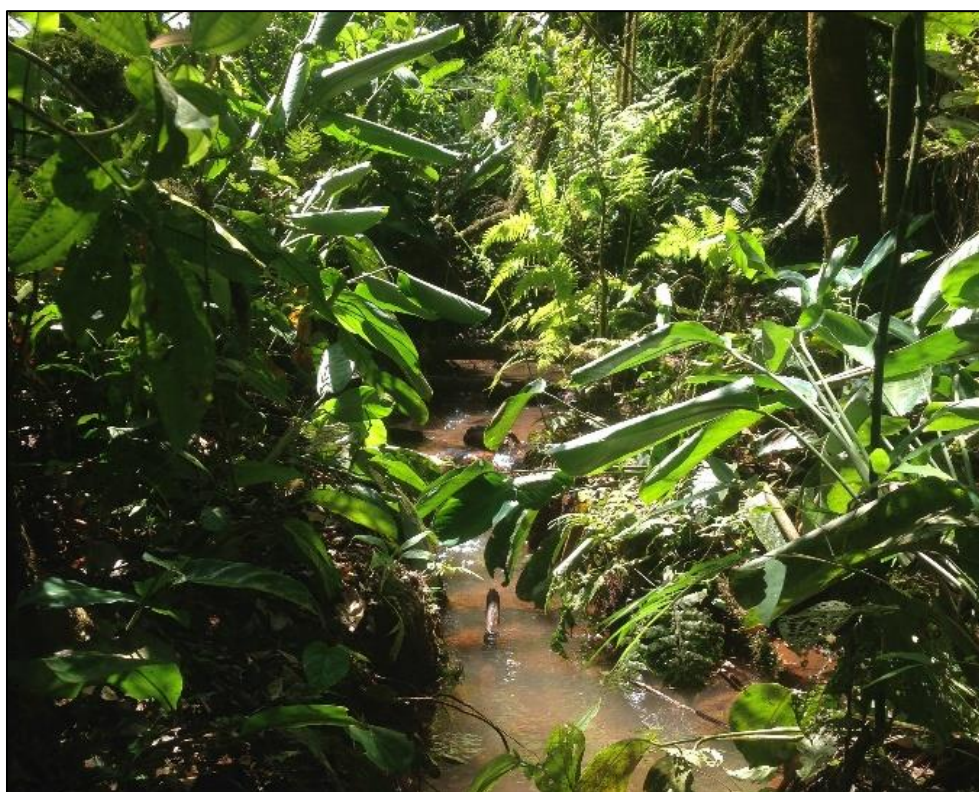


Figura 17: Registro fotográfico da estação de coleta Ref
Fonte: Autoria própria

Das três estações de coleta no Ribeirão Cambé, apenas a P1 Cambé possui os 30 metros de mata ciliar exigidos pela LEI N° 12.651, de 25 de maio de 2012, (BRASIL, 2012), para riachos com largura menor que 10 m. As Figuras 23, 24, 25 e 26 mostram, respectivamente, as estações de coleta P1 Cambé, P2 Cambé, P3 Cambé e Ref com a circunferência de 30 m de raio, destacando algumas das atividades antrópicas mais próximas.



Figura 18: Estação de Coleta P1 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando o trevo rodoviário entre a rodovia Celso Garcia e a avenida Tiradentes, a indústria Global Stone Mármores e granitos, posto de combustível e a indústria Selaria Igapó e áreas residenciais.

Fonte: Autoria própria com imagens do programa computacional Google Earth 2018.



Figura 19: Estação de Coleta P2 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando o parque de exposições governador Ney Braga e áreas residenciais.

Fonte: Autoria própria com imagens do programa computacional Google Earth 2018.



Figura 20: Estação de Coleta P3 Cambé com circunferência de raio de 30 m destacando empresas de transporte como a Jamef Transportes, Alfa Transport EIRELI e a Plimor carrier e áreas residenciais.

Fonte: Autoria própria com imagens do programa computacional Google Earth 2018.



Figura 21: Estação de Coleta Ref com circunferência de raio de 30 m cercado por vegetação, porém com atividade agrícola próxima.

Fonte: Autoria própria com imagens do programa computacional Google Earth 2018.

As três estações de amostragem do Ribeirão Cambé encontram-se entre os municípios de Londrina e Cambé, inseridas em uma área bastante urbanizada. Apesar da maior presença de residências na cabeceira da bacia, existem ainda algumas indústrias, o cemitério Parque das Alamedas, o parque de exposições, postos combustíveis e rodovias. Todas essas edificações pressionam o ecossistema com cargas poluentes como metais pesados, contaminantes aromáticos, matéria orgânica e nutrientes, poluição atmosférica, sonora e luminosa, assoreamento e erosão que tendem a desequilibrar o ambiente aquático, tornando-o relativamente mais vulnerável, principalmente pela característica do solo e pela estrutura fragilizada da mata ciliar.

Estudos específicos para este trecho do Ribeirão Cambé apontam para os efeitos da poluição sobre a fauna e a qualidade da água. RIGONATO, MANTOVANI e JORDÃO (2010) encontraram uma frequência média de danos no DNA, mensurados por ensaio do cometa, significativamente maior em moluscos na cabeceira do Ribeirão Cambé do que no controle. CAMARGO e MARTINEZ (2006), que verificaram a aptidão de testes para biomarcadores com o peixe neotropical *Prochilodus lineatus* no Ribeirão Cambé, encontraram, para a cabeceira do Ribeirão, valores de condutividade elétrica maiores que da área de referência e concentração de matéria orgânica maior

que os outros pontos analisados, localizados a jusante da cabeceira.

Dentre os diversos impactos que a proximidade com áreas residenciais pode causar ao Ribeirão Cambé, o lançamento de resíduos sólidos próximos ao corpo d'água ou mesmo dentro do canal é um dos mais visíveis, sendo alguns registros fotográficos colocados no Anexo 7 deste trabalho. Além disso, o Ribeirão também apresenta outros impactos ambientais constatados durante a visita técnica à área, como o processo de erosão na margem.

A estação de amostragem Ref corresponde ao ponto de referência deste trabalho e é necessária para os procedimentos do método. Esta estação localiza-se em um riacho de primeira ordem afluente do Ribeirão dos Apertados com aproximadamente 1,5 km de extensão, totalmente inserido na área de preservação ambiental do Parque Mata dos Godoy. Esse riacho foi estudado por GALVES, JEREP e SHIBATTA (2007), e foi considerado pelos autores como o mais preservado dentre os três riachos inseridos na área de preservação avaliada no estudo. MEDEIROS e TOREZAN (2012) utilizaram o Parque Mata dos Godoy como área de referência em seu trabalho sobre remanescente de Mata Atlântica, e afirmam que o parque é considerado um dos remanescentes mais bem conservado na região, apresentando alta integridade biológica.

A Mata dos Godoy é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral que está localizada a 15 km do centro de Londrina e possui 675,70 ha de floresta subtropical, inserida no bioma Mata Atlântica (PREFEITURA DE LONDRINA, 2015). A unidade foi criada em 5 de junho de 1989 pelo Decreto Estadual nº 5.150 de 07 de junho de 1989 (PARANÁ, 1989), cujo objetivo principal é preservar a natureza, sendo admitido apenas o uso indireto dos recursos naturais da área. Porém, a área é cercada por atividade agroindustrial, como plantação de trigo e criação de animais (GALVES, EREP e SHIBATTA, 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MÉTODO DA TRÍADE

O método utilizado neste trabalho é uma adaptação de JENSEN e MESMAN

(2006). A Figura 22 apresenta o fluxograma da ARE desenvolvido neste trabalho. Agrupou-se o Estágio I e o Estágio II (Figura 2) em uma primeira etapa, nomeando-a Formulação do Problema, conforme mostra a Figura 22. O Estágio III (Figura 2), neste trabalho, corresponde às outras etapas nomeadas Análise, Descrição do Risco e Gerenciamento do Risco, conforme Figura 22. Estas etapas estão apenas no Nível 1 proposto pelos autores, como mostra a Figura 3. Previu-se um avanço para Nível 2 se os resultados das análises não fossem conclusivas (Figura 22).

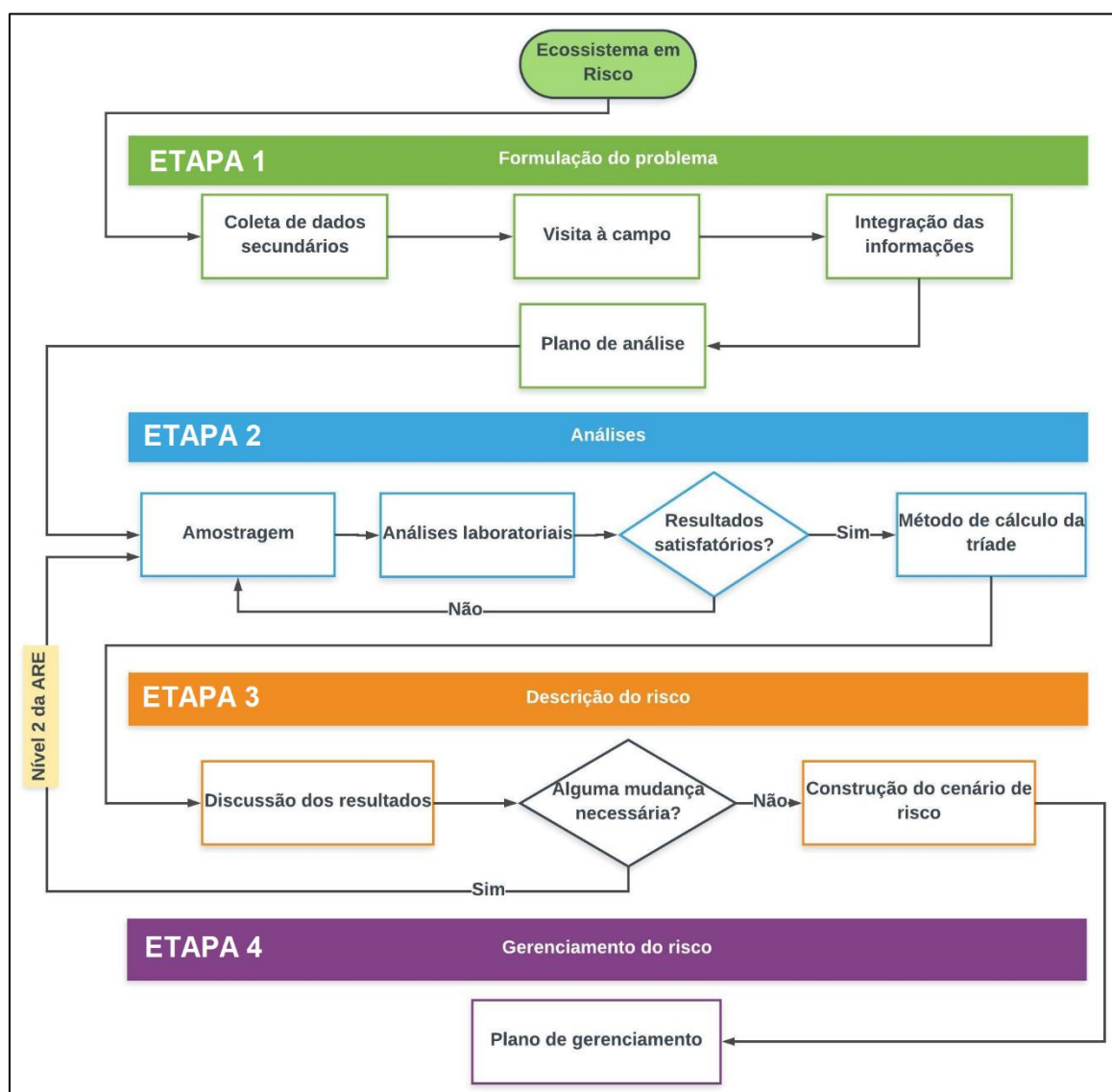


Figura 22: Fluxograma do processo de ARE

Fonte: baseado em EPA (1998) e JENSEN e MESMAN (2006) construído no programa LUCIDCHART (2018).

Para alcançar os objetivos da primeira etapa da ARE (Formulação do problema), os limites do estudo foram determinados e a dinâmica de fluxo do sistema estudada. Durante esta etapa, foram coletados dados secundários e foram realizadas visitas à campo com o objetivo de integrar informações disponíveis sobre as fontes de poluição, os estressores, os principais efeitos dos impactos ambientais constatados e as características dos receptores e do ecossistema.

Com as visitas a campo e a coleta de dados secundários realizados na primeira etapa da ARE, pode-se avaliar a vulnerabilidade ambiental da cabeceira do Ribeirão Cambé, devido ao tipo de solo e de clima, à supressão da vegetação ripária e outras ameaças relacionadas às atividades antrópicas. Como o foco do estudo são as comunidades aquáticas, organismos como peixes, moluscos e insetos são os principais receptores desta possível contaminação, porém apenas a ictiofauna foi analisada, na medida em que está mais no topo da cadeia alimentar. A via de contaminação da ictiofauna é principalmente por meio da cadeia alimentar, porém os efeitos da contaminação na qualidade da água também interferem na comunidade de peixes. Assim, foram selecionados os *endpoints* e os parâmetros, descritos de forma mais detalhada no índice 4.2, como mostra a Figura 23.

Em seguida, o plano de amostragem e análise foram elaborados. Também foram avaliados os recursos disponíveis e iniciadas as negociações com laboratórios necessários para o desenvolvimento do projeto. A escolha da estação de referência foi baseada em estudos anteriores e a similaridade da sua estrutura física (profundidade e largura) com as estações de amostragem se mostrou favorável à comparação realizada na ARE. Apesar de não pertencer a mesma microbacia, a estação de referência é próxima as estações e ambas pertencem à bacia do rio Tibagi.

A segunda etapa da ARE (Análises), iniciou com as campanhas de amostragem. Tendo em vista os parâmetros selecionados no plano de análise, as coletas foram realizadas nos pontos georreferenciados do Ribeirão Cambé e no local escolhido como ponto de referência, além da medição de alguns parâmetros *in situ*. Na sequência, as amostras foram conduzidas para laboratórios onde foram realizadas as análises. Para a LEQ foram determinadas concentrações de metais nos peixes com parceria com o Laboratório de Análise e Monitoramento Ambiental (LAMA); Para a LET foram analisados biomarcadores no sangue de peixes no Laboratório de Ecofisiologia Animal (LEFA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL); e para a LEE foram avaliados dados limnológicos, índices de biodiversidade da ictiofauna e

composição da vegetação ripária com o apoio do Laboratório de Ecologia Teórica e Aplicada (LETA).

As Etapas 3 e 4 foram descritivas. Os valores encontrados nas análises foram utilizados no cálculo do risco e na construção do cenário de risco da etapa de caracterização do risco, com a discussão dos resultados. O plano de gerenciamento trouxe uma análise dos usos da área de estudo em relação aos riscos encontrados e recomendou medidas de controle, recuperação e manutenção baseado nessa análise.

4.2 PARÂMETROS ANALISADOS BASEADOS NOS *ENDPOINTS* IDENTIFICADOS

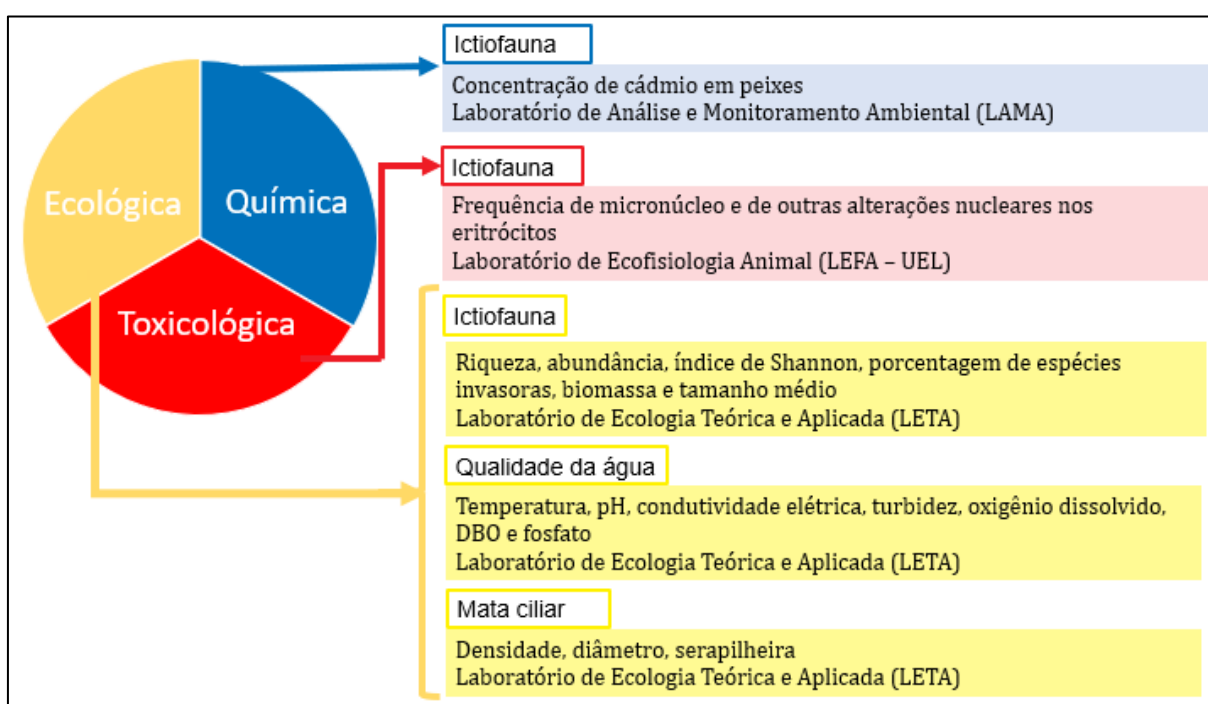


Figura 23: Endpoints e parâmetros determinados para cada linha de evidência após primeira etapa da ARE

Fonte: Autoria própria

Tendo em vista a vulnerabilidade ambiental da cabeceira do Ribeirão Cambé reconhecida pelos dados secundários e as visitas técnicas, foram identificados os principais *endpoints*: qualidade da água, qualidade do sedimento, estabilidade da margem, flora e fauna. Existem vários parâmetros que podem ser considerados para estes *endpoints* em cada linha de evidência, levando em conta também as atividades antrópicas que contribuem para o desequilíbrio ecológico do sistema. Muitos

endpoints identificados não puderam ser analisados em todas as linhas de evidência, e muitos parâmetros importantes não foram mensurados, tais como a concentração de cádmio em sedimentos, riqueza de insetos, densidade de vegetação nativa e erodibilidade da margem.

Como ilustrado na Figura 23, para a LEQ e LET o *endpoint* selecionado foi a ictiofauna, já a LEE contém 3 *endpoints*: ictiofauna, qualidade da água e flora. O Quadro 2 apresenta os parâmetros de análise que foram selecionados levando-se em consideração os *endpoints*, o financiamento do projeto e as condições físicas e tecnológicas disponíveis para as três linhas de evidências.

Quadro 2: Parâmetros escolhidos para cada linha de evidência da ARE para cada *endpoint* identificado

Parâmetro	Definição	Linha de Evidência	<i>Endpoint</i>	Referência
Concentração de cádmio	Quantidade de cádmio encontrada por unidade de massa indicando bioacumulação	LEQ	Ictiofauna	MILANOV <i>et. al.</i> (2016)
Frequência de micronúcleo nos eritrócitos	Número de repetições, em um número fixo de células, de aparição de eritrócitos contendo micronúcleo	LET	Ictiofauna	KOUSAR e JAVED (2015)
Frequência de alterações nucleares nos eritrócitos	Número de repetições, em um número fixo de células, de aparição de eritrócitos contendo alterações na forma de seus núcleos	LET	Ictiofauna	KOUSAR e JAVED (2015)
Temperatura	Relacionado com agitação entre moléculas e deslocamento da energia cinética. Esse parâmetro é influenciado por fatores como radiação solar, e influencia diversos outros como oxigênio dissolvido	LEE	Qualidade da água	BOYD, 2015
pH	Negativo do logaritmo comum da concentração do íon de hidrogênio na água	LEE	Qualidade da água	RICKLEFS, 2010
Condutividade elétrica	Capacidade de uma água conduzir corrente elétrica, sendo o inverso da da resistividade elétrica associado a presença de íons provenientes de substâncias polares, como os sais inorgânicos (cloretos, sulfetos, carbonatos, fosfatos).	LEE	Qualidade da água	BOYD, 2015
Turbidez	Mede a resistência da água à passagem de luz devido principalmente à concentração de sólidos suspensos	LEE	Qualidade da água	BOYD, 2015

Parâmetro	Definição	Linha de Evidência	Endpoint	Referência
Oxigênio dissolvido	Mede a concentração de oxigênio presente na água, parâmetro importante pois o oxigênio apesar de fundamental em vários processos no ecossistema aquático, é pouco solúvel na água e, portanto, deve ser constantemente reabastecido pelo oxigênio no ar	LEE	Qualidade da água	GOLDMAN e HORNE (1983)
DBO	Quantidade de oxigênio utilizada para oxidar a matéria orgânica presente na água através da decomposição microbiana aeróbica	LEE	Qualidade da água	AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (2016)
Concentração de fosfato	Concentração de fosfato na água, normalmente na forma de PO_4^{3-} .	LEE	Qualidade da água	AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (2016)
Densidade de vegetação ripária	Número de indivíduos arbóreos maiores que 120cm por unidade de área	LEE	Flora	FREITAS e MAGALHÃES, 2012
Diâmetro médio do estrato arbóreo	Média dos diâmetros arbóreos à altura do peito como indicador da idade dos indivíduos e das espécies	LEE	Flora	CAMPOS e LANDGRAF (2001)
Cobertura serapilheira	Percentual de cobertura de serapilheira (camada superficial do solo compostos por matéria orgânica particulada grossa) no solo sendo indicador de qualidade ambiental	LEE	Flora	CAMPOS <i>et. al.</i> (2008)
Riqueza de espécies de peixes	Número de espécies encontradas	LEE	Ictiofauna	RICKLEFS (2010)
Abundância de espécies de peixes	Número de indivíduos encontrados	LEE	Ictiofauna	RICKLEFS (2010)
Índice de Shannon	Índice que combina informações sobre riqueza de espécies e uniformidade na distribuição dos indivíduos entre as espécies	LEE	Ictiofauna	TOWNSEND, BEGON e HARPER (2006)
Porcentagem de espécies exóticas	Mede a porcentagem de espécies exóticas capturadas, em relação ao total de espécies encontradas	LEE	Ictiofauna	HAN, PAEK e AN (2016)
Biomassa média	Biomassa média dos indivíduos capturados	LEE	Ictiofauna	HAN, PAEK e AN (2016)
Tamanho médio	Comprimento médio dos indivíduos capturados	LEE	Ictiofauna	HAN, PAEK e AN (2016)

Fonte: Autoria própria

4.3 AMOSTRAGEM

Para a realização deste trabalho foram realizadas duas campanhas amostrais. A primeira ocorreu nos meses de junho e outubro de 2017, e a segunda no mesmo período em 2018. Foram quatro estações de coleta, três no Ribeirão Cambé e uma no riacho da Mata dos Godoy. A amostragem foi realizada sob licença permanente concedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (nº 28113-1), por meio do SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade). As coletas no Parque Estadual Mata dos Godoy foram realizadas sob licença nº 03/2014-IAP.

Foram realizadas amostragens de acordo com os parâmetros analisados em cada linha de evidência. Para a LEE, LEQ e LET foram necessárias amostras da ictiofauna, e para a LEE foram necessárias ainda amostras de água e métricas da vegetação ripária.

A amostragem da ictiofauna seguiu o seguinte procedimento: iniciando-se com a pesca manual (Figura 24A), na qual três pessoas percorrem um trecho de 50 metros por 40 minutos utilizando rede e puçá, seguida pela pesca elétrica (Figura 24B) no mesmo trecho e com mesmo esforço amostral, usando um gerador portátil de corrente alternada (2,5 kW, 400 V, 2A). Após coletados, os indivíduos foram transferidos para potes de vidro com solução formalina 10% e conservados em álcool 70%, para posterior biometria.

Uma segunda coleta, utilizando apenas a pesca elétrica foi realizada para a captura de ictiofauna para a LEQ e LET. Segundo MOREIRA (2010), a pesca elétrica não altera significativamente o resultado do teste do micronúcleo, possivelmente por não haver tempo suficiente para a ocorrência de divisão celular, necessária para a formação de micronúcleos. Selecionou-se, com base em dados do LETA, uma espécie em cada estação para serem as espécies de interesse da pesquisa. Esta seleção levou em consideração a abundância, o tamanho médio e a ocorrência nas três estações do Ribeirão Cambé. Na amostragem destas, amostras de sangue foram retiradas de oito indivíduos vivos de cada uma das espécies selecionadas (Figura 24C). As amostras de sangue são necessárias para as análises da LET. Em seguida, os peixes das espécies de interesse foram transferidos para sacos plásticos esterilizados e submetidos à refrigeração para seguir para biometria e análise de concentração de cádmio, este último, parâmetro da LEQ (Figura 24D).



Figura 24: Amostragem de ictiofauna. A - Pesca manual no Ribeirão Cambé, B - Pesca elétrica no Ribeirão Cambé, C - Coleta de sangue pela veia caudal e D – Armazenamento de espécies de interesse em sacolas plásticas esterilizadas.

Fonte: Autoria própria

As amostras de sangue foram coletadas em duplicatas com seringas previamente lavadas internamente com heparina, uma solução anticoagulante. Volumes de 5 μL de sangue para cada lâmina foram medidos com micropipeta e transferidos para lâminas de vidro, previamente lavadas com detergente, enxaguadas com água destilada, secas à temperatura ambiente e identificadas com marcador permanente. As gotas de sangue foram espalhadas sobre a lâminas pelo processo de esfregaço, utilizando lamínulas segundo método descrito em CORT e GHISI (2014). Depois de 24h secando sob temperatura ambiente, as amostras de sangue foram fixadas por 10 minutos em metanol padrão (P.A) e armazenadas sob refrigeração até o momento da análise.

As amostras de água para análise de oxigênio dissolvido, DBO_5 e fosfato (parâmetros da LEE) seguiram a Norma Brasileira nº 9898 (ASSOCIAÇÃO

BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1987) e o Guia nacional de coleta e preservação de amostras (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2011). Foram analisados DBO_5 em um prazo de 24h e fosfato em até 48h.

Medidas de temperatura ($^{\circ}C$), pH, condutividade elétrica (mS/cm) e turbidez (NTU), parâmetros da LEE, foram aferidas em campo, utilizando os respectivos equipamentos: peagâmetro portátil TECNOPON, Modelo MPA 210P; condutivímetro portátil INSTRUTHERM, Modelo CD-860; turbidímetro portátil TECNOPON, Modelo TB 1000P.

As métricas da vegetação ripária foram necessárias para o cálculo dos parâmetros do *endpoint* flora. Esta análise foi baseada em FREITAS e MAGALHÃES, (2012) e no estudo de GAMBAROTTO (2014), que analisou a densidade de mata (n° indivíduos/ m^2), média dos diâmetros da mata no 1^o plano, média dos diâmetros da mata no 2^o plano e cobertura serapilheira (%). De acordo com a metodologia aplicada pelos autores, sorteia-se a margem do riacho que deve ser amostrada em cada transecto, sendo cinco transectos no total espaçados por 10 m. Dividiu-se a área amostral em um plano cartesiano, onde cada quadrante foi numerado no sentido horário com área igual a 12 m^2 , sorteando-se dois quadrantes. A circunferência das árvores foi medida com fita métrica considerando indivíduos aproximadamente na altura do peito (de 100 a 150 cm) nos quadrantes sorteados; o primeiro a 3 m da margem e o segundo a 9 m da margem. Com este valor foi possível calcular o diâmetro médio. A Figura 25 ilustra essa amostragem das métricas da vegetação. A porcentagem de serapilheira foi estimada visualmente com o auxílio de um aparato retangular de 1 m^2 .

Também foram medidas largura e profundidade dos trechos dos riachos amostrados, dividindo o trecho de 50 m em 10 transectos com auxílio de fita métrica, trena e régua para melhor caracterização das estações de coleta.

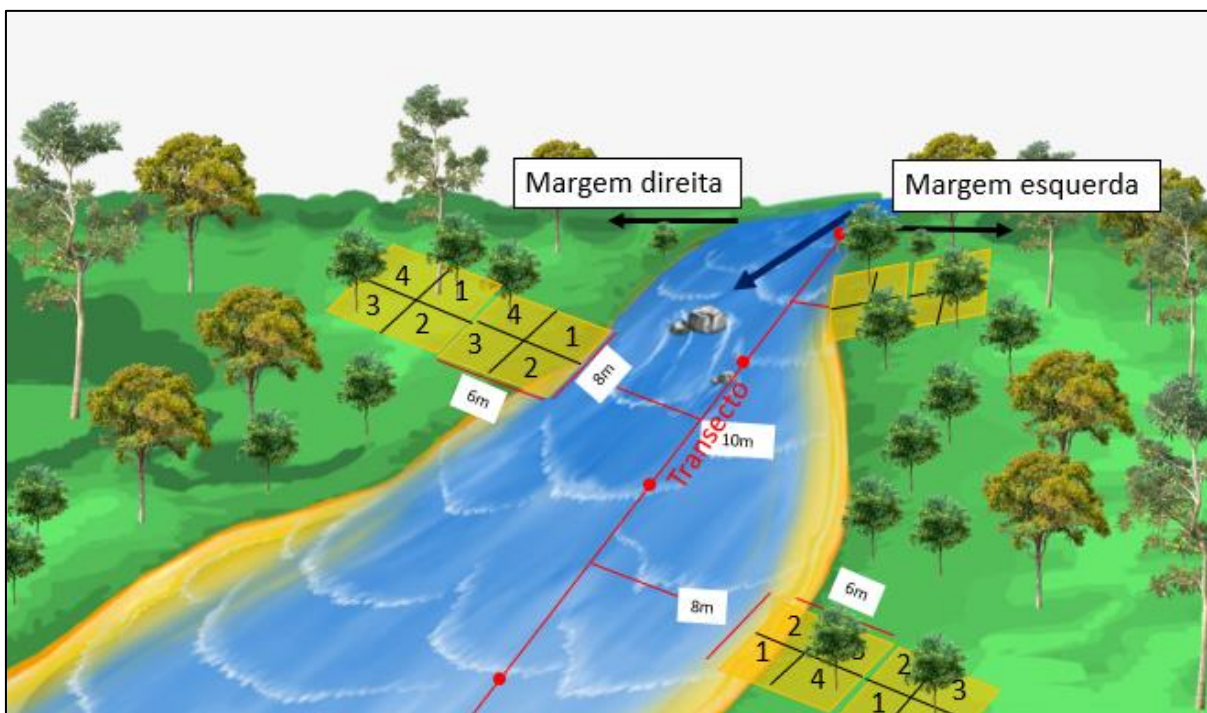


Figura 25: Ilustração da amostragem das métricas da vegetação ripária por meio de sorteio de margem e quadrantes espaçados 3 m.

Fonte: Autoria própria

4.4 PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS

O método de preparação e análise das amostras variou de acordo com a necessidade de cada linha de evidência. O Quadro 3 mostra os parâmetros analisados e os respectivos métodos de preparação, procedimentos analíticos e as referências utilizadas para os seus respectivos desenvolvimentos (para mais detalhes destes processos, vide capítulo Anexos).

Quadro 3: Métodos de preparação, procedimentos analíticos e referências das análises das amostras dos parâmetros avaliados nas linhas de evidência da ARE

	Parâmetro	Preparação da amostra	Processo de análise	Referências
LEQ	Concentração de cádmio em peixes	Secagem, trituração em gral e passagem em malha fina Digestão ácida em bloco digestor (SOLAB)	Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em Forno de Grafite (GF AAS) (Thermo Scientific ICE 3000)	BALCERZAK (2002) MILANOV <i>et. al.</i> (2016)
LET	Presença de alterações nucleares eritrocíticas no sangue	Preparação das lâminas	Leitura das lâminas em microscópio de fluorescência (LEICA modelo DM2500)	VIEIRA <i>et. al.</i> (2016) VERONEZA <i>et. al.</i> (2016)
LEE	Temperatura	Não se aplica	Peagâmetro portátil TECNOPON, Modelo MPA 210P	Manual do equipamento
	pH	Não se aplica	Peagâmetro portátil TECNOPON, Modelo MPA 210P	Manual do equipamento
	Condutividade térmica	Não se aplica	Condutímetro portátil INSTRUTHERM, Modelo CD-860	Manual do equipamento
	Turbidez	Não se aplica	Turbidímetro portátil TECNOPON, Modelo TB 1000P	Manual do equipamento
	Oxigênio dissolvido	Não se aplica	Oxímetro de bancada Thermo ORION 3 STAR	Manual do equipamento
	DBO ₅	Não se aplica	Equipamento automático (VELP SCIENTIFICA BOD SENSOR SYSTEM)	Manual do equipamento
	Concentração de fosfato	Não se aplica	Espectrofotômetro UV e visível (HACH e modelo dr5000)	Manual do equipamento (GARCEZ, 2004)
	Abundância	Espécimes conservados em álcool 70%	Biometria e chaves de identificação	GRAÇA E PAVANELLI (2007)
	Riqueza	Espécimes conservados em	Biometria e chaves de identificação	GRAÇA E PAVANELLI

Parâmetro	Preparação da amostra	Processo de análise	Referências
	álcool 70%		(2007)
Porcentagem de espécies invasoras	Não se aplica	Cálculo com base na riqueza de espécies	Portaria IAP Nº 059, de 15 de abril de 2015 (PARANÁ, 2015)
Índice de diversidade de Shannon	Não se aplica	Cálculo com base na riqueza e abundância relativa de espécies	SHANNON e WEAVER (1964) TOWNSEND, BEGON e HARPER (2006)
Biomassa média	Espécimes conservados em álcool 70%	Medição da massa com balança analítica (Shimadzu, modelo BL3200H)	HAN, PAEK e NA (2016)
Tamanho médio	Espécimes conservados em álcool 70%	Medição do comprimento com ictiômetro	HAN, PAEK e NA (2016)
Diâmetro médio das árvores	Não se aplica	Medição <i>in situ</i> com fita métrica	FREITAS e MAGALHÃES, 2012
Porcentagem de cobertura de serapilheira	Não se aplica	Medição <i>in situ</i> visual com auxílio de um aparato retangular de 1m ²	
Densidade (nº indivíduos/m ²)	Não se aplica	Medição <i>in situ</i> visual	FREITAS e MAGALHÃES, 2012

Fonte: Autoria própria

4.4.1 Linha de evidência química

As análises das concentrações de cádmio em peixes contaram com a orientação da Profa. Dra. Alessandra Furtado da Silva, assim como a estrutura e equipamentos do Laboratório de Análise e Monitoramento Ambiental (LAMA).

No processo de determinação da concentração de cádmio, todos os equipamentos e instrumentos necessários para a manipulação da amostra foram previamente descontaminados com HNO₃ (30% v/v) (Anidrol) por no mínimo 24 horas e enxaguados com água ultrapura (Purelab Option Q Elga, Inglaterra). A preparação das amostras incluiu procedimentos de secagem, trituração e passagem em malha de 63 µm. A digestão ácida em bloco digestor (SOLAB) ocorreu com base em BALCERZAK (2002) e MILANOV *et. al.* (2016), utilizando 6 mL de HNO₃ (65%) e 3 mL de H₂O₂ (30%) para 300mg de amostra. Foram feitas triplicatas de cada amostra. As amostras foram analisadas em Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em Forno de Grafite (GF AAS) modelo Thermo Scientific ICE 3000. Este equipamento foi selecionado por apresentar o limite de detecção mais adequado para a concentração que se espera encontrar nas amostras. Mais detalhes destes procedimentos estão descritos no Anexo 2. As análises foram realizadas no Campus Apucarana da UTFPR pela acadêmica de Graduação em Engenharia Ambiental Bárbara Damásio sob a supervisão do Prof. Dr. Edmilson Antonio Canesin.

Os resultados das concentrações de cádmio foram transformadas para peso úmido, pois a referência encontrada para comparação é em peso úmido. Dessa forma, multiplicou-se os resultados por 0,25, fator descrito como adequado para esta conversão, incluindo para as espécies do genero *Astyanax* (ROCHA *et. al.*, 2015).

Como a ictiofauna variou entre as estações de coleta não foi possível utilizar a mesma espécie em todas elas. Estudos semelhantes, como o de RIGG *et. al.* (2014), XU *et. al.* (2016) e SANTOS *et. al.* (2016) utilizaram diferentes espécies de peixes para análise de concentração de metais. O Quadro 4 mostra quais espécies foram utilizadas em cada estação para a análise da linha de evidência química. Foram levados em consideração para a escolha das espécies: a abundância, a ocorrência nos três pontos de coleta e o tamanho médio dos indivíduos.

Quadro 4: Espécies analisadas nas linhas de evidência química

	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Mata dos Godoy (Ref)
Espécie	<i>Astyanax aff. paranae</i>	<i>Astyanax altiparanae</i>	<i>Astyanax altiparanae</i>	<i>Astyanax aff. paranae</i>

Fonte: Autoria própria

4.4.2 Linha de evidência toxicológica

As análises da presença de alterações eritrocíticas foram conduzidas em parceria com o Laboratório de Ecofisiologia Animal (LEFA – UEL), sob a supervisão da Profa. Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez. Foram analisados danos nas células sanguíneas dos peixes pela análise da presença de micronúcleos e outras alterações eritrocíticas nucleares (núcleos em forma de rim, segmentado ou lobulado), de acordo com MONTEIRO *et. al.* (2011).

Assim como na LEQ, não foi possível capturar as mesmas espécies para as análises da LET. Segundo OOST, BEYER e VERMEULEN (2003) e OBIAKOR *et. al.* (2012), análises de biomarcadores entre diferentes espécies de peixes são problemáticas, pois, o resultado pode estar relacionado apenas às características fisiológicas básicas das espécies, ou seja, a capacidade de resposta, particular de cada espécie, em relação à poluição ambiental. Para reduzir tal erro, selecionou-se espécies da mesma família, Characidae, sendo *Astyanax aff. paranae*, *Astyanax altiparanae*, *Astyanax altiparanae* e *Bryconamericus aff. iheringi* para as estações, respectivamente, P1, P2, P3 Cambé e Ref. SILVA *et. al.* (2015), que avaliaram a frequência de micronúcleo em três espécies de peixe de uma mesma família, Characidae (*Astyanax fasciatus*, *Astyanax altiparanae* e *Characidium fasciatum*), em riachos da bacia do rio Santo Antônio em Goiás, não encontraram diferença significativa na frequência de micronúcleo entre as espécies nas diferentes estações de amostragem, indicando que peixes dessa família podem apresentar respostas semelhantes aos contaminantes.

O procedimento de análise da LET iniciou com a preparação da lâmina. Foram oito indivíduos em cada ponto, em duplicata, totalizando 64 lâminas. Em sequência, as lâminas passaram pelo processo de coloração com laranja de Acridina (C₁₇H₁₉N₃, 0,003%) que, apesar de ser um composto orgânico muito tóxico que exige uma série de cuidados para se evitar a contaminação, foi escolhido porque sua coloração fluorescente evita falsos positivos na análise microscópica. A análise das lâminas foi

realizada em microscópio de fluorescência (LEICA modelo DM2500). Os procedimentos foram baseados em VIEIRA *et. al.* (2016) e VERONEZA *et. al.* (2016), e estão explicados em detalhes no Anexo 3. Testes estatísticos paramétrico e não-paramétrico (ANOVA One Way e Tukey, respectivamente) foram utilizados no R Studio para a verificação de eventuais diferenças significativas entre as variáveis analisadas. O teste de Tukey foi aplicado com o intuito de identificar se a diferença significativa apontada pelo teste ANOVA era significativa em relação às estações do Ribeirão Cambé e à estação do ponto de referência (Ref). Para ambos os testes, o nível de significância adotado foi de 95% ($p = 0,05$).

4.4.3 Linha de evidência ecológica

Foram considerados treze parâmetros, cada um deles com método próprio de avaliação. O pH, condutividade elétrica, temperatura, oxigênio dissolvido e turbidez foram medidos *in situ* por aparelhos portáteis descritos anteriormente. A DBO₅ e o fosfato foram determinados por equipamentos no Laboratório de Saneamento da UTFPR/Campus Londrina, seguindo procedimentos padrões de rotina do laboratório e os manuais dos equipamentos. A riqueza, abundância, índice de biodiversidade de Shannon, porcentagem de espécies invasoras, biomassa média e tamanho médio foram determinados a partir do resultado da identificação das espécies e biometria. Por outro lado, a porcentagem de espécies invasoras foi calculada considerando as espécies exóticas invasoras indicadas pela Portaria IAP Nº 059, de 15 de abril de 2015 (PARANÁ, 2015), sendo estas: *Gymnotus inaequilabiatus* e *Poecilia reticulata*. O diâmetro médio, a densidade de árvores, bem como a porcentagem de cobertura de serapilheira foram determinados utilizando os resultados dos dados de métricas para vegetação ripária durante as campanhas amostrais.

A DBO das amostras foi analisada pelo equipamento automático VELP SCIENTIFICA BOD SENSOR SYSTEM, o qual constitui em uma garrafa âmbar, tampa com sensor e borracha para adição de hidróxido de potássio. A concentração de fosfato foi analisada em espectrofotômetro UV e visível da marca HACH e modelo dr5000, seguindo método adaptado do manual de procedimentos e técnicas laboratoriais voltado para análises de águas e esgotos sanitário e industrial da escola politécnica da Universidade de São Paulo (GARCEZ, 2004). As etapas de cada procedimento estão nos Anexos 4 e 5.

A biometria dos peixes coletados foi realizada no Laboratório de Ecologia Teórica e Aplicada (UTFPR/Campus Londrina) sob orientação do Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira. Este processo consiste na identificação das espécies seguido da pesagem e da determinação do comprimento de cada indivíduo (Figura 26).

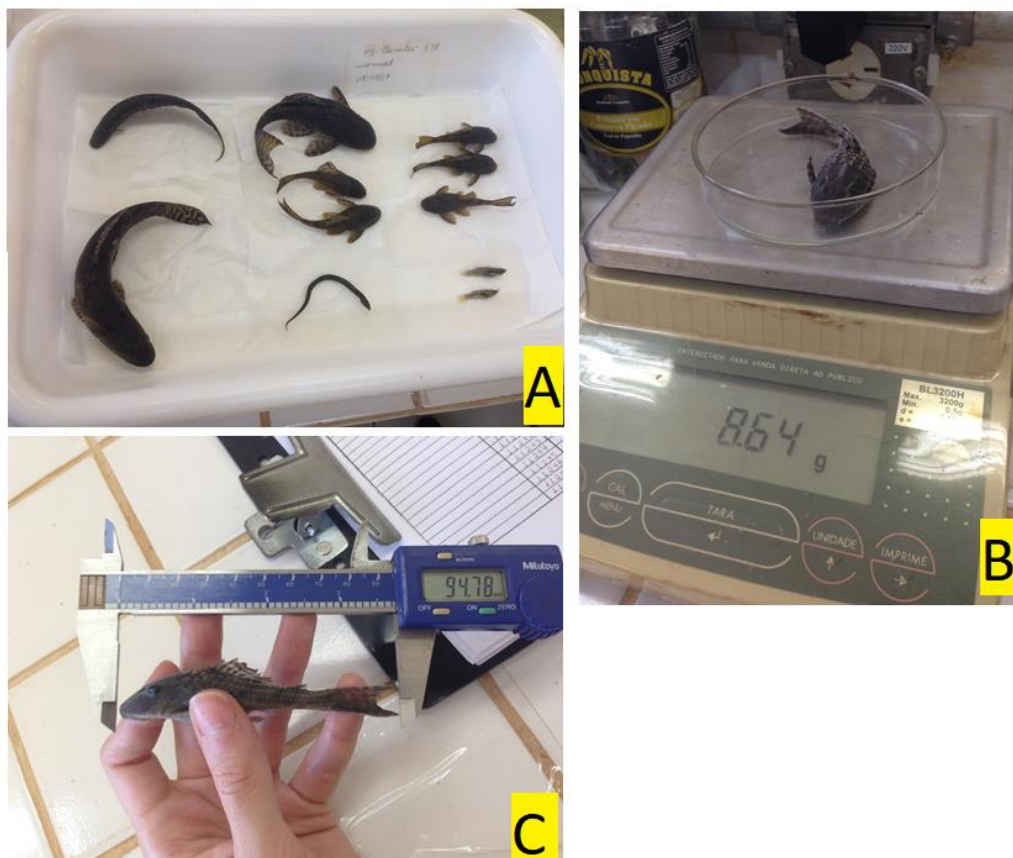


Figura 26: Procedimento de biometria, separação das espécies por chaves de identificação (A), pesagem (B) e medição de comprimento (C).

Fonte: Autoria própria

Os indivíduos foram primeiramente identificados com auxílio de chaves de identificação no livro de GRAÇA e PAVANELLI (2007) ou com a comparação com exemplares presentes no Museu de Zoologia, do Departamento de Biologia Animal e Vegetal da Universidade Estadual de Londrina. A confirmação da identificação de algumas espécies foi realizada com o Prof. Dr. Oscar Akio Shibatta da Universidade Estadual de Londrina. Os exemplares coletados e fixados se encontram no Laboratório de Ecologia Teórica e Aplicada (UTFPR/Campus Londrina). Com o auxílio de um ictiômetro foram medidos os comprimentos dos indivíduos e com balança analítica (Shimadzu, modelo BL3200H) foram mensuradas as biomassas (Anexo 6).

4.5 MÉTODO PARA CÁLCULO E AVALIAÇÃO DOS RISCOS

As principais etapas para o cálculo do risco ecológico são: escalonamento e integração. Essencialmente, os resultados de todos as análises devem ser ajustados para a estrutura da ARE, ou seja, os resultados de todos os testes em uma abordagem de tríade devem ser comparáveis entre as três linhas de evidência (JENSEN e MESMAN, 2006). Por isso, a primeira etapa do cálculo do risco pode ser entendida como escalonamento ou ranqueamento dos resultados. Este procedimento varia de acordo com o tipo de resultado da análise de cada linha de evidência e transforma o valor encontrado, por exemplo a concentração de um metal, em um valor que varia de 0 a 1. O Quadro 5 apresenta as etapas de escalonamento de cada linha de evidência.

Quadro 5: Processo de escalonamento para cada tipo de resultado de análise nas linhas de evidência deste trabalho

LEQ	LET	LEE
Concentração de cádmio (mg/kg)	Frequência de micronúcleos (‰) Frequência de outras alterações (‰)	Índices de biodiversidade Índices limnológicos Composição da vegetação ripária
1º) Medir a concentração $R1 = \text{concentração na amostra}$	1º) Dividir a frequência (‰) por 10 $R1 = X/10$ X é a frequência encontrada	1º) Razão entre os resultados da análise na área de estudo e da referência (ref)* $R1 = X/ref$ X é o resultado da análise
2º) Buscar valor de concentração aceitável** $R2 = \text{referência bibliográfica}$	2º) Escalonar entre os resultados da análise na área de estudo e da referência (ref)* $R2 = (R1 - R1ref)/(1 - R1ref)$	2º) Calcular os valores absolutos $R2 = \log R1$
3º) Razão entre R1 e R2 $R3 = R1/R2$		3º) Soma dos parâmetros $R3 = -1 * \Sigma R2$
4º) Escalonamento $R4 = 1 - (1/(1 + R3))$		4º) Número de parâmetros $R4 = \text{número de parâmetros}$
5º) Correção em relação à referência (ref)* $R5 = (R4 - R4ref)/(1 - R4ref)$		5º) BKX_Triad formula** $R5 = 1 - 10^{-(R3/R4)}$

$R4ref$ valor de R4 para resultado da Mata dos Godoy

*são os resultados das análises na estação da Mata dos Godoy

**formula desenvolvida por JENSEN e MESMAN (2006) específica para LEE

Fonte: Baseado em SANCHEZ (2016) e JENSEN e MESMAN (2006)

O valor de R2 (referência bibliográfica) para a segunda etapa da LEQ foram retirados de RIGG *et. al.* (2014) que organizaram os dados de uma avaliação de risco potencial de diversas substâncias tóxicas para peixes, realizada pela US Army Corps of Engineers/USEPA Environmental Residue-Effects. Para cádmio, o valor de concentração encontrado em que um efeito mínimo adverso foi observado é 0,019 mg/kg em peso úmido (RIGG *et. al.*, 2014).

BKX Triad formula, última etapa para a LEE, é, de acordo com JENSEN e MESMAN (2006), um método de cálculo que pode ser usado para escalonar vários resultados de pesquisas ou testes biológicos. Ainda de acordo com os autores, o método calcula um valor médio geométrico usando uma transformação de logaritmo.

A segunda etapa para o cálculo do risco integrado possui dois estágios. O primeiro processo de integração ocorre dentro de cada linha de evidência (JENSEN e MESMAN, 2006). Ocorre a integração do resultado escalonado de cada parâmetro analisado em cada linha de evidência, dado para cada linha de evidência apenas um valor entre 0 e 1 como resultado final. O segundo estágio é integrar todas as três linhas de evidência em um único risco (JENSEN e MESMAN, 2006). A principal vantagem deste método de integração é o uso de números quantitativos, em vez do qualitativo, pois usando números em vez de símbolos, como fez CHAPMAN (1990), menos informações são perdidas e mais informações sobre a magnitude do risco são fornecidas (JENSEN e MESMAN, 2006). O Quadro 6 mostra os passos para os cálculo desta etapa.

Quadro 6: Etapas do processo de cálculo de integração do risco

Integração para cada linha de evidência	Integração das linhas de evidência em um único risco
1º) Calcular o logaritmo de cada resultado já escalonado (X)	4º) Calcular o logaritmo de cada linha de evidência
$R1 = \log(1 - X)$	$R4 = \log(R3)$
2º) Média dos valores calculados	5º) Média dos valores calculados
$R2 = \text{média } R1$	$R5 = \text{média } R4$
3º) Transformação em valores numéricos	6º) Transformação em valor integrado de risco
$R3 = 1 - (10^{R2})$	$R6 = 1 - (10^{R5})$

Fonte: Baseado em SANCHEZ (2016) e JENSEN e MESMAN (2006)

Para a avaliação do resultado do risco, JENSEN e MESMAN (2006) afirmam que um alto desvio entre os resultados das três linhas de evidência pode desencadear mais pesquisas, pois é necessário mais exatidão para chegar a uma conclusão final sobre a ARE. De acordo com os autores, é necessário um desvio padrão menor que 0,4 entre o resultado das linhas de evidência para que a ARE não necessite de mais estudos, porém este valor pode mudar a depender de critérios dos gestores ambientais. Além disso, o valor do risco encontrado pode ter várias interpretações, a depender do uso escolhido para a área estudada (JENSEN e MESMAN, 2006).

Neste estudo, levou-se em consideração a Resolução CONAMA Nº 357/2005 (BRASIL, 2005) que classifica o corpo d'água de acordo com os seus usos potenciais. O Quadro 7 apresenta a relação entre o resultado da ARE e a possível interpretação levando em consideração os possíveis usos para o Ribeirão Cambé, uma adaptação de JENSEN e MESMAN (2006) que apresentou os usos do solo a depender da situação de risco ambiental que eles se encontram.

Quadro 7: Valores médios do risco e desvio padrão para a tomada de decisões

Desvio padrão (DP)	Risco integrado (RI)	Conclusão de acordo com o uso		
		Indicador geral	Uso aceitável	Uso não aceitável
DP < 0,4	0,0 < RI ≤ 0,25	Sem risco	Todos os usos	-
	0,26 < RI ≤ 0,5	Risco baixo	Recreação de contato primário Irrigação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas
	0,51 < RI ≤ 0,75	Risco moderado	Pesca amadora Recreação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas Irrigação
	0,76 < RI ≤ 1,0	Risco alto	Navegação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas Irrigação Recreação
DP ≥ 0,4 Necessários mais estudos	0,0 < RI ≤ 0,25	Risco baixo	Pesca amadora Recreação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas
	0,26 < RI ≤ 0,5	Risco moderado	Navegação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas
	0,51 < RI ≤ 1,0	Risco alto	Navegação	Consumo humano Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas

Fonte: Adaptado de JENSEN e MESMAN (2006), Resolução Conama 357 e SANCHEZ (2016)

5 RESULTADOS E DESCRIÇÃO DOS RISCOS

5.1 RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA QUÍMICA

Os resultados para as concentrações de cádmio em cada estação de amostragem encontram-se na Figura 27, e o resultado dos riscos para esta linha de evidência na Tabela 2. A menor concentração de cádmio encontrada foi na amostra de peixes da estação da Ref, enquanto o P2 Cambé foi a única estação de amostragem que apresentou valor de concentração de cádmio maior que a estabelecida como limite por RIGG *et. al.* (2014).

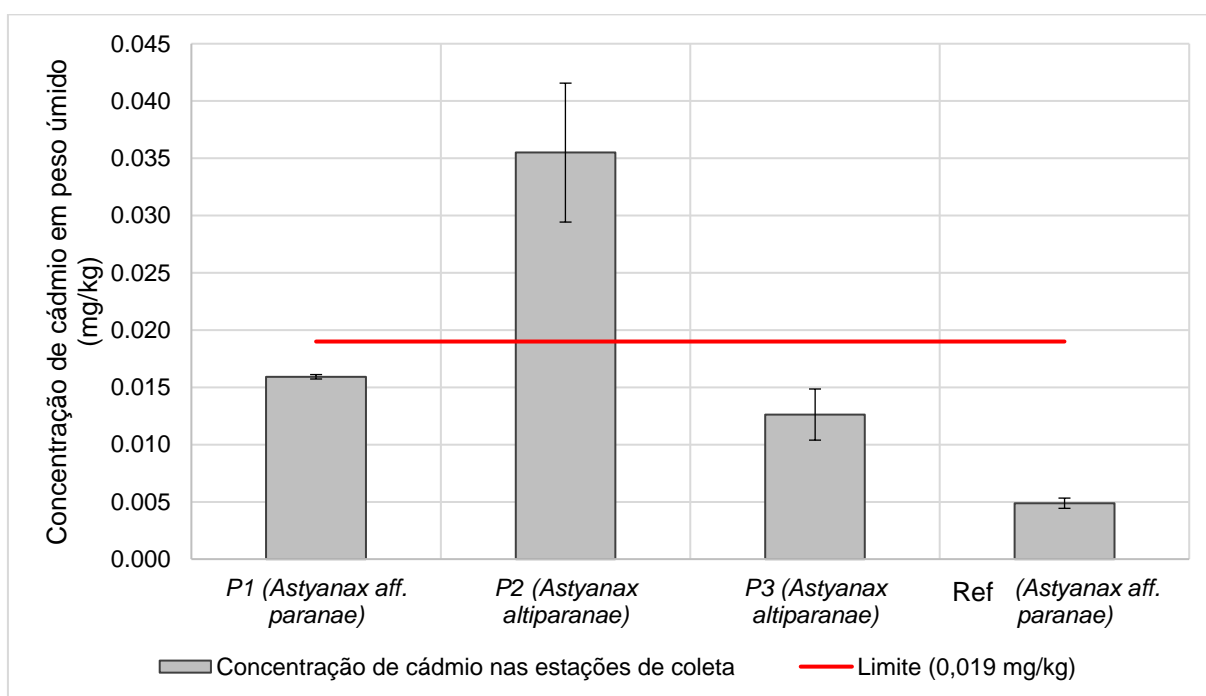


Figura 27: Resultados para LEQ para o *endpoint* de ictiofauna para parâmetro de concentração média e (\pm) desvio padrão de cádmio, destacando em vermelho o limite determinado por RIGG *et. al.* (2014).

Fonte: Autoria própria

Tabela 2: Resultados dos riscos para LEQ

<i>Endpoint</i>	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé
Ictiofauna	0,32	0,56	0,05

Fonte: Autoria própria

Os riscos da LEQ foram baixos para P1 e P3 Cambé, e moderado para P2 Cambé. Este resultado indica que a concentração deste metal pode não ser o principal problema de contaminação da área, apesar de estudos anteriores na região e fontes poluidoras identificadas na formulação do problema, como descarte de resíduos sólidos, escoamento de materiais vindos de postos de gasolina, estradas e outras indústrias próximas como a selaria Igapó, apontarem para o oposto. Como comumente esse metal se associa a outros, é recomendado investigar a concentração de um conjunto de metais no Nível 2 da ARE (Rastreio refinado). Além disso, para assegurar o resultado do baixo risco no nível trófico dos peixes, é recomendado também analisar a concentração do metal no nível trófico abaixo deste. Como o gênero analisado (*Astyanax*) possui entre suas espécies uma preferência por insetos (GRAÇA e PAVANELLI, 2007), recomenda-se a investigação da concentração do metal nos sedimentos. Nos ambientes aquáticos, os metais se concentram principalmente no sedimento, que contribui significativamente nas concentrações de metais nos insetos aquáticos, pois esses organismos vivem, na maior parte do tempo, em contato direto com o sedimento e, dessa forma, podem acumular os metais desse compartimento através da alimentação e da absorção pelo corpo (PEPINELLI *et. al.* 2005). Além disso, é importante investigar a concentração do metal em sedimento pois com a acidificação da água ocorre a maior biodisponibilidade (SALGADO, 2008), o que aumenta o risco para os receptores. Especificamente para Cd, que precipita na água somente a partir de pH 9,34, recomenda-se também a análise do Cd dissolvido na água.

5.2 RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA TOXICOLÓGICA

A linha de evidência toxicológica possui apenas o *endpoint* da ictiofauna. A Tabela 3 mostra o resultado da frequência de micronúcleo e das alterações eritrocíticas, e a Tabela 4 apresenta o resultado dos riscos para o *endpoint* da ictiofauna.

Tabela 3: Resultados para LET para o *endpoint* de ictiofauna para parâmetro de frequência de micronúcleo e de alterações eritrocíticas

Estação de amostragem	Espécie	Frequência média de micronúcleo e erro padrão	Frequência média de alterações eritrocíticas e erro padrão
P1 Cambé	<i>Astyanax aff. paranae</i>	0,292 ± 0,117	1,500 ± 0,295
P2 Cambé	<i>Astyanax altiparanae</i>	0,167 ± 0,089	2,333 ± 0,476
P3 Cambé	<i>Astyanax altiparanae</i>	0,042 ± 0,042	1,667 ± 0,408
Ref	<i>Bryconamericus aff. iheringi</i>	0,00 ± 0,00	0,083 ± 0,083

Fonte: Autoria própria

Tanto a frequência de micronúcleos quanto de alterações eritrocíticas entre as estações, revelaram diferenças significativas de acordo com ANOVA One-Way, respectivamente $p = 0,05$ ($F=2,979$) e $p < 0,001$ ($F=7,352$). O teste de Tukey revelou, para frequência de micronúcleo, apenas diferença significativa entre P2 Cambé e Ref ($p = 0,05$), já para as frequências de alterações eritrocíticas, observou-se diferenças significativas entre P1 Cambé e Ref ($p = 0,04$), P2 Cambé e Ref ($p < 0,001$), P3 Cambé e Ref ($p = 0,02$).

Apesar da diferença ter sido estatisticamente significativa entre as estações do Cambé e a da Mata dos Godoy, a mesma pode não estar associada às características do ambiente, mas apenas às características intrínsecas de cada espécie. FURNUS *et. al.* (2014), que analisaram a frequência de micronúcleo e alterações eritrocíticas em diferentes espécies de uma mesma Ordem (Characiformes) no Rio Paraná, encontraram diferenças nas frequências não relacionadas às características do ambiente, mas às características alimentares de cada espécie. Segundo GRAÇA e PAVANELLI (2007), *Astyanax paranae* e *Astyanax altiparanae* se alimentam preferencialmente de larvas de insetos, enquanto *Bryconamericus aff. iheringi*, preferem vegetais e algas. Dessa forma, os dados apresentados são inconclusivos e, levando-se em consideração que este trabalho é apenas o Nível 1 da ARE, sugere-se mais amostragens para a LET, buscando espécies mais semelhantes, ou a utilização de outros parâmetros.

Tabela 4: Resultados dos riscos para LET

<i>Endpoint</i>	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé
Ictiofauna	0,09	0,13	0,08

Fonte: Autoria própria

De acordo com a Tabela 4, o risco da LET foi baixo para todas as estações do Cambé, sendo um pouco maior para a estação P2 Cambé que apresentou maior frequência de micronúcleo e de alterações eritrocíticas. Este resultado indica que o risco de contaminação na cabeceira do Ribeirão Cambé provavelmente não apresenta efeito tóxico elevado nas espécies de peixes estudadas. Porém, este resultado não foi o esperado, levando-se em consideração outros estudos de toxicidade em peixes realizados na região, como aqueles desenvolvidos por CAMARGO e MARTINEZ (2006), SILVA e MARTINEZ (2007) e WINKALER, SILVA, *et. al.* (2001). Portanto, recomenda-se para o Nível 2 da ARE a coleta de mais indivíduos da mesma espécie, assim como a adição de outros testes de ecotoxicidade.

5.3 RISCO DA LINHA DE EVIDÊNCIA ECOLÓGICA

A linha de evidência ecológica possui 3 *endpoints*: ictiofauna, qualidade da água e flora. Para os parâmetros analisados para a ictiofauna tem-se a Tabela 5 que apresenta as espécies encontradas para cada estação de amostragem. As Tabelas 6, 8 e 9 mostram, respectivamente, os resultados para cada um dos parâmetros dos três *endpoints* selecionados. Os resultados dos cálculos dos riscos para esta linha de evidência estão na Tabela 9.

Tabela 5: Números de indivíduos por espécies organizados por Ordem para cada estação de amostragem

	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Ref
Characiformes				
<i>Astyanax aff. paranae</i>	15	1	0	7
<i>Astyanax bockmanni</i>	20	0	0	0
<i>Astyanax altiparanae</i>	0	10	4	0

	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Ref
<i>Bryconamericus iheringi</i>	0	0	0	1
<i>Characidium aff. zebra</i>	0	0	0	5
<i>Hyphessobrycon anisitsi</i>	0	1	0	0
<i>Hoplias malabaricus</i>	0	0	1	0
Cyprinodontiformes				
<i>Poecilia reticulata</i>	22	57	2	0
<i>Phalloceros harpagos</i>	0	0	0	4
Gymnotiformes				
<i>Gymnotus inaequilabiatus</i>	1	10	4	0
Perciformes				
<i>Geophagus brasiliensis</i>	0	13	0	0
Siluriformes				
<i>Hypostomus ancistroides</i>	0	11	8	0
<i>Hypostomus nigromaculatus</i>				
<i>Rhamdia quelen</i>	0	3	4	0
<i>Imparfinis schubarti</i>	0	0	0	10
<i>Trichomycterus davisii</i>	0	0	0	19
Synbranchiformes				
<i>Synbranchus marmoratus</i>	0	2	1	0

Fonte: Com base em OTA *et. al.* (2018)

Nenhuma das espécies encontradas foi recorrente nas quatro estações de amostragem. Apenas *Astyanax aff. paranae* encontrada em Ref foi também registrada em P1 e P2 Cambé. Esta espécie, presente em riachos das principais bacias da América do Sul, alimenta-se de larvas de insetos e não apresenta cuidado parental, realiza pequenas migrações e reproduz-se de agosto a fevereiro (GRAÇA e PAVANELLI, 2007; OTA *et. al.*, 2018).

A espécie de maior abundância no Ribeirão Cambé foi *Poecilia reticulata*, uma exótica invasora (portaria IAP Nº 059, de 15 de abril de 2015). Segundo IHERING apud GRAÇA e PAVANELLI (2007), esta espécie foi introduzida em várias bacias para controle de larvas de insetos transmissores de doenças. Além desta, outra que se repete nas três estações do Cambé foi *Gymnotus inaequilabiatus*. Esta alimenta-se de larvas de insetos e pequenos peixes, apresenta cuidado parental, reproduz-se de setembro a maio e a sua ocorrência na região pode ser natural, introduzida como isca, ou ainda ter se estabelecido após a inundação da Sete Quedas pela construção do

Reservatório de Itaipu (GRAÇA e PAVANELLI, 2007; OTA *et. al.*, 2018). Estas duas espécies, não presentes na estação Ref, são generalistas e se habitam bem a ambientes impactados.

Das espécies encontradas neste trabalho na estação Ref, apenas *Bryconamericus iheringi* também foi encontrada no estudo de GALVES, JEREP e SHIBATTA (2007) no mesmo riacho. Os autores também encontraram peixes dos gêneros *Trichomycterus* e *Astyanax*, porém o primeiro sem a identificação da espécie, e o segundo foi *Astyanax fasciatus*.

Tabela 6: Resultados dos parâmetros para LEE para o *endpoint* de ictiofauna

Parâmetro	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Ref
Abundância	58	109	23	46
Riqueza	4	9	7	6
Índice de diversidade de Shannon	0,501	0,666	0,750	0,660
Presença de espécies invasoras (%)	39,56	61,47	26,09	0,0
Biomassa média (g)**	3,25 ± 6,11	11,58 ± 20,12	19,68 ± 19,59	1,13 ± 1,13
Tamanho médio (mm)**	43,55 ± 31,26	63,05 ± 76,43	100,84 ± 47,07	39,93 ± 13,00

Fonte: Autoria própria

**Resultados em média ± desvio padrão

Quanto aos resultados da Tabela 6, a estação Ref não apresentou maior riqueza e nem maior índice de diversidade de Shannon como o esperado, porém, é a única estação em que não foram capturadas espécies invasoras. Tanto a biomassa média quanto o tamanho médio foram menores em Ref, assemelhando-se apenas a P1 Cambé.

A estação P2 Cambé foi a que apresentou maior abundância. No entanto, este ponto possui mais de 60% de espécies invasoras; dos 109 indivíduos capturados, 57 são *Poecilia reticulata* e 10, *Gymnotus inaequilabiatatus*. ARTHINGTON (1991) e ENGLUND (1999) documentaram *Poecilia reticulata* como ameaça às espécies nativas, o primeiro na Austrália e o segundo no Havaí. CUNICO, AGOSTINHO e LATINI (2006), que estudaram a influência da urbanização sobre as assembleias de

peixes em riachos em Maringá, encontraram uma correlação negativa entre a densidade de *Poecilia reticulata* e a concentração de fosfato, a concentração de oxigênio dissolvido, a porcentagem de saturação de oxigênio e a profundidade. JÚNIOR *et. al.* (2009) citam *Gymnotus inaequilabiatus* como uma das nativas da bacia do baixo rio Paraná que colonizaram o alto Paraná com sucesso após a construção de Itaipu, que inundou a barreira geográfica natural constituída pelos Saltos de Sete Quedas. Esse potencial invasivo vem, em parte, da capacidade desta espécie de emitir pulsos elétricos, o que facilita seu estabelecimento em ambientes com elevada turbidez (REZENDE, RENESTO e ZAWADZKI, 2009).

A estação P2 Cambé também apresentou maior riqueza, com três espécies a mais que o ponto de referência, sendo apenas uma comum em ambos os pontos. Foi a única em que se capturou *Geophagus brasiliensis*. Esta espécie possui alta tolerância à salinidade, podendo colonizar habitats perturbados, além de apresentar oportunismo trófico, taxas de crescimento rápido e estratégia reprodutiva flexível (MAZZONI e IGLESIAS-RIOS, 2002; ABELHA e GOULART, 2004). Esse potencial para espécie invasora foi relatado por BEATTY *et. al.* (2013) e GRAAF e COUTTS (2010), que apontaram esta espécie, introduzida como peixe ornamental, como um risco para a biodiversidade em riachos na Austrália, principalmente com o aumento da degradação destes riachos.

Quanto às espécies da ordem Siluriformes, P2 Cambé apresentou *Hypostomus ancistroides*, que já foi encontrada tanto em ambientes preservados (CASATTI, 2005) quanto impactados (CASATTI, FERREIRA e CARVALHO, 2009), e *Rhamdia quelen*, que consegue viver em diversos ambientes (ARAÚJO e TEJERINA-GARROII, 2007; GOMES *et. al.*, 2000). Por outro lado, na estação Ref *Imparfinis schubarti*, que apresenta menor resistência a alterações no ambiente, preferindo ambientes de corredeira e uma dieta quase exclusiva de insetos (SEVERO-NETO, TERESA e FROEHLICH, 2015), e *Trichomycterus davisii*, característico de ambientes não degradados (CASATTI, 2002; ABILHOA, DUBOC e FILHO, 2008; SOUZA *et. al.*, 2014).

O ponto que apresentou maior Índice de Shannon foi o P3 Cambé, ou seja, ele possui a melhor proporção de espécies pela abundância de cada uma delas, isso indica, inicialmente, uma reduzida dominância, ou seja, poucas espécies são mais abundantes que as outras, porém, os valores são muito próximos. Quanto à biomassa e ao tamanho médio, os desvios padrões foram bastante elevados,

indicando grande variação no tamanho dos indivíduos, podendo ser devido à espécie, à idade e até à qualidade ambiental. A estação Ref apresentou os menores valores para ambos os parâmetros, sendo semelhante a P1 Cambé e bastante diferente de P3 Cambé. Esta semelhança e a diferença podem estar relacionadas apenas às propriedades físicas dos trechos (largura e profundidade) e não as características ambientais que são objeto deste trabalho.

Tabela 7: Resultados dos parâmetros para LEE para o *endpoint* de qualidade de água

Parâmetro	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Ref
Temperatura (°C)	21,80 ± 0,15	20,50 ± 1,58	19,68 ± 1,76	20,5 ± 2,9
pH	6,36 ± 0,05	6,94 ± 0,16	6,52 ± 0,01	7,03 ± 0,81
Condutividade elétrica (µS/cm)	102,12 ± 21,45	85,83 ± 15,32	107,84 ± 17,20	73,50 ± 19,09
Turbidez (NTU)	11,23 ± 6,33	14,84 ± 9,86	59,59 ± 77,02	8,31 ± 4,23
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5,36 ± 0,85	6,48 ± 2,39	5,22 ± 4,36	5,08 ± 2,00
DBO ₅ (mg/L)	12,00 ± 2,83	5,5 ± 0,71	7,00 ± 0,00	2,00 ± 1,41
Fosfato (mg/L)	0,009 ± 0,0014	0,023 ± 0,0101	0,028 ± 0,0029	0,001±0,0004

Fonte: Autoria própria
Resultados em média ± desvio padrão

Pelos dados apresentados na Tabela 7, observa-se que os valores dos parâmetros de temperatura, pH e oxigênio dissolvido são muito semelhantes para todas as estações de amostragem. A estação de coleta Ref apresentou a menor condutividade elétrica, menor turbidez, menor DBO₅ e menor concentração de fosfato, resultado esperado por se tratar de um riacho inserido em área de conservação ambiental. A estação P3 Cambé apresentou elevadas turbidez e condutividade elétrica, possivelmente relacionado com a erosão próxima a margem, bem como à elevada descarga de água pluvial coletada nos bairros residenciais do entorno devido a falta de vegetação ripária e grande inclinação do relevo. A estação P1 Cambé apresentou a maior DBO₅, porém os outros parâmetros foram semelhantes àqueles registrados na estação Ref. A condutividade elétrica foi maior que 100 µS/cm,

indicando ambiente impactado, nas estações P1 e P3 Cambé. Dessa forma, em termos de risco, percebe-se que os parâmetros se equilibram, um valor maior em um parâmetro acaba compensando um valor menor em outro parâmetro. Neste caso, pode aplicar pesos para os parâmetros mais significativos, como no estudo de DAGNINO *et. al.* (2008), porém não foi o caso deste trabalho.

Tabela 8: Resultados dos parâmetros para LEE para o *endpoint* de flora (média dos dois planos mensurados) dados em média e desvio padrão

Parâmetro	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé	Ref
Diâmetro médio (cm)	6,36 ± 3,80	3,28 ± 4,04	1,67 ± 3,05	21,40 ± 11,20
Cobertura de serapilheira (%)	88,33 ± 16,02	26,33 ± 28,99	13,33 ± 24,22	93,33 ± 10,33
Densidade (nº indivíduos/m ²)	0,54 ± 0,66	0,14 ± 0,16	0,19 ± 0,32	0,76 ± 0,19

Fonte: Autoria própria

Os resultados dos parâmetros analisados para a flora (Tabela 8) indicam que a Mata dos Godoy possui, como esperado, a maior densidade florestal, maior média de diâmetros do estrato arbóreo e maior cobertura de serapilheira. Dentre as estações do Cambé, a que apresentou, de maneira geral, a melhor condição foi o P1 Cambé, sendo a única estação do Cambé em que a LEI Nº 12.651, de 25 de maio de 2012 (BRASIL, 2012), é respeitada. Porém, o diâmetro médio para P1 foi bastante inferior ao da Mata dos Godoy, isso pode ser devido a diversos fatores, tais como composição de espécies, idades florestais diferentes, e qualidade do hábitat.

Os resultados de P2 e P3 são reflexo do desmatamento da mata ciliar, com grandes espaços junto à margem sem qualquer vegetação. Isto também pode explicar os elevados desvios padrões dessas estações. As porcentagens de cobertura de serapilheira nessas estações foram baixas em comparação com a estação de referência. O percentual de cobertura de serapilheira, segundo MEDEIROS e TOREZAN (2012), é um parâmetro muito importante, pois o depósito deste material no solo interfere na ciclagem de nutrientes, na transferência de energia e na quantidade de água que penetra no solo.

Tabela 9: Resultados dos riscos para LEE para cada *endpoint* e do risco integrado para a LEE

<i>Endpoint</i>	P1 Cambé	P2 Cambé	P3 Cambé
Qualidade da água	0,42	0,45	0,53
Ictiofauna	0,90	0,94	0,93
Flora	0,41	0,80	0,86
Risco integrado	0,67	0,82	0,83

Fonte: Autoria própria

Os riscos para a LEE foram moderados para P1 Cambé e alto para P2 e P3 Cambé. Este resultado é bastante alarmante principalmente para a composição da ictiofauna e para a composição da vegetação. O risco elevado é preocupante para o gerenciamento da área e sugere a implementação de medidas corretivas, afim de trazer o risco para um nível aceitável.

O *endpoint* da LEE que apresentou maior risco foi o de ictiofauna. Este risco está relacionado com a presença de espécies invasoras e presença de generalistas que se diferenciaram muito das encontradas na estação Ref. Já o *endpoint* de menor risco foi o de qualidade de água. As estações do Cambé não apresentaram uma diferença elevada em relação a estação de referência para resultar em um risco elevado. A P3 Cambé foi a única estação com risco maior que 0,50, provavelmente por causa do valor elevado de turbidez. Por fim, o risco do *endpoint* de flora foi elevado para as estações do Cambé que não possuem os 30 m de mata ciliar preservados: P2 e P3 Cambé.

A estação P3 Cambé é a que mais se diferencia da estação Ref. A retirada da vegetação ciliar impacta os parâmetros físicos e químicos da água, aumentando a vulnerabilidade ao processo de erosão, o qual pode estar relacionado com o aumento da turbidez. Estas alterações impactam a composição da ictiofauna, favorecendo o estabelecimento de espécies generalistas que conseguem sobreviver em ambiente com alta turbidez e reduzida produtividade biológica.

5.4 RISCO INTEGRADO

O resultado do risco integrado foi alto para P1 e P2 Cambé e baixo para P3 Cambé (Figura 28). De acordo com o Quadro 1, por apresentar risco baixo na LEQ e na LET, porém risco alto na LEE, o risco integrado elevado em P1 Cambé não é devido à concentração de Cd ou à toxicidade, podendo estar relacionado com a presença de espécies invasoras. Ainda de acordo com o Quadro 1, o risco baixo da LET, risco moderado da LEQ e o risco elevado da LEE na estação P2 Cambé, indicam que provavelmente o Cd não está biodisponível ou a alteração não é devida a este químico tóxico.

O risco integrado elevado em P2 Cambé está mais provavelmente relacionado com a redução da vegetação ripária do que com a contaminação química. Por fim, para P3, levando em consideração o Quadro 1, o baixo risco da LEQ e da LET e o alto risco da LEE apontam para um risco voltado para as características ecológicas do sistema, como a supressão da vegetação ciliar.

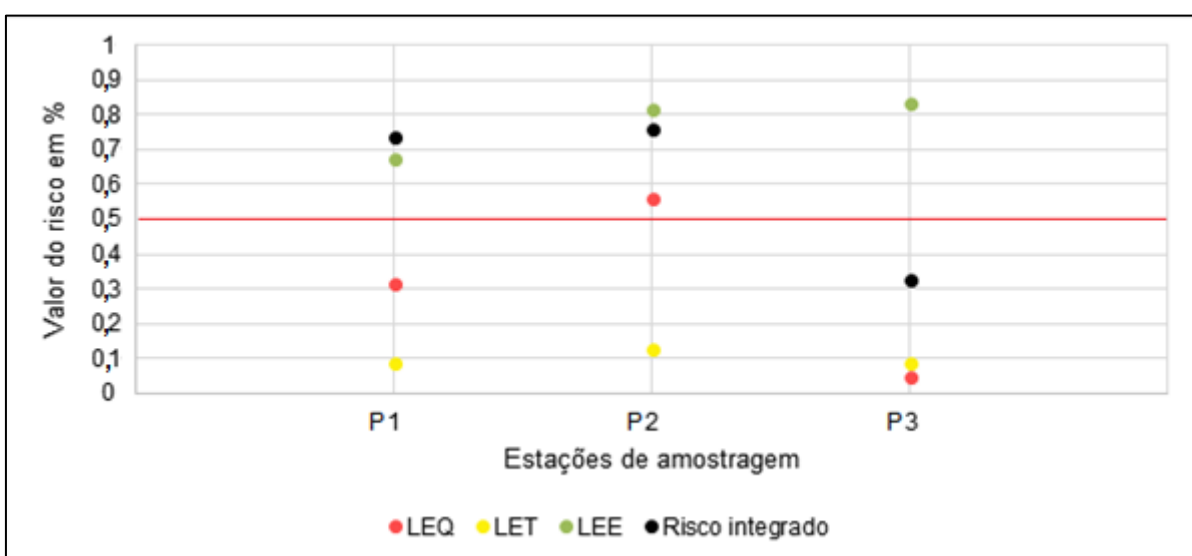


Figura 28: Valores de risco para cada linha de evidência e valor do risco integrado em porcentagem para as três estações de amostragem do Ribeirão Cambé, detacando em vermelho riscos de 50%.

Fonte: Autoria própria

De acordo com o Quadro 7, o risco elevado em P1 e P2 Cambé indicam um uso aceitável apenas para navegação, e o risco baixo em P3 Cambé indica um aceitável uso para recreação de contato primário e irrigação. Porém, esse resultado não pretende substituir a legislação, mas apenas ser um indicativo de possíveis usos,

como foi proposto por JENSEN e MESMAN (2006) para usos do solo. Além disso, a legislação brasileira leva em consideração outros parâmetros muito importantes em relação a qualidade de água que não foram avaliados neste trabalho.

O desvio padrão da ARE foi 0,22, menor que 0,40 indicado por JENSEN e MESMAN (2006) como necessário para serem exigidos mais estudos. Porém, a ARE apresenta algumas limitações: 1) conjunto de dados limitados na LET devido a falta da mesma espécie na análise; 2) falta de análise de mais contaminantes e das interações entre eles na LEQ. Assim, o Nível 2 desta ARE é necessário para que o risco integrado seja mais assertivo e realmente reflita a realidade de vulnerabilidade do ecossistema da cabeceira do Ribeirão Cambé.

6 GERENCIAMENTO DO RISCO

O cenário de risco, com base nos resultados, indica que a cabeceira do Ribeirão Cambé se encontra em estado de risco, mas tal risco provavelmente não está diretamente associado à contaminação por agentes tóxicos. Assim, o gerenciamento do risco deve ser voltado para técnicas que busquem o reequilíbrio ambiental que não envolva medidas de descontaminação química, pelo menos não de forma urgente. De acordo principalmente com o resultado da LEE, duas medidas se destacam como aquelas que requerem mais atenção dos gestores: controle de espécies invasoras e revegetação da mata ciliar.

O risco elevado da composição da ictiofauna na LEE, devido a grande diferença em comparação ao ambiente de referência, aponta para uma situação alarmante, principalmente pela entrada de espécies invasoras. Porém, este estudo não é conclusivo sobre as interrelações entre as espécies, e qualquer medida de controle direto, como pesca das espécies invasoras ou construção de barreiras (DECHOUM, 2009; MACK *et. al.*, 2000; ALLENDORF e LUNDQUIST, 2003), podem ser mais nocivas do que benéficas. São necessários estudos mais avançados sobre a interrelação entre as espécies de peixes para se tomar uma medida assertiva quanto

a este risco. No entanto, devido ao risco alarmante, sugere-se a tomada de medidas menos invasivas. O estudo de VEIGA, NALLY e SOSTOA (2018) forneceu evidências de que a atual condição de recuperação das zonas ribeirinhas em riachos no nordeste da Espanha é suficiente para mitigar os efeitos negativos da poluição nos peixes. Portanto, a medida de gestão inicial pode ser o cercamento da área para melhor estabilização das margens do riacho.

O risco que a flora ripária se encontra também é alarmante. Um projeto de restauração e reflorestamento da mata ciliar na cabeceira do Ribeirão Cambé é fundamental para o controle deste risco. Para isso, um diagnóstico mais específico para vegetação deve ser elaborado afim de determinar as espécies mais abundantes, tipo de solo específico, declinação do relevo, além da natureza e do grau de influência da urbanização do entorno. Existe um indicativo de que o gestor da área deve iniciar o gerenciamento da cabeceira do Ribeirão Cambé com ações de restauração da mata ciliar. A presença da vegetação ciliar tem papel fundamental no controle da qualidade da água e, conseqüentemente, na composição da ictiofauna (VOGEL, ZAWADZKI e METRI, 2009).

O risco integrado elevado nas estações P1 e P2 indicam a necessidade de um plano de monitoramento na cabeceira do Ribeirão Cambé. O monitoramento periódico em áreas de risco pode prevenir a ocorrência de acidentes (EPA, 1998; JENSEN e MESMAN, 2006). Portanto, devido aos riscos elevados para a LEE, sugere-se o monitoramento dos mesmos parâmetros para o *endpoint* de qualidade de água, flora e ictiofauna.

Dessa forma, o gerenciamento dos riscos apresentados neste trabalho destaca três principais medidas mais prováveis que o gestor deve aplicar na cabeceira do Ribeirão Cambé: cercamento da área, iniciação de projeto de restauração da mata ciliar e a elaboração do plano de monitoramento da área.

Quanto à continuidade no processo da ARE, devido às limitações apresentadas anteriormente quanto à necessidade de mais parâmetros para um resultado mais exato do cenário de risco, recomenda-se a elaboração do Nível 2 (Rastreio refinado). O estudo de NIEMEYER, SILVA e SOUSA (2007) resultou em uma ARE de Nível 3, com trabalhos publicados em 2015 (NIEMEYER *et. al.*, 2015) e em 2017 (NIEMEYER, DA SILVA e SOUSA, 2017). EPA (1998) afirma que a ARE é frequentemente interativa. Portanto, a continuação deste projeto é altamente recomendada. Para elaboração do Nível 2 desta ARE, com base nos resultados das linhas de evidência,

recomenda-se aumentar os *endpoints* e os parâmetros para a LEQ e LET.

Para o *endpoint* de ictiofauna na LEQ faz-se necessário a análise de mais metais, visto que as fontes de contaminação são diversas e estudos anteriores encontraram presença elevada de outros metais como Pb, Cu e Zn. Além disso, recomenda-se o *endpoint* de qualidade de sedimento para a LEQ, para não somente avaliar o risco em um nível trófico mais baixo que peixes, mas também para se avaliar o risco potencial de contaminação no caso, por exemplo, de uma acidificação das águas.

Para a LET recomenda-se mais amostragens, buscando comparação da mesma espécie, ou pelo menos do mesmo gênero. Porém, como a qualidade do ambiente altera a composição biótica, tem-se a alternativa de se avaliar outros grupos do ecossistema, ou aplicar outros testes, como teste de toxicidade em invertebrados no sedimento (MARZIALI *et. al.*, 2017) ou utilização de organismos modelo (por exemplo, *Eisenia andrei*, *Folsomia candida*, *Heterocypris incongruens*) para avaliar os efeitos tóxicos em termos de inibição de parâmetros ecotoxicológicos, tais como taxa de sobrevivência e desempenho reprodutivo (DAGNINO *et. al.*, 2008). Além disso, ressalta-se a importância de utilizar mais de um biomarcador (VIEIRA *et. al.*, 2016) na LET. SANTOS *et. al.* (2016), por exemplo, utilizaram na LET da ARE seis biomarcadores diferentes, incluindo biomarcador de neurotoxicidade, biomarcadores de biotransformação enzimática, ensaio do cometa e estresse oxidativo.

Por fim, a ARE avaliou o risco ecológico na cabeceira do Ribeirão Cambé. A caracterização do risco permitiu pesar algumas alternativas de intervenção para redução dos principais riscos em função da exposição aos estressores. A necessidade da continuação do estudo devido às limitações faz parte do processo da ARE, que prevê reduções na incerteza dos resultados. O gerenciamento do risco prioriza as alternativas de manejo do risco de forma mais assertiva já que a ARE proporcionou uma visão mais sistêmica dos impactos ambientais no Ribeirão Cambé.

7 REFERÊNCIAS

- ABELHA, M. C. F.; GOULART, E. Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (*Osteichthyes, Cichlidae*) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 37-45, 2004.
- ABILHOA, V.; DUBOC, L. F.; FILHO, D. P. D. A. A comunidade de peixes de um riacho de Floresta com Araucária, alto rio Iguaçu, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, n. 2, p. 238–246, 2008.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas efluentes líquidos**. Brasília. 2011.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Portal da Qualidade das Águas. Indicadores de Qualidade - Índice de Qualidade das Águas (IQA), 2016. Disponível em: <<http://portalpnqa.ana.gov.br/indicadores-indice-aguas.aspx>>. Acesso em: 8 junho 2018.
- AI-SABTI, K.; METCALFE, C. D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research**, v. 343, p. 121-135, 1995.
- AKPOILIH, B. U. Fish Ecogenotoxicology: An Emerging Science, an Emerging Tool for Environmental Monitoring and Risk Assessment. **Environmental & Analytical Toxicology**, v. 3, n. 1, 2013. ISSN ISSN:2161-0525 JEAT.
- ALLAN, J. D.; CASTILLO, M. M. **Stream Ecology: Structure and function of running waters**. 2ª. ed. [S.l.]: Springer, 2007.
- ALLENDORF, F. W.; LUNDQUIST, L. L. Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. **Conservation Biology**, v. 17, n. 1, p. 24-30, 2003
- AMARO, A. Consciência e Cultura do Risco nas Organizações. **Territorium, Coimbra**, n. 12, p. 5-9, Setembro 2005. ISSN 1647-7723.
- AQUINO, A. R.; PALETTA, F. C.; ALMEIDA, J. R. **Risco ambiental**. São Paulo: Blucher, 2017.
- ARAÚJO, N. B.; TEJERINA-GARROII, F. L. Composição e diversidade da ictiofauna em riachos do Cerrado, bacia do Ribeirão Ouvidor, alto rio Paraná, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 24, n. 4, p. 981-990, 2007.
- ARTHINGTON, A. H. Ecological and genetic impacts of introduced and translocated freshwater fishes in Austrália. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic**, v. 48, n. 1, p. 33-43, 1991.
- ASHTON, D.; BENSTEAD, R.; BRADFORD, P.; WHITEHOUSE, P. **An ecological risk assessment framework for contaminants in soil**. Environment Agency. [S.l.]. 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 9898: **Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Rio de Janeiro. 1987.
- BAKHTIYARI, A. R. Concentrations and fluctuations of lead and cadmium in the tissues of different fish species of the Haraz River. **Journal of Marine Sciences and Technology**, v. 1, n. 1, p. 37-45, 2002.

BALCERZAK, M. Sample digestion Methods for the determination of traces of precious metals by spectrometric techniques. **Analytical sciences**, v. 18, p. 737-750, 2002.

BARTOLO, R.; BAYLISS, P.; VAN DAM, R. **Ecological risk assessments for Australia's Northern. Land & Water Australia**. Environmental Research Institute of the Supervising Scientist, National Centre for Tropical Wetland Research. Darwin NT. 2008.

BATTISTUZ, G. Z.; ZARDO, E. F. PARANÁ - **Estudo Estatístico 20 Anos de Turismo**. Curitiba: SEBRAE, 2014.

BEATTY, S. J.; MORGAN, D. L.; KELEHER, J.; ALLEN, M. G.; SARRE, G. A. The tropical South American cichlid, *Geophagus brasiliensis* in Mediterranean climatic south-western Australia. **Aquatic Invasions**, v. 8, n. 1, p. 21–36, 2013.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas**. 4ª ed. São Paulo: Artmed, 2007.

BOJSEN, B. H.; BARRIGA, R. Effects of deforestation on fish community structure in Ecuadorian Amazon streams. **Freshwater Biology**, v. 47, p. 2246–2260, 2002.

BOYD, C. E. **Water Quality: An Introduction**. [S.l.]: Springer, 2015.

BRASIL, RESOLUÇÃO CONAMA Nº 237, de 19 de dezembro de 1997. **Dispõe sobre a revisão e complementação dos procedimentos e critérios utilizados para o licenciamento ambiental**. D.O.U. nº 247 de 22 de dezembro de 1997. Brasília, p. 30841-30843. 1997. (1).

BRASIL. LEI Nº 12.651, DE 25 DE MAIO DE 2012. **Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa**, Brasília, mai 2012.

BRASIL. RESOLUÇÃO CONAMA nº357, 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. DOU nº 053, Brasília, 2005. 58-63.

CALDAS, L. Q. D. A. **Gestão e avaliação de risco em saúde ambiental**. 20ª ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1999.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to *in situ* tests in an urban stream in southern Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 61–69, 2006.

CAMPOS, E. H.; ALVES, R. R.; SERATO, D. S.; RODRIGUES, G. S. S. C.; RODRIGUES, S. C. Acúmulo De Serapilheira Em Fragmentos de Mata Mesofítica e Cerrado Stricto Senso em Uberlândia-MG. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 20, n. 1, p. 189-203, 2008.

CAMPOS, J. B. A pecuária e a degradação social e ambiental do Noroeste do Paraná. **Cadernos da biodiversidade**, v. 2, n. 1, 1999.

CAMPOS, J. C. D.; LANDGRAF, P. R. C. Análise da regeneração natural de espécies florestais em matas ciliares de acordo com a distância da margem do lago. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 2, p. 143-151, 2001.

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. Assessment of the Piscine Micronucleus Test as an *in situ* Biological Indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, p. 2123-2136, 1990.

CASATTI, L. alimentação dos peixes em um riacho do parque estadual morro do diabo, bacia do alto rio paraná, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 2, n. 2, 2002.

CASATTI, L. C.; FERREIRA, C. D. P.; CARVALHO, F. R. Grass-dominated stream sites exhibit low fish species diversity and dominance by guppies: an assessment of two tropical pasture river basins. **Hydrobiologia**, v. 632, p. 273–283, 2009.

CASATTI, L. Fish assemblage structure in a first order stream, southeastern Brazil: longitudinal distribution, seasonality, and microhabitat diversity. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 75-83, 2005.

CAVAS, T.; GARANKO, N. N.; ARKHIPCHUK, V. V. Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 69–574, 2005.

CHANDRUDU, M. V.; REDDY, A. S.; RADHAKRISHNAIAH, K. Effect of subacute concentration of cadmium on the energetics of freshwater mussel *Lamellidens marginalis* (LAM.) and fish *Labeo rohita*. **Nature, Environment and Pollution Technology**, v. 6, n. 3, p. 387-392, 2007.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. **The science of the total environment**, Amsterdam, v. 97, n. 98, p. 815-825, 1990.

CORDEIRO, G. G.; GUEDES, N. M.; KISAKA, T. B.; NARDOTO, G. B. Avaliao rápida da integridade ecológica em riachos urbanos na bacia do rio Corumbá no Centro-Oeste do Brasil. **Rev. Ambient. gua**, Taubaté, v. 11, n. 3, p. 702-710, 2016.

CORT, C. C. W. D.; GHISI, N. D. C. Uso de alteraes morfológicas nucleares em *Astyanax* spp. para avaliao da contaminao aquática. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 31-39, 2014.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliao. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, P. M.; LOBOA, J.; SANDRA C.; MARTINS, M.; FERREIRA, A. M.; CAETANO, M.; VALE, C.; T. DELVALLS, T. D; COSTA, M. H. Genotoxic damage in *Solea senegalensis* exposed to sediments from the Sado Estuary (Portugal): Effects of metallic and organic contaminants. **Mutation Research**, v. 654, p. 29–37, 2008.

COUCEIRO, S. R. M.; HAMADA, N.; LUZ, S. L. B.; FORSBERG, B. R.; PIMENTEL, T. P. Deforestation and sewage effects on aquatic macroinvertebrates in urban streams in Manaus, Amazonas, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 575, n. 1, p. 271–284, 2007.

CRVECOEUR, S.; DEBACKER, V.; JOAQUIM-JUSTO, C.; GOBERT, S.; SCIPPO, M. L.; DEJONGHE, W.; MARTIN, P.; THOM, J. P. Groundwater quality assessment of one former industrial site in Belgium using a TRIAD-like approach. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2461-2466, 2011. ISSN doi:10.1016/j.envpol.2011.06.026.

CUNICO, A. M.; AGOSTINHO, A. A.; LATINI, J. D. Influência da urbanização sobre as assembleias de peixes em três córregos de Mar os de Maringá, Paraná. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 4, p. 1101–1110, 2006.

DAGNINO, A.; SFORZINI, S.; DONDERO, F.; FENOGLIO, S.; BONA, E.; JENSEN, J.; VIARENGO, A. A “Weight-of-Evidence” Approach for the Integration of Environmental “Triad” Data to Assess Ecological Risk and Biological Vulnerability. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 4, n. 3, p. 314–326, 2008.

DAMATO, M.; BARBIERI, E. Estudo da toxicidade aguda e alterações metabólicas provocadas pela exposição do Cádmio sobre o peixe *Hyphessobrycon callistus* utilizado como indicador de saúde ambiental. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 574-581 , 2012.

DAS, S.; KHANGAROT, S. B. Bioaccumulation and toxic effects of cadmium on feeding and growth of an Indian pond snail *Lymnaea luteola* under laboratory conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182, n. 1–3, p. 763–770, 2010.

DECHOUM, M. D. S. Métodos e técnicas de erradicação e controle de espécies exóticas invasoras aplicáveis em unidades de conservação: as melhores práticas. **IX Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação (CBUC)**. Curitiba: [s.n.]. 2009

DEPLEDGE, M. H.; AAGAARD, A.; GYORKOST, P. Assessment of Trace Metal Toxicity Using Molecular, Physiological and Behavioural Biomarkers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 1-3, p. 19-27, 1995.

DRAG-KOZAK, E.; SOCHA, M.; GOSIEWSKI, G.; ŁUSZCZEK-TROJNAR, E.; CHYB, J.; POPEK, W. Protective effect of melatonin on cadmium-induced changes in some maturation and reproductive parameters of female Prussian carp (*Carassius gibelio*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 10, p. 9915-9927, 2018.

EISSA, B. L.; OSSANA, N. A. F. L.; SALIBIA, A. Quantitative Behavioral Parameters as Toxicity Biomarkers: Fish Responses to Waterborne Cadmium. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 2009. ISSN DOI 10.1007/s00244-009-9434-4.

ENGLUND, R. E. The impacts of introduced Poeciliid fish and Odonata on the endemic Megalagrion (Odonata) damselflies of Oahu Island, Hawaii. **Journal of Insect**, v. 3, n. 3, p. 225-243, 1999.

ENVIRONMENT AGENCY. 2008. An ecological risk assessment framework for contaminants in soil. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/297677/scho0908booz-e-e.pdf>. Acesso em 18/10/2016.

EPA, UEPA. **Guidelines for Ecological Risk Assessment**. Washington, DC. 1998.

ERGENE, S.; CAVAŞ, T.; CELIK, A.; KÖLELI, N.; KAYA, F.; KARAHAN A. Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Goksu Delta (Turkey): genotoxic damage in relation to water pollution. **Ecotoxicology**, v. 16, p. 385–391, 2007.

ESSINGTON, T. E.; CARPENTER, S. R. Nutrient Cycling in Lakes and Streams: Insights from a Comparative Analysis. **Ecosystems**, v. 3, n. 2, p. 131-143, 2000.

ESTEVEES, F. D. **Fundamentos de Limnologia**. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

FALASCO, E.; PIANO, E.; DORETTOS, A.; FENOGLIOF S.; BONA, F. Lentification in Alpine rivers: patterns of diatom assemblages and functional traits. **Aquatic Sciences**, v. 80, 2018.

FATIMA, M.; USMANI, N.; FIRDAUS, F.; ZAFEER, M. F.; AHMAD, S.; AKHTAR, K.; DAWAR HUSAIN, S. M.; AHMAD, M. H.; ANIS, E.; MOBARAK, H. M. In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 177, p. 17-30, 2015.

FINDLAY, S. J.; TAYLOR, M. P. Why rehabilitate urban river systems? **Area**, v. 38, n. 3, 2006.

FRANCIS, R. A. Urban rivers: novel ecosystems, new challenges. **WIREs Water**, v. 1, p. 19-29, 2014.

FREITAS, W. K.; MAGALHÃES, L. M. S. Métodos e parâmetros para estudo da vegetação métodos e parâmetros para estudo da vegetação. **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 4, p. 520-540, 2012.

FRENZILLIA, G.; SCARCELLI, V.; BARGA, I. D.; NIGRO, M.; FÖRLIN, L.; BOLOGNESI, C.; STURVE, J. DNA damage in eelpout (*Zoarces viviparus*) from Göteborg harbour. **Mutation Research**, v. 552, p. 187–195, 2004.

FURNUSA, G. N. A.; CAFFETTIA, J. D.; GARCÍA, E. M.; BENÍTEZA, M. F.; PASTORIA, M. C.; FENOCCHIO, A. S. Baseline micronuclei and nuclear abnormalities frequencies in native fishes from the Paraná River (Argentina). **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 1, p. 217-221, 2014.

GALVES, W.; JEREP, F. C.; SHIBATTA, O. A. Estudo da condição ambiental pelo levantamento da fauna de três riachos na região do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), Londrina, PR, Brasil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 2, n. 1, p. 55-65, 2007.

GAMBAROTTO, B. L. **Proposta de índice de integridade ambiental aplicado a riachos de mata atlântica e aplicação de teste de validação com parâmetros da assembleia de peixes**. Monografia (Bacharel em Engenharia Ambiental) - UTFPR. Londrina, p. 94. 2014.

GARCEZ, L. N. **Manual de procedimentos e técnicas laboratoriais voltado para análises de águas e esgotos sanitário**. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 107. 2004.

GHOLAMI, V. The influence of deforestation on runoff generation and soil erosion (Case study: Kasilian Watershed). **Journal of Forest Science**, v. 59, n. 7, p. 272–278, 2013.

GIESY, J. P.; SOLOMON, K. R.; COATS, J. R.; DIXON, K. R.; GIDDINGS, J. M.; KENAGA, E. E. Chlorpyrifos: Ecological risk assessment in north american aquatic environments. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v.160. 1999.

GIRI, S. S.; SEN, S. S.; JUN, J. W.; SUKUMARAN, V.; PARK, S. C. Immunotoxicological effects of cadmium on *Labeo rohita*, with emphasis on the expression of HSP genes. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 54, p. 164-171, 2016.

GOLDMAN, C. R.; HORNE, A. J. **Limnology**. California: McGraw-Hill Book Company, 1983.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

GONÇALVES, C. D. S.; BRAGA, F. M. D. S. Changes in ichthyofauna composition along a gradient from clearwaters to blackwaters in coastal streams of Atlantic forest (southeastern Brazil) in relation to environmental variables. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 10, n. 3, p. 675-684, 2012.

GOOGLE EART. Google Earth PRO. Version 2018. [S.I.]: GOOGLE, 2018

GORDON, N. D.; FINLAYSON, B. L.; McMAHON, T. A. **Stream Hydrology: An introduction for ecologists**. 2^a. ed. [S.I.]: Wiley, 2004.

GRAAF, M. D.; COUTTS, T. Invasive potential of a South-American fish species, *Geophagus brasiliensis*, in the Swan River, Western Australia: based on tolerance to instantaneous and gradual changes in salinity. **Journal of the Royal Society of Western Australia**, v. 93, p. 147–151, 2010.

GRAÇA, W. J. D.; PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do Alto rio Paraná e áreas Adjacentes**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2007.

GUIMARÃES, A. T. B.; MENEZES, M. S.; PERET, A. C. Composição da ictiofauna em função da fisiografia de um riacho costeiro de Floresta Atlântica - Brasil. **Biota Neotropical**, v. 10, n. 2, p. 57-65, 2010.

GUTIÉRREZ, L.; GARBISU, C.; CIPRIÁN, E.; BECERRIL, J. M.; SOTO, M.; ETXEBARRIA, J.; MADARIAGA, J. M.; ANTIGÜEDAD, I.; EPELDE, L. Application of ecological risk assessment based on a novel TRIAD-tiered approach to contaminated soil surrounding a closed non-sealed landfill. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 49–59, 2015.

HAGGER, J. A.; JONES, M. B.; LEONARD, D. R.; OWEN, R.; GALLOWAY, T. S. Biomarkers and integrated environmental risk assessment: are there more questions than answers? **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 2, n. 4, p. 312–329, 2006.

HAN, J.-H.; PAEK, W. K.; AN, K.-G. Exotic species, *Micropterus salmoides*, as a key bioindicator influencing the reservoir health and fish community structure. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 9, p. 403-411, 2016.

HEDDLE, J. A.; CIMINO, M.C.; HAYASHI, M.; ROMAGNA, F.; SHELBY, M. D.; TUCKER, J. D.; VANPARYS, P.; MACGREGOR, J. T. Micronuclei as an Index of Cytogenetic Damage: Past, Present, and Future. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 18, p. 277-291, 1991.

HOLT, M. S. Sources of Chemical Contaminants and Routes into the Freshwater Environment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 21-27, 2000.

HUGHES, R. M.; MAAS-HEBNER, S. D. K.; YEAKLEY, J. A.; CARL, S.; HARTE, M.; SHOCK, C. C.; KACZYNSKI, V. W.; SCHAEFFER, J. A Review of Urban Water Body Challenges and Approaches: (1) Rehabilitation and Remediation. **Fisheries**, v. 39, n. 2, p. 18-29, 2014.

HUNSAKER, C. T.; GRAHAM, R. L.; SUTER, G. G. W.; O'NEILL, R. V.; BARNTHOUSE, L. W.; GARDNER, R. H. Assessing ecological risk on a regional scale. **Enronmental Management**. v. 14, n. 3, p. 325-332. 1990.

IAPARa. **Agrometeorologia: Dados diários de Londrina**. IAPAR, 2017. DispoNível em: <<http://www.iapar.br/pagina-1828.html>>. Acesso em: 25 fevereiro 2017.

IAPARb. **Médias Históricas de Londrina**. ESTACAO: LONDRINA - CODIGO: 02351003, 2017. Disponível em: <http://www.iapar.br/arquivos/Image/monitoramento/Medias_Historicas/Londrina.htm>. Acesso em: 25 fevereiro 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, IBAMA. **Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas**. Brasília: Ibama/Diqua, v. ISBN 978-85-7300-384-0, 2017. ISBN 978-85-7300-384-0.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, IBGE. **População Londrina**. Panorama, 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/londrina/panorama>>. Acesso em: 18 Março 2017.

INSTITUTO TRATA BRASIL. Ranking do Saneamento Básico. Instituto Trata Brasil. São Paulo, p. 118. 2018.

IWATA, T.; NAKANO, S.; INOUE, M. Impacts of past riparian deforestation on stream communities in a tropical rain forest in Borneo. **Ecological Applications**, v. 13, n. 2, p. 461–473, 2003.

JENSEN, J.; MESMAN, M. **Ecological risk assessment of contaminated land- Decision support for site specific investigations**. Dinamarca: National Institute of Public Health and the Environment, 2006.

JHA, A. N. Genotoxicological studies in aquatic organisms: an overview. **Mutation Research**, v. 552, p. 1–17, 2004.

JÚNIOR, H. F. J.; TÓS, C. D.; AGOSTINHO, Â. A.; PAVANELLI, C. S. A massive invasion of fish species after eliminating a natural barrier in the upper rio Paraná basin. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 709-718, 2009.

KOLLURU, R. V. **Risk Assessment and Management Handbook for Environmental, Health, and Safety Professionals**. Massachusetts: McGraw-Hill, 1996.

KOUSAR, S.; JAVED, M. Studies on Induction of Nuclear Abnormalities in Peripheral Blood Erythrocytes of Fish Exposed to Copper. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 15, p. 879-886, 2015.

LEDGER, M. E.; BROWN, L. E.; EDWARDS, F. K.; MILNER, A. M.; WOODWARD, G. Droughts alter the structure and functioning of complex food webs. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 3, p. 223–227, 2013.

LEE, B.; PARK, S.; PAUIE, M. C.; JUN, W.; LEE, C. Effects of Impervious Cover on the Surface Water Quality and Aquatic Ecosystem of the Kyeongan Stream in South Korea. **Water Environment Research**, p. 635-645, 2012.

LIMA, W. P.; ZAKIA, M. J. B. **Hidrologia de matas ciliares**. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO-FILHO, H. F. L. Matas ciliares: conservação e recuperação. São Paulo: USP, 2009. p. 319.

LONDRINA. **Plano municipal de saneamento básico de Londrina-PR**, Londrina, 2015. 255.

LOUCAIDES, S.; CAHOON, L. B.; HENRY, E. J. Effects of watershed impervious cover on dissolved silica loading in storm flow. **Journal of the American water resources association**, v. 43, n. 4, p. 841-849, 2007.

LUCIDCHART. Programa online. Disponível em: < <https://www.lucidchart.com/users/login>>. Acesso em 12 de março de 2018.

LYONS, J.; NAVARRO-PÉREZ, S.; COCHRAN, P. A.; SANTANA, E. C.; GUZMÁN-ARROYO, M. G. Index of Biotic Integrity Based on Fish Assemblages for the Conservation of Streams and Rivers in West-Central Mexico. **Conservation Biology**, v. 9, n. 3, p. 569-584, 1995.

MACK, R. N.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W. M.; EVANS, H.; CLOUT, M.; BAZZAZ, F. A. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, v. 10, n. 3, p. 689–710, 2000.

MAGALHÃES, D. D. P.; FILHO, A. D. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MARZIALI, L.; ROSIGNOLI, F.; DRAGO, A.; PASCARIELLO, S.; VALSECCHI, L.; ROSSAROB, B.; GUZZELLA, L. Toxicity risk assessment of mercury, DDT and arsenic legacy pollution in sediments: A triad approach under low concentration conditions. **Science of the Total Environment**, v.594, p.809–821, 2017

MAZZONI, R.; IGLESIAS-RIOS, R. Environmentally related life history variations in *Geophagus brasiliensis*. **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 1606–1618, 2002.

MCRAE, N. K.; GAW, S.; GLOVER, C. N. Effects of waterborne cadmium on metabolic rate, oxidative stress, and ion regulation in the freshwater fish, Inanga (*Galaxias maculatus*). **Aquatic Toxicology**, v. 194, p. 1-9, 2018.

MEDEIROS, H. R.; TOREZAN, J. M. Evaluating the ecological integrity of Atlantic forest remnants by using rapid ecological assessment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 5, p. 373–382, 2012.

MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2002.

MENDONÇA, L. B.; BARROS, M. V. F. mapeamento da vegetação de fundo de vale da cidade de Londrina – PR, a partir de imagens ETM landsat. **Geografia**, Londrina, v. 11, n. 1, 2002.

MILANOV, Đ. R.; KRSTIĆ, P. M.; MARKOVIĆ, V. R.; JOVANOVIĆ, D.; BALTIĆ, M. B.; IVANOVIĆ, S. J.; JOVETIĆ, M.; BALTIĆ, Ž. M. Analysis of heavy metals concentration in tissues of three different fish species included in human diet from Danube river, in the Belgrade region, Serbia. **Acta Veterinaria-Beograd**, v. 66, n. 1, p. 89-102, 2016. ISSN DOI: 10.1515/acve-2016-0007.

MINISTRY OF ENVIRONMENT, LAP. **Environmental risk assessment (ERA): an approach for assessing and reporting environmental conditions**. Canadian Cataloguing in Publication Data. [S.I.]. 2000.

MITRE, S. K. **Aspectos da ciclagem de nutrientes em ecossistemas ripários sob diferentes usos do solo**. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 138. 2016.

MOGGRIDGE, H. L.; HILL, M. J.; WOOD, P. J. Urban Aquatic Ecosystems: the good, the bad and the ugly. **Fundam. Appl. Limnol.**, v. 185, n. 1, p. 1–6, 2014.

MONTEIRO, V.; CAVALCANTE, D.G.; VILÉLA, M. B.; SOFIA, S. H.; MARTINEZ, C. B. In vivo and in vitro exposures for the evaluation of the genotoxic effects of lead on the Neotropical

freshwater fish *Prochilodus lineatus*. **Aquatic Toxicology**, v. 104, p. 291– 298, 2011.

MOREIRA, T. N.; NUNES, E. A.; LEAL, M. E.; SCHULZ, U. H.; DE LEMOS, C. T. Influência dos Métodos de Captura de Peixes na Avaliação Genotóxica Utilizando Diferentes Tecidos de *Astyanax fasciatus* (Osteichthyes, Characidae). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 5, n. 1, p.1-7, 2010.

MOURA, R. S. T. D.; HENRY-SILVA, G. G. Características limnológicas de uma bacia hidrográfica da região semiárida brasileira. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Rio Claro, v. 27, n. 1, p. 51-59, 2015.

NAS, N. A. O. S. **Biologic Markers in Reproductive Toxicology**. Washington, D.C. : National Academy Press, 1989.

NIEMEYER, J. C.; DA SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Desenvolvimento de um Esquema para Avaliação de Risco Ecológico em Ambientes Tropicais: Estudo de Caso da Contaminação por Metais em Santo Amaro da Purificação, Bahia, **Brasil. J. Braz. Soc. Ecotoxicol**, v. 2, n. 3, p. 263 267, 2007.

NIEMEYER, J. C.; DA SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. **Soil ecotoxicology in environmental risk assessment: a case study in a metal contaminated site in brazil**. In: ARAÚJO, C. V. M.; SHINN, C. H. Ecotoxicology in Latin America. [S.l.]: Nova Science Publishers, 2017. Cap. 18.

NIEMEYER, J. C.; SANTOS, M. M.; RIBEIRO, R.; RUTGERS, M.; NOGUEIRA, M. A.; DA SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Ecological Risk Assessment of a Metal-Contaminated Area in the Tropics. Tier II: Detailed Assessment. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, Novembro 2015.

NORTON, S. B.; RODIER, D. J.; GENTILE, J. H.; SCHALIEW, W. V. D.; WOOD, W. P.; SLIMAK, M. A framework for ecological risk assessment at the EPA. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 11, n. 12, p. 1663-1672, 1992.

OBIAKOR, M. O.; OKONKWO, J. C.; NNABUDE, P. C.; EZEONYEJIAKU C. D. Ecogenotoxicology: Micronucleus Assay in Fish Erythrocytes as *In situ* Aquatic Pollution Biomarker: a Review. **J. Anim. Sci. Adv.**, v. 2, n. 1, p. 123-133, 2012.

OLDEN, J. D.; POFF, N. L.; DOUGLAS, M. R.; DOUGLAS, M. E.; FAUSCH, K. D. Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. **Trends in Ecology and Evolution**, v.19, n. 1, p. 18-24, 2004.

OLIVEIRA, D. C. D.; BENNEMANN, S. T. Ictiofauna, recursos alimentares e relações com as interferências antrópicas em um riacho urbano no sul do Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 5, n. 1, p. 95-107, 2005.

OOST, R. V. D.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.

OTA, R. R.; DEPRA, G. C.; GRACA, W. J.; PAVANELLI, C. S. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, p. e170094, 2018.

PARANÁ. **DECRETO nº 5.150 de 07 de junho de 1989**. Criação do Parque Estadual "Mata dos Godoy", Londrina, Jun 1989.

PARANÁ. **Portaria IAP Nº 59, de 15 de abril de 2015**. Reconhece a Lista Oficial de Espécies

Exóticas Invasoras para o Estado do Paraná, estabelece normas de controle e dá outras providências, Curitiba, PR, Abr 2015.

PEAKALL, D. B. P. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. **Ecotoxicology**, v. 3, p. 157-160, 1994.

PENNINO, M. J.; KAUSHAL, S. S.; MAYER, P. M.; UTZ, R. M.; COOPER, C. A. Stream restoration and sewers impact sources and fluxes of water, carbon, and nutrients in urban watersheds. **Hydrology and Earth System Science**, v. 20, p. 3419–3439, 2016.

PEPINELLI, M.; CORBI, J. J.; SANTOS, A.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; concentração de metais em insetos aquáticos de córregos sob diferentes usos do solo: um estudo preliminar. **VII Congresso de ecologia do Brasil**. Minas Gerais. 20-25 Novembro, 2005.

PREFEITURA DE LONDRINA. **Parque Estadual Mata dos Godoy**. Prefeitura de Londrina, 2015. Disponível em: <http://www.londrina.pr.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=247:parque-estadual-mata-dos-godoy&catid=14:ambiente&Itemid=147>. Acesso em: 25 maio 2018.

QGIS. Version 2.18.9. [S.l.]: QGIS Desktop with GRASS 7.2.1. 2017

RABELO, R. M.; CALDAS, E. D. Avaliação de risco ambiental de ambientes aquáticos afetados pelo uso de agrotóxicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 7, 2014.

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

REZENDE, J. R.; RENESTO, E.; ZAWADZKI, C. H. Genetic variability in three species of *Gymnotus Linnaeus*, 1758 (Gymnotiformes: Gymnotidae) from Caracu stream of the upper Paraná River basin, **Brazilian Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, 2009.

RIBÉ, V.; AULENIUS, E.; NEHRENHEIM, E.; MARTELL, U.; ODLARE, M. Applying the Triad method in a risk assessment of a former surface treatment and metal industry site. **Journal of Hazardous Materials**, v. 207, p. 15–20, 2012.

RICKLEFS, R. **A Economia da Natureza**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

RIGG, D. K.; WACKSMAN, M. N.; IANNUZZI, J.; BAKER, T. F.; ADAMS, M.; GREELEY, M. S. J. R. Assessing Ecological Risks to the Fish Community from Residual Coal Fly Ash in Watts Bar Reservoir, Tennessee. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 11, n. 1, p. 88–101, 2014.

RIGONATO, J.; MANTOVANI, M. S.; JORDÃO, B. Q. Detection of Genotoxicity of Water from an Urbanized Stream, in *Corbicula fluminea* (Mollusca) (In Vivo) and CHO-K1 Cells (In Vitro) Using Comet Assay. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 59, p. 31–38, dezembro 2010.

ROCHA, A. R. M.; BENEDITTO, A. P. M. D.; PESTANA, I. A.; SOUZA, C. M. M. Isotopic profile and mercury concentration in fish of the lower portion of the rio Paraíba do Sul watershed, southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 4, p. 723-732, 2015.

ROCHA, G. C. Carta de solos da bacia do Ribeirão Cambé na área urbano-rural de Londrina, PR. **Semina Ci. Exatas/Tecn**, v. 16, n. 4, p. 536-549, dezembro 1995.

RSTUDIO. Version 3.4.2. [S.I.]: RStudio. 2017

SALGADO, P. E. T. **Metais em alimentos**. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu Editora, 2008. Cap. 5, p. 577 – 608.

SANCHEZ, A. L. **Avaliação de risco ecológico em cenário de contaminação por pesticidas: respostas de indivíduos a ecossistemas**. Tese (Tese de doutorado) - Universidade de São Paulo. São Carlos, p. 184. 2016.

SANTOS, R.; JOYEUX, A.; BESNARD, A.; BLANCHARD, C.; HALKETT, C.; BONY, S.; SANCHEZ, W.; DEVAUX, A. An integrative approach to assess ecological risks of surface water contamination for fish populations. **Environmental Pollution**, p. 1-9, 2016.

SEVERO-NETO, F.; TERESA, F. B.; FROEHLICH, O. Ecomorphology and diet reflect the spatial segregation between two Siluriformes species inhabiting a stream of the Bodoquena Plateau, in Central Brazil. Iheringia. **Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 105, n. 1, p. 62-68, 2015.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Champaign: University of Illinois press, 1964.

SILVA, A. G.; MARTINEZ, C. B. R. Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 185–192, 2007.

SILVA, S. V. S. S.; DIAS, A. H. C.; DUTRA, E. S.; PAVANIN, A. L.; MORELLI, S.; PEREIRA, B. B. The impact of water pollution on fish species in southeast region of Goiás, Brazil. **Journal of toxicology and environmental health**, p. 1087-2620 , 2015. ISSN ISSN: 1528-7394.

SIMONATO, J.; MELA, M.; DORIAB, H. B.; GUILOSKIB, I. C.; RANDI, M. A. F.; CARVALHO, P. S. M.; MELETTI, P. C.; ASSIS, H. C. S.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, C. B. R. Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 31–41, 2016.

SOLOMON, K. R.; BAKER, D. B.; RICHARDS, R. P.; DIXON, K. R.; KLAINE, S. J.; Ecological risk assessment of atrazine in North. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 31-76, 1996.

SORNOM, P.; GISMONDI, R.; VELLINGER, C.; DEVIN, S.; FÉRARD, J.; BEISEL, J. Effects of sublethal cadmium exposure on antipredator behavioural and antitoxic responses in the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus*. **Plos One**, v. 7, n. 8, p. 1 – 10, 2012.

SOUSA, J. P. F. A. **Avaliação retrospectiva do risco ambiental: Esquema de avaliação de risco para solos contaminados**. In: SANTOS, I. A. & S. Manual Prático para a Gestão Ambiental. Lisboa: Verlag Dashofer, 2005.

SOUZA, F. D.; SANTOS, C. J.; MATEUSSI, N. T. B.; ZUANON, L. A.; OTA, R. R. Variação espacial na estrutura da ictiofauna em dois riachos na bacia do rio Pirapó. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 6, n. 3, p. 366 - 382, 2014.

SOUZA, F. M. N.; SILVA, C. E.; AGUIAR, L. A.; ALMEIDA, J. R. Análise de riscos como instrumento para sistemas de gestão ambiental. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, **Aquidabã**, v. 3, n. 1, p. 17-41, Maio 2012.

STEERE, C. L. Environmental Risk Assessment Guidance Manual - for industrial chemicals. **Australian Environment Agency**. 2009.

STEPHENSON, G. R.; SOLOMON, K. R.; Pesticides and the Environment; **Canadian Network of Toxicology Centres Press Guelph**, Ontario, Canada, 2007.

TAGIMA, N.; TERABE, N. I. **Minibacia do Riacho Cambé**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2005.

TAKEDA, M. M. G.; NETO, O. C. P.; BARROS, M. V. F.; CARDOZO, F. S.; SHIMABUKURO, Y, E. Caracterização geoambiental da bacia urbana córrego roseira – Londrina/PR utilizando sistema de informação geográfica (SIG). **Revista Eletrônica Geoaraguaia**, Barra do Garças-MT, n. Edição Especial, p. 56-76, Setembro 2013.

THEODORAKIS, C. W.; BICKHAM, J. W.; ELBL, T.; SHUGART, L. R.; CHESSER, R. K. Genetics of radionuclide-contaminated mosquitofish populations and homology between *Gambusia affinis* and *G. Holbrooki*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, n. 10, p. 1992–1998, 1998.

THEODORAKIS, C. W.; D'SURNEY, S. J.; BICKHAM, J. W.; LYNE, T. B.; Sequential expression of biomarkers in Bluegill Sunfish exposed to contaminated sediment. **Ecotoxicology**, v. 1, p. 45-73, junho 1992.

THEODORE, L.; DUPONT, R. R. **Environmental Health and Hazard Risk Assessment - Principles and Calculations**. [S.l.]. 2012.

THORP, J. H.; THOMS, M. C.; DELONG, M. D. The riverine ecosystem synthesis: biocomplexity in river networks across space and time. **River Research and Applications**., v. 22, p. 123–147, 2006.

TORRES, E. C.; SILVA, R. A. Micro-bacia do Ribeirão Cambé-Londrina-PR: levantamento geomorfológico e ambiental utilizando técnicas de geoprocessamento e sensoriamento remoto. **Revista Mato-Grossense de Geografia**, v. 11, p. 155-188, 2007.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TRABAQUINI, K.; TAKEDA, M. M. G.; ROMAGNOLLI, R.; BARROS, M. V. F. Uso e ocupação das apps em áreas de fundo de vale no perímetro urbano de Londrina-PR, utilizando imagem de alta resolução. **RA'EGA**, Curitiba, v. 18, n. Universidade Federal do Paraná, p. 41-49, 2009.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, U. **Update of Ambient Water Quality Criteria for Cadmium**. USEPA , Washington, DC, 2001.

VAN DEN BRINK, P. J.; ALEXANDER, A. C.; DESROSIERS, M.; GOEDKOOP, W. Traits-Based Approaches in Bioassessment and Ecological Risk Assessment: Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 7, n. 2, p. 198–208, 2011.

VAN GESTEL, C. A. M.; VAN BRUMMELEN, T. C. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. **Ecotoxicology**, v. 5, p. 217-225, 1996.

VEIGA, A. M. V.; NALLY, R. M. N.; SOSTOA, A. D. Water-quality impacts in semi-arid regions: can natural 'green filters' mitigate adverse effects on fish assemblages? **Water Research**, v. 144, p. 628-641, 2018

VERONEZA, A. C. D. S.; SALLA, R. V.; BARONI, V. D.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, C. B. R.; CHIPPARI-GOMES, A. R. Genetic and biochemical effects induced by

iron ore, Fe and Mn exposure in tadpoles of the bullfrog *Lithobates catesbeianus*. **Aquatic Toxicology**, v. 174, p. 101–108, 2016.

VIANA, D. D. B. **Riscos Ambientais em Áreas Contaminadas**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Sicurezza, 2012.

VIEIRA, C. E. D.; COSTA, P. G.; LUNARDELLI, B.; OLIVEIRA, L. F.; CABRERA, L. C. C.; RISSO, W. E.; PRIMEL, E. G.; MELETTI, P. C.; FILLMANN, G.; MARTINEZ, C. B. R. Multiple biomarker responses in *Prochilodus lineatus* subjected to short-term *in situ* exposure to streams from agricultural areas in Southern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 44–56, 2016.

VITAL, A. R. T.; GUERRINI, I. A.; FRANKEN, W. K.; FONSECA, R. C. B. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de uma floresta estacional semidecidual em zona ripária. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 28, n. 6, p. 793-800, 2004.

VOGEL, H. F.; ZAWADZKI, C. H.; METRI, R. Florestas ripárias: importância e principais ameaças. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 1, p. 24-30, 2009.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.

WINTER, M. J.; ELLIS, L. C. J.; HUTCHINSON, T. H. Formation of micronuclei in erythrocytes of the fathead minnow (*Pimephales promelas*) after acute treatment with mitomycin C or cyclophosphamide. **Mutation Research**, v. 629, p. 89–99, 2007.

WITESKA, M.; SARNOWSKI, P.; ŁUGOWSKA, K.; KOWAL, E. The effects of cadmium and copper on embryonic and larval development of the *Leuciscus idus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 151-163, 2014.

WORLD ECONOMIC FORUM. Global Risks Report 2016. Online document. 11th edition. Disponível em: <<https://www.weforum.org/agenda/2016/01/what-are-the-top-global-risks-for-2016/>>. Acesso em 15/10/2017

XU, E. G.; BUI, C.; LAMERDIN, C.; SCHLENK, D. Spatial and temporal assessment of environmental contaminants in water, sediments and fish of the Salton Sea and its two primary tributaries, California, USA, from 2002 to 2012. **Science of the Total Environment**, v. 559, p. 130–140, 2016.

YABE, M. J.; OLIVEIRA, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. **Química Nova**, v. 21, p. 551-556, 1998

YAN, Y.; QIAN, Y.; WANG, Z.; YANG, X.; WANG, H. Ecological risk assessment from the viewpoint of surface water pollution in Xiamen City, China. **International Journal of Sustainable Development & World Ecology**, Janeiro 2018. ISSN DOI:10.1080/13504509.2017.1422567.

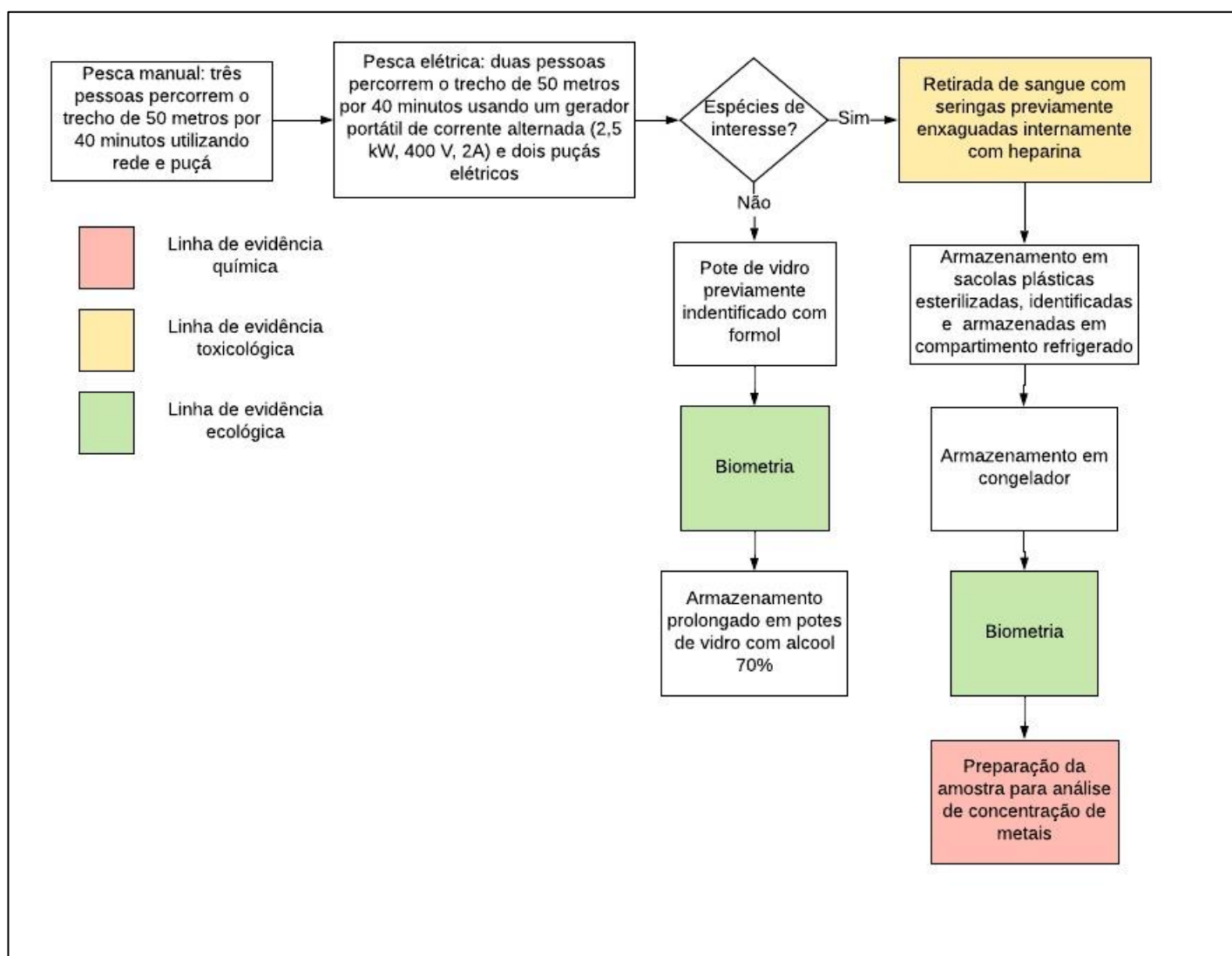
ZENI, J. O.; CASATTI, L. The influence of habitat homogenization on the trophic structure of fish fauna in tropical streams. **Hydrobiologia**, v. 726, p. 259–270, 2014.

ZHU, L.; HUANG, Y.; LIU, G. Using DNA damage to monitor water environment. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 23, n. 3, p. 340-348, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - AMOSTRAGEM DA ICTIOFAUNA

Fluxograma da amostragem dos peixes do Ribeirão Cambé e do riacho na Mata dos Godoy.



APÊNDICE 2 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DA ICTIOFAUNA PARA A LEQ

Etapas da preparação da amostra:

- a) Pesar os indivíduos em Placas de Petri (peso aproximado de pelo menos 5 g);
- b) Secar em estufa com circulação de ar forçada (MED CLAVE Modelo 5), com temperatura entre 50°C e 200°C até atingirem peso seco constante;
- c) Triturar em cadinho de porcelana;
- d) Quartear;
- e) Peneirar em malha de poliéster com abertura de 63 µm;
- f) Pesar 300mg em balança analítica (Shimadzu, modelo BL3200H), em triplicata;
- g) Armazenar em tubos *falcon* descontaminados e identificados em congelador;
- h) Transferir para tubos de vidro próprios do bloco digestor (SOLAB);
- i) Preparar o branco (tubo de vidro vazio);
- j) Adicionar de 6 mL de HNO₃ (SIGMA-ALCRICH) destilados (65%) em capela;
- k) Digerir por 1h em temperatura de 80°C;
- l) Adicionar de 3 mL de H₂O₂ (30%) (SYNTH);
- m) Digerir por duas horas e meia à temperatura de 160°C;
- n) Resfriar em ambiente sob temperatura ambiente;
- o) Transferir para tubos falcon descontaminados e identificados;
- p) Preencher o tubo *falcon* com água ultrapura (20 mL);
- q) Armazenar em geladeira.



Figura 29: Pós secagem em estufa



Figura 30: Trituração da amostra



Figura 31: Processo de passagem da amostra seca através malha para a obtenção de mesma granulometria

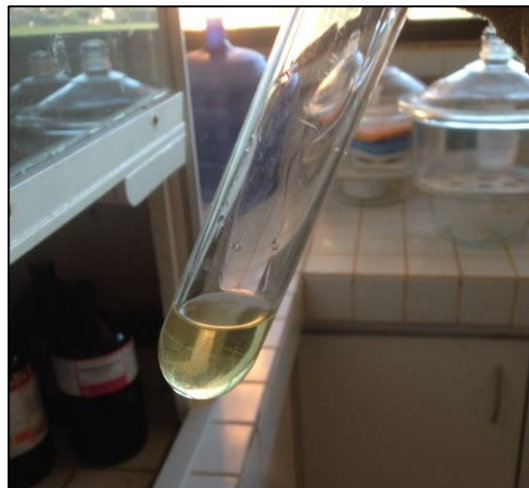


Figura 32: Pós processo de digestão ácida em tubo digestor



Figura 33: Amostras em estufa (MED CLAVE Modelo 5)



Figura 34: Bloco digestor SOLAB



Figura 35: Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em Forno de Grafite (GF AAS) da marca Thermo Scientific, modelo ICE 3000

Etapas do processo de análise:

- Preparar soluções padrões de 0,2, 0,5, 0,8, 1, 1,2 e 1,5 µg/L, a partir de uma solução padrão de 1000mg/L para a obtenção da curva de calibração;
- Instalar a lâmpada de catodo oco do metal;
- Ajustar para comprimento de onda de 228,8 nm;
- Verificar o gás inerte;
- Montar a curva de calibração;
- Iniciar a leitura em triplicata (ppp);
- Realizar o teste de recuperação para validação da metodologia;
 - Adicionar certo volume de solução padrão do metal com concentrações máximas e mínimas já quantificadas de pelo menos duas amostras;
 - Reler;
- Calcular a concentração (µg/g):

$$[\text{Metal}] \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} = \frac{([\text{Metal}] \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}) * (0,02\text{L})}{0,3 \text{ g}}$$

Programa de temperatura do forno para a determinação do Cd.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (seg)	Rampa (°C/seg)	Fluxo do Gás (L/min)
1ª Secagem	100	20	10	0,2
2ª Pirólise	800	10	150	0,2
3ª Atomização	1000	3	0	0
4ª Limpeza	2500	3	0	0,2

APÊNDICE 3 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DA ICTIOFAUNA PARA A ANÁLISE DA LET

Etapas da preparação das amostras:

- Espalhar a amostra de sangue dos peixes em uma lâmina de vidro, em duplicata;
- Secar em temperatura ambiente por 24h;
- Fixar com metanol (Proquimios) por 10 min.

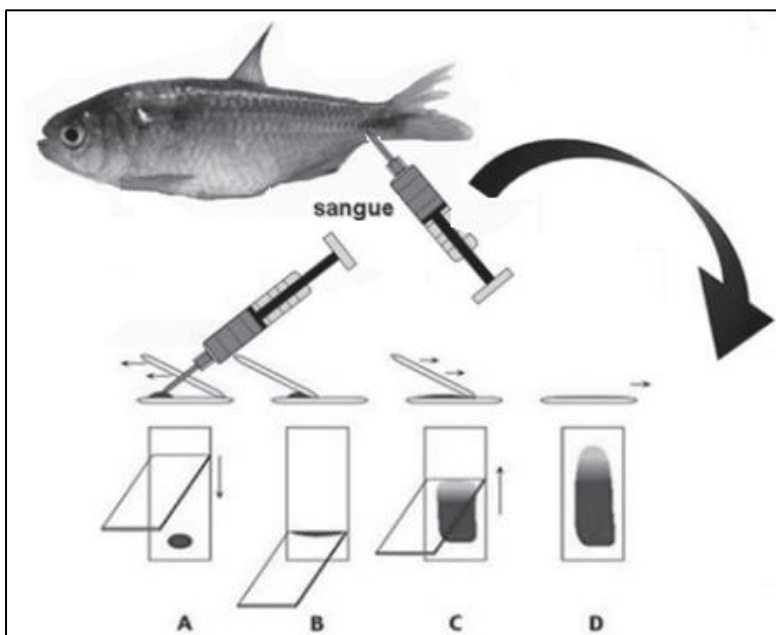


Figura 36: Método de esfegasso na lâmina
Fonte: (CORT e GHISI, 2014)

Etapas da análise das amostras:

- Cobrir de todos os equipamentos com papel filme;
- Aplicar três gotas, cada uma com aproximadamente 1,4 μL , de laranja de Acridina ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3$, 0,003%) em cada lâmina;
- Sobrepor a lamínula para espalhamento do corante sobre a lâmina;
- Contar 3000 células em microscópio de fluorescência (LEICA modelo DM2500);
- Identificar células normais ou com alteração;
- Calcular frequência em ‰, dividindo o valor por 3000, que é a quantidade de células contadas;
- Calcular a média e o desvio padrão para cada espécie (média de 8 indivíduos) do número de micronúcleo e para a soma das alterações nos eritrócitos.

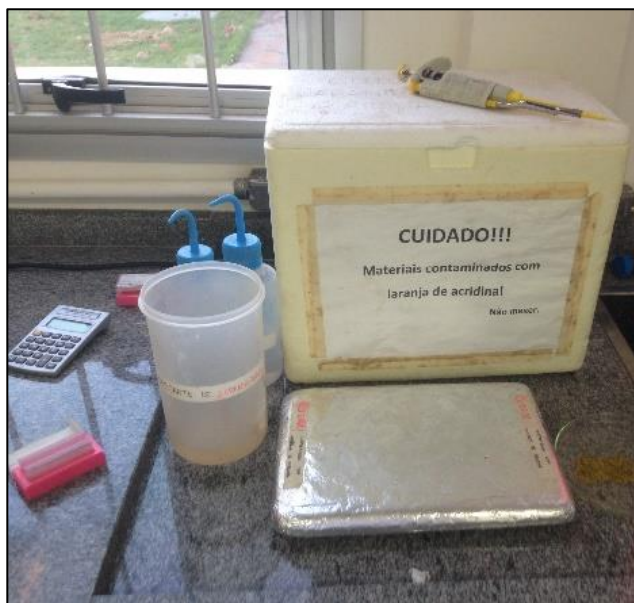


Figura 37: Processo de coloração das lâminas



Figura 38: Lâmina com laranja de Acridina



Figura 39: Microscópio de fluorescência da marca LEICA modelo DM2500



Figura 40: Exemplo de proteção para evitar contaminação do corante tóxico

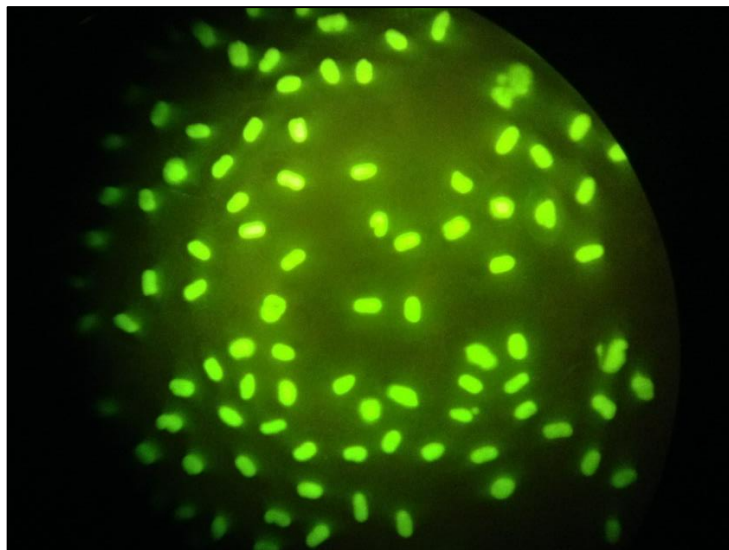


Figura 41 Fotografia de uma das lâminas analisadas no microscópio de fluorescência em que é possível observar células normais, com micronúcleo, com núcleo em forma de rim e células rompidas devido ao processo de esfregasso

APÊNDICE 4 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA PARA ANÁLISE DE DBO

Processo de análise da amostra em equipamento de análise de DBO₅.

- Preencher a garrafa âmbar do equipamento com 400 mL de amostra;
- Adicionar hidróxido de potássio nas borrachas que ficam na boca da garrafa para capturar do CO₂ liberado no consumo do oxigênio pelos microrganismos e evitar o aumento da pressão na garrafa;
- Programar o equipamento;
- Armazenar o equipamento por cinco dias sob temperatura de 20°C;
- Utilizar a DBO lida apenas no quinto dia.

APÊNDICE 5 - PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA PARA ANÁLISE DE FOSFATO

Etapas do processo de análise:

- Adição de 1 mL de solução saturada de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) em 10 mL de amostra em um tubo de ensaio;
- Preparar o branco com água destilada;
- Autoclavar por 30 minutos em temperatura de 120°C;
- Preparar a mistura, na sequência, 6 mL de ácido sulfúrico, 0,6 mL de tartarato de potássio e antimônio, 1,8 mL de molibdato de amônio e 3,6 mL de ácido ascórbico;
- Adicionar no tubo 1,5 mL da mistura descrita acima;
- Homogeneizar;
- Repousar as amostras por 20 minutos;
- Transferir as amostras preparada do tubo de ensaio, um a um, para tubo específico do espectrofotômetro UV e visível da marca HACH e modelo dr5000 em comprimento de onda de 882 nm;
- Utilizar a curva de calibração disponível no Laboratório de Sanemanto/UTFPR/Campus Londrina descrita na equação abaixo para determinar a concentração do fosfato nas amostras.

$$y = 2,5484 x - 0,0811$$

Em que:

y é o valor da concentração de fosfato em mg/L;

x é o número acusado no espectrofotômetro.

APÊNDICE 6 - ÍNDICES DE BIODIVERSIDADE

- **Abundância e riqueza**

A riqueza consiste no número de espécies diferentes encontradas em cada estação de amostragem de coleta, e a abundância consiste na quantidade de indivíduos coletados em cada estação.

- **Índice de diversidade de Shannon**

Este índice de biodiversidade leva em conta a riqueza e a uniformidade da abundância das espécies, pois é calculado pela proporção de indivíduos com que cada espécie contribui para o total da amostra. Seu cálculo segue como mostra a equação a seguir.

$$\text{Índice de diversidade de Shannon} = - \sum_{i=1}^p \left(\frac{n_i}{N} \right) * \log \left(\frac{n_i}{N} \right)$$

Sendo,

n_i o número de indivíduos da espécie;

N a abundância;

p o contador numérico baseado no número de espécies.

- **Porcentagem de espécies invasoras**

A porcentagem de espécies invasoras corresponde a soma do total de indivíduos das espécies *Gymnotus inaequilabiatus* e *Poecilia reticulata* dividido pela abundância total em cada estação de amostragem e multiplicado por 100.

- **Biomassa e tamanho médios**

A biomassa média é a soma das biomassas de todos os indivíduos capturados na estação de amostragem dividida pela abundância total; e o tamanho médio é a soma de todos os comprimentos dos indivíduos capturados na estação, dividida pela abundância total da mesma estação.

APÊNDICE 7 - REGISTRO FOTOGRÁFICOS DE IMPACTOS AMBIENTAIS ÀS MARGENS DO RIBEIRÃO CAMBÉ

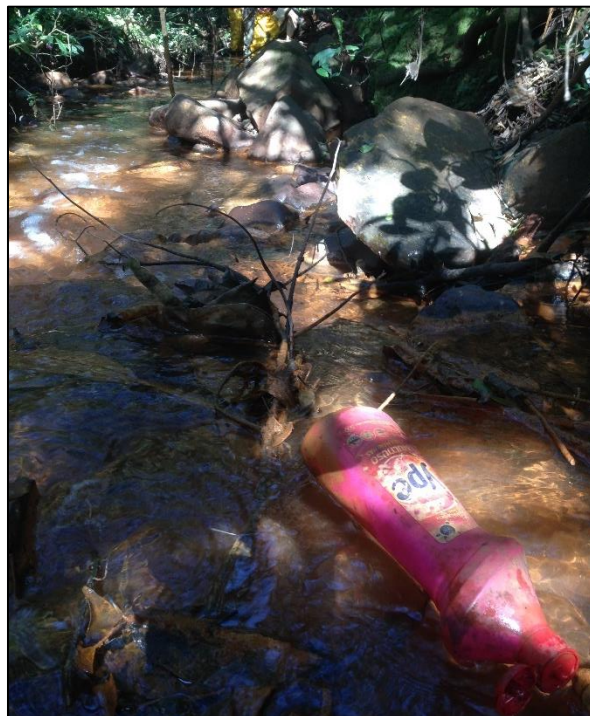


Figura 42: Embalagem de produto de limpeza dentro do Ribeirão Cambé próximo às nascentes (P1 Cambé).

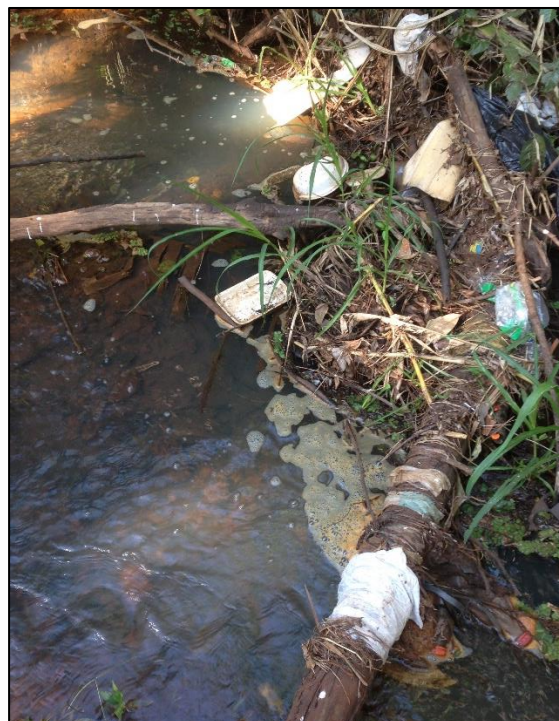


Figura 43: Diversas embalagens e sacolas plásticas na margem do Ribeirão Cambé (P2-Cambé).



Figura 44: Embalagens metálicas e sacolas plásticas nas margens do Ribeirão Cambé (P1 Cambé).



Figura 45: Container plástico à margem do Ribeirão Cambé (P3-Cambé).



Figura 46: Sacola plástica e carcaça de animal morto embaixo da ponte irregular sobre o Ribeirão Cambé (P3-Cambé).



Figura 47: Pneu enterrado na margem do Ribeirão Cambé (P3-Cambé)

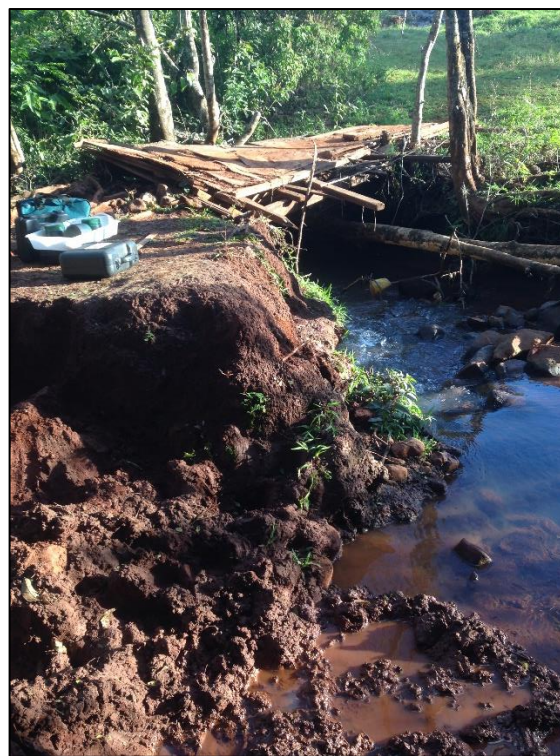


Figura 48: Erosão da margem do Ribeirão Cambé causado principalmente pelo assentamento de animais (P3-Cambé)

APÊNDICE 8 - RESULTADO DAS ANÁLISES DOS DADOS DA LET NO PROGRAMA DE ESTATÍSTICA R STUDIO

Sendo MG os resultados da estação Ref

```
#PARA MICRONÚCLEO
> #Importar dados em table no excel
> library(readxl)
> MIC <- read_excel("~/MESTRADO/UTFPR/DISSERTAÇÃO/minha produção/Estatistic
as/Micronucleo.xlsx")
> MIC
# A tibble: 8 x 4
  P1     P2     P3     MG
  <dbl> <dbl> <dbl> <dbl>
1     1     0     0     0
2     3     0     1     0
3     0     1     0     0
4     1     0     0     0
5     1     2     0     0
6     0     1     0     0
7     0     0     0     0
8     1     0     0     0

> #Organizar dados em apenas duas colunas
> stMIC<-stack(MIC)
> names(stMIC)<-c("alteração","estação")
> stMIC
  alteração estação
1         1      P1
2         3      P1
3         0      P1
4         1      P1
5         1      P1
6         0      P1
7         0      P1
8         1      P1
9         0      P2
10        0      P2
11        1      P2
12        0      P2
13        2      P2
14        1      P2
15        0      P2
16        0      P2
17        0      P3
18        1      P3
19        0      P3
20        0      P3
21        0      P3
22        0      P3
23        0      P3
24        0      P3
25        0      MG
26        0      MG
27        0      MG
28        0      MG
29        0      MG
30        0      MG
31        0      MG
32        0      MG
```

```

> #Teste estatístico ANOVA ONE-WAY
> av2<-aov(alteração~estação, data=stMIC)
> summary(av2)
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
estação   3   3.75   1.2500   2.979 0.0484 *
Residuals 28  11.75   0.4196
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

> #Teste estatístico Tukey
> tk2<-TukeyHSD(av2)
> tk2
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = alteração ~ estação, data = stMIC)

$estação
      diff      lwr      upr      p adj
P2-P1 -0.375 -1.259346 0.50934583 0.6576789
P3-P1 -0.750 -1.634346 0.13434583 0.1185916
MG-P1 -0.875 -1.759346 0.00934583 0.0532645
P3-P2 -0.375 -1.259346 0.50934583 0.6576789
MG-P2 -0.500 -1.384346 0.38434583 0.4260480
MG-P3 -0.125 -1.009346 0.75934583 0.9800678

> #PARA ALTERAÇÃO ERITROCÍTICAS
> #Importar dados em table no excel
> library(readxl)
> ALT_ERI <- read_excel("~/MESTRADO/UTFPR/DISSERTAÇÃO/minha produção/Estati
sticas/Alterações.Eritrociticas.xlsx")
> ALT_ERI
# A tibble: 8 x 4
   P1     P2     P3     MG
<dbl> <dbl> <dbl> <dbl>
1     4     3     6     2
2     4     3     9     0
3     1     8    11     0
4     8     7     5     0
5     8    11     3     0
6     4     2     2     0
7     5    13     2     0
8     2     9     2     0

> #Organizar dados em apenas duas colunas
> stALT_ERI<-stack(ALT_ERI)
> names(stALT_ERI)<-c("alteração", "estação")
> stALT_ERI
  alteração estação
1         4      P1
2         4      P1
3         1      P1
4         8      P1
5         8      P1
6         4      P1
7         5      P1
8         2      P1
9         3      P2
10        3      P2
11        8      P2

```



```

12      7      P2
13     11      P2
14      2      P2
15     13      P2
16      9      P2
17      6      P3
18      9      P3
19     11      P3
20      5      P3
21      3      P3
22      2      P3
23      2      P3
24      2      P3
25      2      MG
26      0      MG
27      0      MG
28      0      MG
29      0      MG
30      0      MG
31      0      MG
32      0      MG

```

```

> #Teste estatístico ANOVA ONE-WAY
> av1<-aov(alteração~estação, data=stALT_ERI)
> summary(av1)
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
estação  3  193.4   64.46   7.352 0.000879 ***
Residuals 28  245.5    8.77
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

> #Teste estatístico Tukey
> tk<-TukeyHSD(av1)
> tk
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

```

```
Fit: aov(formula = alteração ~ estação, data = stALT_ERI)
```

```

$estação
      diff      lwr      upr      p adj
P2-P1  2.50 -1.542304  6.5423038 0.3483682
P3-P1  0.50 -3.542304  4.5423038 0.9864511
MG-P1 -4.25 -8.292304 -0.2076962 0.0365454
P3-P2 -2.00 -6.042304  2.0423038 0.5395091
MG-P2 -6.75 -10.792304 -2.7076962 0.0005093
MG-P3 -4.75 -8.792304 -0.7076962 0.0165738

```