

MARIANNA BASSO JORGE

DINÂMICA DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS E DO COBRE NO RIO
NHUNDIAQUARA E COMPLEXAÇÃO DO METAL COM CÉLULAS DE
Eutetramorus sp

M 551.483
J82d
2005
ex.01

ONTAL DO PARANÁ
2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – UFPR

MARIANNA BASSO JORGE

DINÂMICA DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS E DO COBRE NO RIO
NHUNDIAQUARA E COMPLEXAÇÃO DO METAL COM CÉLULAS DE
Eutetramorus sp

Monografia apresentada como requisito parcial
a obtenção do título de Bacharel em
Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Setor
de Ciências da Terra, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Teresa Lombardi
Co-orientadora: Profa. Dra. Eunice da Costa
Machado

Pontal do Paraná
2006

m 483
SSI
182d
2005
erol

M 2005 12

DEDICO ESTE TRABALHO A
TODOS QUE SONHAM E LUTAM
PELOS SEUS IDEAIS...

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto e pela Bolsa de Iniciação Científica.

À Profa. Dra. Ana Teresa Lombardi, pela orientação, ensinamentos e paciência, mas, principalmente pela amizade e confiança.

À Profa. Dra. Eunice da Costa Machado, pela oportunidade de estagio no laboratório de Biogeoquímica, ensinamentos, orientação, confiança, carinho e amizade.

À Nilva e Liciane pela ajuda com as análises em laboratório, ensinamentos e apoio.

Ao pessoal do laboratório de Ecotoxicologia e Biogeoquímica, pelos bate-papos e risadas, e, sobretudo, por tornarem o laboratório um local descontraído e alegre.

Às minhas irmãs de laboratório Jéssica e Manoela pela amizade, companheirismo e paciência. Obrigada pelas ajudas e conselhos, nunca vou esquecer os momentos divertidos e de sufoco que passamos juntas.

À minha turma querida, por toda alegria e amizade. Graças a ela encontrei uma segunda família tão longe de casa. Levarei um pedacinho de cada um dentro de mim pra sempre.

Ao Kassio, pela parceria, amor e amizade, e, sobretudo, pelo apoio e ânimo quando eu estava cansada e desanimada. Espero que esses anos que passamos juntos sejam eternos em nossas lembranças. Obrigada por estar presente em minha vida e me fazer tão feliz.

Às minhas super-amigas, Lua, Jé, Ione, Lia, Manu, Ita, Mari e KK pelos anos de convivência, risadas e apoio. Adoro todas vocês.....

A Mari, pela amizade e carinho.....

Aos poucos meninos existentes em minha sala, Birigui, Junior, André, Daniel e Kassio pelas piadas, alegrias e paciência.

Ao pessoal da "Casa Amarela", pelas festas, risadas, companheirismo e alegrias.

E, principalmente, à minha família, pela educação, apoio, amor e confiança. Obrigada por tudo. Amo muito vocês.

QUEM SABE ???

Diz a mecânica quântica
que as partículas atômicas
se comportam de um jeito
quando são observadas
e de outro quando estão sós
(como, aliás, todos nós).

E quem nos assegura
que o Universo que está aí
não é como aí está
quando ninguém está olhando?

E que quando os astrônomos
se viram do telescópio
para a prancheta
o Universo não faz
uma careta?

O corpo e a mente
têm biografias separadas,
cada um sua memória própria,
seu próprio jogo de charadas,
Meu corpo tem lembranças
- cheiros, tiques, andanças -
que a mente não registrou
e o corpo não tem as marcas
de metade do que a mente passou
(Pior que uma mente insana
num corpo sem muito assunto
é um corpo que já foi ao Nirvana
sem que a mente tenha ido junto.)

Cada um tem um passado
do qual o outro não tem pista
(como um bilhete amassado)
e nem o Mahabharata
explica uma mente anarquista
num corpo socialdemocrata.
Compartilham bioplasmas
e o gosto por certas atrizes,
mas não tem os mesmos fantasmas
nem as mesmas cicatrizes.
Das duas, uma, gente:
ou toda mente é de outro corpo
- ou todo corpo mente.

LUIZ FERNANDO VERÍSSIMO

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	8
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3 AREA DE ESTUDO.....	9
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1 AMOSTRAGEM E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS - RIO NHUNDIAQUARA.....	13
4.1.1 Coletas.....	13
4.1.2 Parâmetros físico-químicos.....	14
4.1.3 Especificação de cobre e capacidade de complexação da água do Rio Nhundiaquara.....	14
4.2 CULTURAS DE <i>EUTETRAMORUS</i> sp. E TITULAÇÕES.....	16
4.2.1 Reagentes e vidraria.....	16
4.2.2 Culturas de Algas.....	16
4.2.3 Complexação e adsorção de cobre em células de <i>Eutetramorus</i> sp.....	17
4.3 TRATAMENTO DOS DADOS.....	18
4.3.2 Tratamento Matemático.....	18
4.3.2 Tratamento Estatístico.....	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1 VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS.....	20
5.1.1 Regime climático e pluviométrico.....	20
5.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD).....	21
5.1.4 Potencial Hidrogênionico (pH).....	22
5.1.5 Carbono Orgânico Dissolvido (COD).....	24
5.1.6 Silicato – Si(OH) ₄	25
5.1.7 Fosfato – PO ₄	26
5.1.8 Nitrogênio.....	28
5.1.9 Biomassa Fitoplanctônica – Clorofila-a.....	31
5.2 ESPECIAÇÃO DO METAL COBRE NO RIO NHUNDIAQUARA.....	35
5.2.1 Micronutriente – cobre (livre).....	35
5.2.2 Cobre Complexado – <i>K'</i> e <i>CL</i>	36
5.3 COMPLEXAÇÃO DO COBRE COM CELULAS DE <i>EUTETRAMORUS</i> SP.....	40
5.3.1 Curva de crescimento.....	40
5.3.2 Titulação.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
7 BIBLIOGRAFIA.....	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição do meio de cultura de água doce WC (GUILLARD e LORENZEN, 1972) modificado usado no presente estudo. pH ajustado para 6,8.	17
TABELA 2 - Concentração de COD (mg C l^{-1}) em diferentes tipos de lagos temperados, segundo OHLE (1972a, em ESTEVES, 1998).	24
TABELA 3 - Concentração de carbono orgânico dissolvido (mg/L) no Rio Nhundiaquara. COD (Carbono Orgânico Dissolvido), CT (Carbono Total) e CI (Carbono Inorgânico).	25
TABELA 4 - Concentração P-total em relação ao estado trófico de lagos, segundo a agência de Proteção Ambiental dos EUA (em Esteves, 1998).	27
TABELA 5 - Concentração N-total em relação ao estado trófico de lagos, segundo a agência de Proteção Ambiental dos EUA (apud ESTEVES 1998).	31
TABELA 6 - Distribuição dos grandes grupos de microorganismos fotossintéticos no Rio Nhundiaquara. Dados obtidos em março/2005. Ponto amostra 1 (Est.1) localiza-se à montante do município de Morretes e ponto amostral 2 (Est.2) à jusante do mesmo.	Erro! Indicador não definido.
TABELA 7a - Descrição dos rios Bacaxá, Seco, Tinguí, Jundiá, Mole, do Padre, Cubatão, Marumbi, Nhundiaquara, Monjolinho, Ribeirão do Feijão em coletâneas de vários trabalhos na literatura para comparação com os resultados encontrados no presente estudo.	33
TABELA 7b - Caracterização físico-química da água dos rio Bacaxá, Seco, Tinguí, Jundiá, Mole, do Padre, Cubatão, Marumbi, Nhundiaquara, Monjolinho, Ribeirão do Feijão em coletâneas de vários trabalhos na literatura para intercomparação com os resultados encontrados no presente estudo. Os valores apresentados são valores médios, exceto o Rio Cubatão para o qual são reportados os valores em mínimos e máximos.	34
TABELA 9 - Parâmetros de complexação obtidos com análises Scatchard plot das titulações em águas naturais do rio Nhundiaquara. Todos os valores são apresentados em log da concentração molar.	38
TABELA 10 - Parâmetros de complexação obtidos usando análises Scatchard Plot da titulação dos dados. Os valores de K' estão em log da concentração e CL estão em Molar.	41

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - Modelo da dinâmica de metais em ambientes aquáticos. (1) Interação iônica simples; (2) Associação com partículas; (3) Precipitação e acúmulo no sedimento; (4) Oxidações e reduções químicas e biológicas; (5) Complexação com ligantes; (6) Absorção e adsorção por microorganismos.	4
FIGURA 02 - Mapa de localização da Bacia do Rio Nhundiaquara, Paraná, Brasil.	9
FIGURA 03 - Estação de coleta 1 no Rio Nhundiaquara á montante da cidade de Morretes com aspectos da vegetação local.	10
FIGURA 04 - Área localizada a montante da estação 2 de coleta, onde há influência da cidade de Morretes sobre o Rio Nhundiaquara.	11
FIGURA 05 - Mapa de Localização do Rio Nhundiaquara e estações de amostragem.	12
FIGURA 06 - Curva de Calibração para cobre ISE. Potencial (mV) registrado em função de -log da concentração de cobre total. Força iônica = 0.1 M (NaNO ₃), pH 5.0. Curva realizada em água destilada. Regressão linear: $y = 133 + 8.11 \log x$, R = 0.958.	19
FIGURA 07 - Distribuição espaço temporal da Temperatura da água no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	20
FIGURA 08 - Precipitação pluviométrica referente à estação meteorológica de Antonina, acumulada 5, 10 e 15 dias anteriores a cada coleta no Rio Nhundiaquara. (Dados: SIMEPAR, 2005).	21
FIGURA 09 - Distribuição espaço temporal da concentração de Oxigênio Dissolvido, OD (mg/L) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	22
FIGURA 10 - Distribuição espaço temporal da concentração do Potencial Hidrogênionico, pH do Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	23
FIGURA 11 - Distribuição espaço temporal da concentração de Silicato, Si(OH) ₄ (μM), média e desvio padrão no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	26
FIGURA 12 - Distribuição espaço temporal da concentração de Fosfato, PO ₄ (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	27
FIGURA 13 - Distribuição espaço temporal da concentração de Nitrato, NO ₃ (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	29
FIGURA 14 - Distribuição espaço temporal da concentração de Nitrito, NO ₂ (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	29

FIGURA 15 - Distribuição espaço temporal da concentração de Amônio, NH ₄ (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	30
FIGURA 16 - Distribuição espaço temporal da concentração de clorofila-a (μg/L) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.	32
FIGURA 17 - Curva de titulação para cobre ISE em águas naturais da estação 1 (1) e 2 (2) do Rio Nhundiaquara para os períodos amostrados. pCu = [-log (Cobre iônico livre)] vs - log (concentração de cobre total). Força iônica = 0,1 M (NaNO ₃), ph 6.8. Julho de 2004 (A), Janeiro de 2005 (B), Julho de 2005 (C) e Dezembro de 2005 (D).....	38
FIGURA 18 - Scatchard plots para os dados titulados da estação 1 (A) e da estação 2 (B) do Rio Nhundiaquara, com regressão linear.	39
FIGURA 19 - Curva de crescimento de <i>Eutetramorus sp</i> cultivada em meio WC modificado (Guillard e Lorenzen 1972). Regressão linear da fase exponencial de crescimento: $y = 4,30 + 0,058 \log x$, R = 0,999.	40
FIGURA 20 - Curva de titulação para cobre ISE em amostras filtradas, com células vivas e mortas da <i>Eutetramorus sp</i> . Potencial (mV) registrado em função do Log da concentração total de metal. Excretados (A), células mortas (B), células vivas (C), Branco (D).....	41
FIGURA 21 - Scatchard Plot dos dados titulados. Ligantes associados ao metal por metal livre em função de ligantes associados ao metal. (A) Material excretado, (B) Células mortas, (C) Células vivas.....	43

RESUMO

Em águas naturais, os metais-traço associam-se a materiais inorgânicos, ligantes orgânicos e superfícies de partículas. Isso faz com que ocorram em uma grande variedade de formas químicas, onde os materiais orgânicos dissolvidos naturais (DOM) são capazes de complexá-los. As microalgas também exercem influência na especiação química dos elementos metálicos através da produção de ligantes orgânicos extracelulares, adsorção e absorção celular. Portanto, interações envolvendo íons metálicos, microalgas e matéria orgânica dissolvida (MOD) podem resultar em alterações da especiação e biodisponibilidade de metais em ambientes naturais. Ao atravessar o município de Morretes e região o Rio Nhundiaquara, foco deste estudo, recebe esgotos domésticos e pesticidas agrícolas. O objetivo desse estudo constituiu em avaliar os efeitos da atividade antrópica sobre a dinâmica do cobre e de variáveis físico-químicas nas águas do Rio Nhundiaquara, Paraná. Para tanto, foram determinadas as características físico-químicas do ambiente, a concentração de cobre livre, a capacidade de complexação de águas naturais e o poder de complexação dos excretados algais e da superfície de células vivas e mortas da referida microalga. A potenciometria, utilizando-se eletrodo seletivo ao íon (ISE) cobre foi a técnica usada para as titulações. Os resultados demonstraram que o Rio Nhundiaquara apresenta elevado potencial de recuperação da influência exercida pelos efluentes urbanos da cidade de Morretes. As amostras do Rio Nhundiaquara apresentaram concentrações de cobre abaixo do limite estipulado pela legislação, e seus valores estão diretamente relacionados com os parâmetros de complexação, os quais apontam para uma grande capacidade de tamponamento do aporte desse metal. Os experimentos de interações do metal cobre com *Eutetramorus* sp possibilitaram uma melhor compreensão da dinâmica do metal em relação à sua capacidade de adsorção na superfície celular e de complexação com exudatos algais. Os resultados mostraram um aumento no valor da constante de estabilidade condicional seguindo a ordem: material excretado; células mortas suspensas; e células vivas suspensas, indicando que a *Eutetramorus* sp., isolada do Rio Nhundiaquara, apresenta potencial contribuição à capacidade de complexação (K' e CL) das águas do sistema lótico estudado.

Palavras-Chave: Complexação de águas naturais, Complexação algal, Rio Nhundiaquara, alga *Eutetramorus* sp, Parâmetros físicos - químicos.

1 INTRODUÇÃO

A imensidão da Terra e a aparente infinidade dos recursos naturais fomentaram, por séculos, uma tradicional tranqüilidade a respeito da poluição e despejos de dejetos tóxicos no ambiente. Historicamente, as interações entre os seres vivos e o meio natural vêm levando ao desenvolvimento urbano as regiões costeiras. Isso tem provocado um intenso povoamento das margens e bacias de drenagem dos sistemas estuarinos, tornando-os vulneráveis e implicando em aparecimento de problemas ambientais relacionados, principalmente, à ausência de planejamentos adequados.

Nesse contexto, um dos principais focos de atenção são os recursos hídricos, que vêm sendo profunda e rapidamente alterados pelo Homem. A industrialização, os processos de exploração turística e a agricultura são exemplos de intervenções que têm promovido modificações na distribuição, quantidade e qualidade das águas. Isso representa segundo TUNDISI (1999), uma ameaça à sobrevivência da humanidade e das demais espécies que habitam o planeta.

Tais atividades são frequentemente responsáveis pela introdução de poluentes na forma diluída, em níveis traço. Uma vez no ecossistema, o destino de tais elementos é variável, enquanto uns são imobilizados, outros sofrem transformações. Porém, muitos desses compostos permanecem em formas tóxicas por longos períodos e podem ser facilmente transportados e assimilados em cadeias tróficas (NOGUEIRA *et al.*, 2005).

Apesar dos progressos nos últimos anos, o conhecimento dos fluxos biogeoquímicos em rios e bacias hidrográficas sujeitos às atividades antrópicas é ainda pouco conhecido e limitado a alguns descritores da qualidade das águas. De acordo com MEYBECK e HELMER (1992) a qualidade de um ambiente aquático pode ser caracterizada pela presença e composição de substâncias inorgânicas e/ou orgânicas em diferentes concentrações e especiações além da estrutura biológica. Segundo os autores, é necessário compreender as respostas metabólicas dos ecossistemas aquáticos para que se possa analisar os efeitos dessas alterações e fornecer fomento para a gestão dos recursos hídricos.

Os ecossistemas aquáticos, dentre eles os sistemas lóticos são constituídos por íons majoritários (Ca^{2+} , HCO_3^-), micro- e macronutrientes (Co, Cu, SiO_2 , NO_3^- ,

NH₄⁺, e ortofosfatos), compostos orgânicos (ácidos húmicos e fúlvicos), além de substâncias xenobióticas e seus subprodutos, conhecidos como micropoluentes orgânicos (pesticidas, hidrocarbonetos de petróleo, compostos poliaromáticos, bifenilas policloradas, solventes). Elementos-traço também se encontram presentes nos rios, podendo causar em maiores concentrações diversos danos ambientais à biota (LOMBARDI, 2006).

O processo de eutrofização é um dos principais problemas ambientais em ecossistemas aquáticos; é caracterizado pelo aumento gradativo de nutrientes que, através de um desequilíbrio entre os processos de produção e decomposição da matéria orgânica, provocam alterações na estabilidade do ecossistema. Segundo o 1º programa da OECD (Organization for Economic Co-Operation and Development), na maioria dos casos, fósforo é o principal fator que contribui para o desenvolvimento da eutrofização, mesmo em situações onde outro nutriente, como o nitrogênio, seja limitante.

Os metais são introduzidos no ambiente através de vários processos, dentre eles os industriais, descargas domésticas e queima de combustíveis fósseis. Apesar dos metais serem componentes naturais da biosfera e hidrosfera, a ocorrência dos mesmos em quantidades pouco acima das normais, impõe riscos à saúde pública e transtornos ecológicos inaceitáveis que caminham contra a atual noção de desenvolvimento sustentável.

Uma das principais causas de preocupações em relação à presença de metais no ambiente é sua persistência e toxicidade. Isso significa que tais elementos entram em ciclos biogeoquímicos globais nos qual a água é o principal vetor de distribuição.

A toxicidade de cada metal é variável e depende das características de cada elemento, sua disponibilidade para incorporação biológica, concentração e forma química, bem como de sua essencialidade em processos metabólicos ao longo da vida do organismo (REZENDE e LACERDA, 1986; CHAPMAN *et al.*, 1996). De acordo com o modelo clássico do íon livre (FIM-Free-Ion Model) sobre a disponibilidade de metais para organismos vivos, a forma de maior toxicidade de um íon metálico é sua forma livre, i.e, hidratada.

Considera-se atualmente que os metais complexados não estão diretamente disponíveis aos organismos, porém sabe-se que nem todo metal ligado é

biologicamente indisponível. Há casos onde o metal ligado a ligantes orgânicos lipofílicos podem passivamente difundir-se através da membrana celular e, portanto entrar facilmente na célula (PHYNNEY e BRULAND, 1994), causando efeitos tóxicos.

Portanto, para avaliar o verdadeiro impacto dos metais é necessário levar em consideração sua especiação, ou seja, a forma em que este se encontra no ambiente (LOMBARDI *et al.*, 2002). Alguns metais como o ferro e o cobre são requeridos em níveis traço e participam de várias reações enzimáticas. No entanto podem ser tóxicos em concentrações da ordem de 10^{-7} mol L⁻¹ (XUE & SIGG, 1993), podendo competir com elementos essenciais tais como Ca e Mg, desestabilizando a estrutura de biomoléculas.

O cobre é um metal de transição, que apresenta alta condutibilidade elétrica e térmica. Pode ser encontrado em diversos minerais. Sua aplicação por excelência é como material condutor (fios e cabos), mas pode ser utilizado em tubos de encanamentos, motores elétricos, interruptores, tubos de vácuo e magnêtrons de fornos microondas, entre outros. O sulfato de cobre II é um composto de cobre de grande importância industrial, é empregado na agricultura, na purificação da água e como conservante da madeira (WIKIPÉDIA, 2006). Além disso, foi muito utilizado como algicida em reservatórios de abastecimento, para o controle de microalgas e cianobactérias responsáveis por odor e toxinas nessas águas (CETESB, 2006).

O cobre e outros elementos traço podem ser bioacumulados nos organismos e biomagnificados nas cadeias tróficas de ecossistemas aquáticos e terrestres (NRIAGU, 1990), podendo resultar em alterações na estrutura e função de comunidades. Sabe-se que em ecossistemas aquáticos, um metal pode seguir diversos destinos, tais como interações iônicas simples, associação com partículas, precipitação e acúmulo no sedimento, oxidações e reduções químicas e biológicas, complexação com ligantes, além de adsorção e absorção por microorganismos (VOELKER e KOGUT, 2001). No entanto a ciência é ainda incapaz de prever a extensão dos riscos impostos por uma contaminação ambiental causada por metais.

Como base para discussão e compreensão deste trabalho, a FIGURA 01 apresenta um modelo da dinâmica de metais em ecossistemas lóticos e, logo abaixo, uma descrição dos seis processos básicos desempenhados pelos metais nesses ambientes.

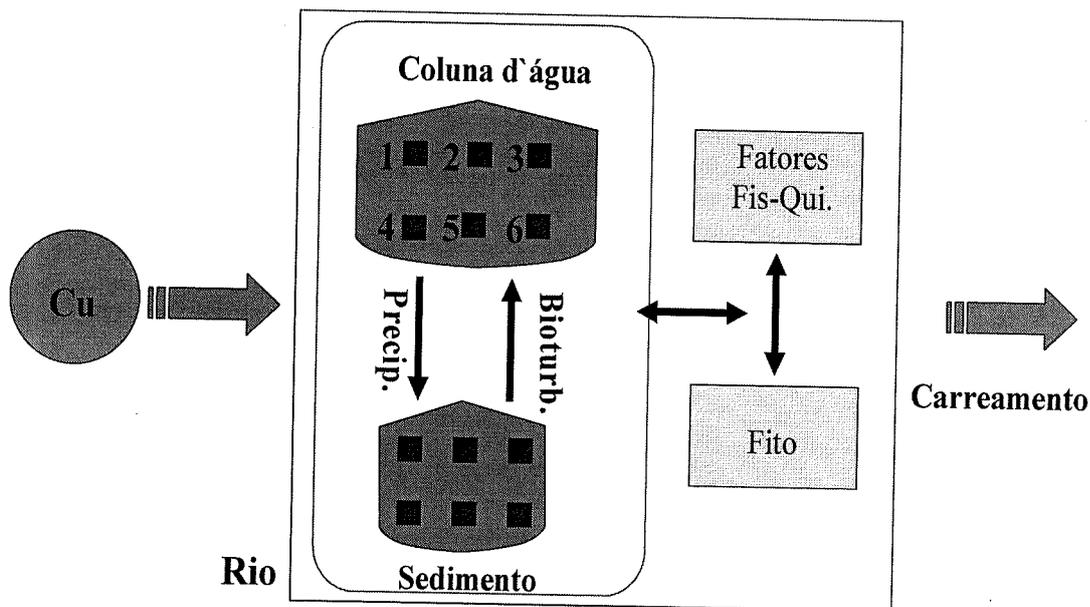


FIGURA 01 - Modelo da dinâmica de metais em ambientes aquáticos. (1) Interação iônica simples; (2) Associação com partículas; (3) Precipitação e acúmulo no sedimento; (4) Oxidações e reduções químicas e biológicas; (5) Complexação com ligantes; (6) Absorção e adsorção por microorganismos.

1. Na Interação iônica simples, metais em soluções aquosas passam para a fase sólida substituindo íons que estavam compensando cargas positivas ou negativas da estrutura mineral. A maioria dos compostos iônicos é solúvel em água e liberam energia quando se ligam fortemente às moléculas de água (MENDHAM, 2002)
2. Associação com partículas: Em águas continentais, muitos metais encontram-se associados com ânions inorgânicos (por exemplo, HCO_3^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , HS^- , Cl^-), ligantes orgânicos (por exemplo, aminoácidos, ácidos fúlvicos e húmicos, carboidratos e polissacarídeos) e com superfícies de partículas (por exemplo, óxidos de Mn e Fe, e superfícies biológicas) (STUMM e MORGAN, 1981).
3. Precipitação e acúmulo no sedimento: De acordo com MEITES (1981), a precipitação pode ser dividida em dois processos distintos, a nucleação (formação da partícula) e aglomeração (agregação de íons ao núcleo). A saturação dessas partículas promove a sedimentação e conseqüente acúmulo no sedimento.
4. Oxidações e reduções químicas e biológicas: Oxidação é o processo químico em que uma substância perde elétrons, partículas elementares de

sinal elétrico negativo. O mecanismo inverso, a redução, consiste no ganho de elétrons por um átomo, que os incorpora à sua estrutura interna. Os mais fortes agentes redutores são os metais altamente eletropositivos, como o sódio, que facilmente reduz os compostos de metais nobres e também libera o hidrogênio da água. O caráter oxidante e redutor de uma substância depende dos outros compostos que participam da reação, além da acidez e alcalinidade do meio em que ocorre (UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, 2006).

5. Complexação com ligantes: Uma reação de complexação com um íon metálico envolve a substituição de uma ou mais moléculas do solvente coordenada ao íon por outro ou outros grupos nucleofílicos (MENDHAM, 2002). O complexo quelado é geralmente mais estável que o complexo correspondente. Considera-se atualmente que os metais complexados não estão prontamente disponíveis para as microalgas, e que o complexo metal-ligante orgânico atua como um reservatório para o íon metálico livre em solução.
6. Absorção e adsorção por microorganismos: A absorção caracteriza-se por ser um processo difusional no qual uma espécie química aquosa passa para o interior da estrutura de uma fase particulada, que pode ser um microorganismo (KASAN, 1993). Já a adsorção ocorre quando uma espécie é adsorvida na superfície externa de uma partícula, através de interações fracas do tipo Van der Waals (NAKSHINA, 1985). Caracteriza-se também pela associação química direta entre íons ou moléculas em solução ou fase sólida (GARGIONI, 1991)

Atualmente, muitos estudos têm relatado o efeito de metais em ambientes naturais, demonstrando que sua toxicidade, ciclo biogeoquímico e disponibilidade nutricional são altamente controlados pela forma em que o elemento é presente no ambiente. No caso do cobre, a complexação por ligantes orgânicos (MORRISON e FLORENCE, 1989; TWISS, 1996; SUNDA e HUNTSMAN, 1998) altera significativamente sua biodisponibilidade. Evidências experimentais demonstram que compostos orgânicos excretados pelas células fitoplanctônicas complexam metais traço tanto em culturas como em águas naturais (XUE e SUNDA, 1997; SUNDA e

HUNTSMAN, 1998; CROOT *et al.*, 2000; LOMBARDI *et al.*, 2005). Dependendo da natureza do agente quelante, a toxicidade do metal pode ser diferentemente afetada.

A interação entre microalgas e metais envolve não somente a produção de ligantes orgânicos extracelulares capazes de complexar metais, mas também adsorção passiva de íons metálicos na superfície celular (CRIST *et al.*, 1990; KNAUER, 1996; CAMPBELL *et al.*, 1997, KNAUER *et al.*, 1997), assim como atividades intracelulares de absorção (HUTCHINS *et al.*, 1986; VASCONCELOS *et al.*, 2001; LOMBARDI *et al.*, 2002). Alguns estudos apresentam a interação metal-biomassa algal como resultante de processos de adsorção isotérmica (CHU *et al.*, 1997; KRATOCHVIL *et al.*, 1997).

A superfície celular fitoplanctônica tem papel significativo na ligação de substâncias orgânicas e inorgânicas. CAMPBELL *et al.*, (1997) relatou a ocorrência de ligações da MOD natural com caráter anfifílico (ácidos húmicos e fúlvicos) na superfície de *Chlorella pyrenoidosa* e *Synechococcus leopoliensis*. XUE *et al.*, (1988) demonstrou ligações de metais em superfícies celulares de algas e correlacionou o processo a grupos funcionais que possuem alta afinidade por íons metálicos e carga negativa no entorno, possivelmente atribuído aos ácidos carboxílicos e grupos fosfatados.

XUE e SIGG (1990) investigaram a ligação do cobre na superfície celular (adsorção) de *Chlamydomonas reinhardtii* e com a matéria orgânica excretada pela alga. Os autores concluíram que a associação do cobre aos exudados algais tem maior efeito na especiação do metal do que a ligação à superfície algal. CRIST *et al.*, (1990; 1994) reportou a natureza dos processos envolvendo ligação de metais à superfície celular, e sugeriu que espécies catiônicas e neutras estão presentes nas superfícies algais.

Portanto, a habilidade de acumular metais na superfície celular de muitas microalgas a partir de soluções aquosas diluídas, assim como a produção de ligantes extracelulares, é capaz de regular a concentração residual de íons metálicos dissolvidos em oceanos, lagos e rios (MOREL e HUDSON, 1985; SIGG, 1987; WHITFIELD e TURNER, 1987; LOMBARDI *et al.*, 2002). Contudo, sabe-se que as superfícies de células algais interagem com diversos outros agentes externos circundantes, além dos metais. Dentre estes podemos citar microorganismos,

matéria orgânica dissolvida natural e elementos nutritivos (CAMPBELL *et al.*, 1997; SCHMITT *et al.*, 2001).

O material orgânico dissolvido (MOD), quer recém liberado por microalgas, ou já degradado (substância húmica), constitui considerável parcela do total de carbono orgânico dissolvido (COD) em ecossistemas aquáticos (REUTER e PERDUE, 1977). A presença de grupos funcionais, particularmente $-COOH$ e $-OH$ fenólico, que podem ser protonados e desprotonados na amplitude de pH encontrado em águas naturais, faz com que esse material assuma um comportamento polieletrólítico e funcione como agente tamponante de íons metálicos (BUFFLE e DE VITRE, 1994). Desse modo, assim como os produtos de excreção das microalgas, a substância húmica altera a partição de metais passíveis de complexação, seqüestrando ou liberando esses íons para o ambiente (FOX, 1984; DE OLIVEIRA *et al.*, 1995; LOMBARDI e JARDIM, 1997a; 1997b).

Em ambientes aquáticos naturais, onde células algais vivas estão relacionadas à produção primária e são a base da cadeia alimentar aquática, processos ativos e passivos de absorção são importantes e colaboram na transferência trófica do metal (NOGUEIRA *et al.*, 2005). Poucos estudos de interação metal-microalga levam em consideração a força de associação entre íons metálicos e superfícies celulares algais por cálculos de equilíbrio, os quais fornecem informações relacionadas à concentração de ligantes (informação quantitativa) e constante de estabilidade condicional do complexo (informação qualitativa).

Considerando que em ambientes naturais, as microalgas dividem o espaço com a MOD e metais, justifica-se o interesse no estudo desta relação triangular: MOD – microalgas – metais. Dados publicados mostram que a maioria das microalgas liberam matéria orgânica dissolvida capaz de complexar metais no ambiente. Portanto, esses organismos podem modificar a especiação do metal, o que, por sua vez controla a disponibilidade do metal e/ou sua toxicidade no ambiente. Esta pesquisa avaliou o impacto de atividades antrópicas sobre o Rio Nhundiaquara na região do município de Morretes.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar o impacto das atividades antrópicas sobre o Rio Nhundiaquara na região do município de Morretes através de variáveis ambientais incluindo a dinâmica do cobre. Além disso foi investigado o comportamento do cobre em relação à sua capacidade de complexação em amostras naturais, a interação metal-microalga em experimentos de laboratório e alguns parâmetros físico-químicos no ambiente natural.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (A) Isolamento e classificação de pelo menos uma microalga dos locais amostrados para que fosse cultivada em laboratório em culturas unialgais.
- (B) Determinação da concentração de cobre livre em amostras naturais.
- (C) Determinação de variáveis físico-químicas, tais como nutrientes dissolvidos (nitrogênio, fósforo, sílica) oxigênio dissolvido, clorofila-a e carbono orgânico dissolvido.
- (D) Determinação da capacidade de complexação e concentração de ligantes em amostras naturais do Rio Nhundiaquara para avaliar o efeito das atividades antrópicas sobre a capacidade suporte de íons metálicos no ambiente (cobre como padrão).
- (E) Capacidade de complexação, analisada por titulação potenciométrica, obtida para o metal cobre com os excretados das células algais e com a microalga isolada Rio Nhundiaquara, considerando células vivas e mortas.

3 AREA DE ESTUDO

A Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara situa-se junto ao setor central do litoral paranaense (FIGURA 02), entre os paralelos 25°40'55" e 49°37'45"S e os meridianos 48°40'55" e 49°00'41"W. Compõe uma área de 739,36 Km², que abrange três regiões paisagísticas: Primeiro Planalto, Serra do Mar e Planície Costeira (BASSFELD, 2001). O Rio Nhundiaquara deságua em forma de delta na Baía de Paranaguá entre as cidades de Paranaguá e Antonina e sua bacia hidrográfica resulta principalmente da integração das micro-bacias do Rio São João, Mãe Catira e a do Rio Ipiranga (FIGURA 05). Inicia sua trajetória em área de preservação (Mata Atlântica) e elevado declive (FIGURA 03). No entanto, após certo percurso sofre os efeitos da agricultura e resíduos de atividades humanas tais como o incremento de fertilizantes e agrotóxicos, além do esgoto doméstico (FIGURA 04).

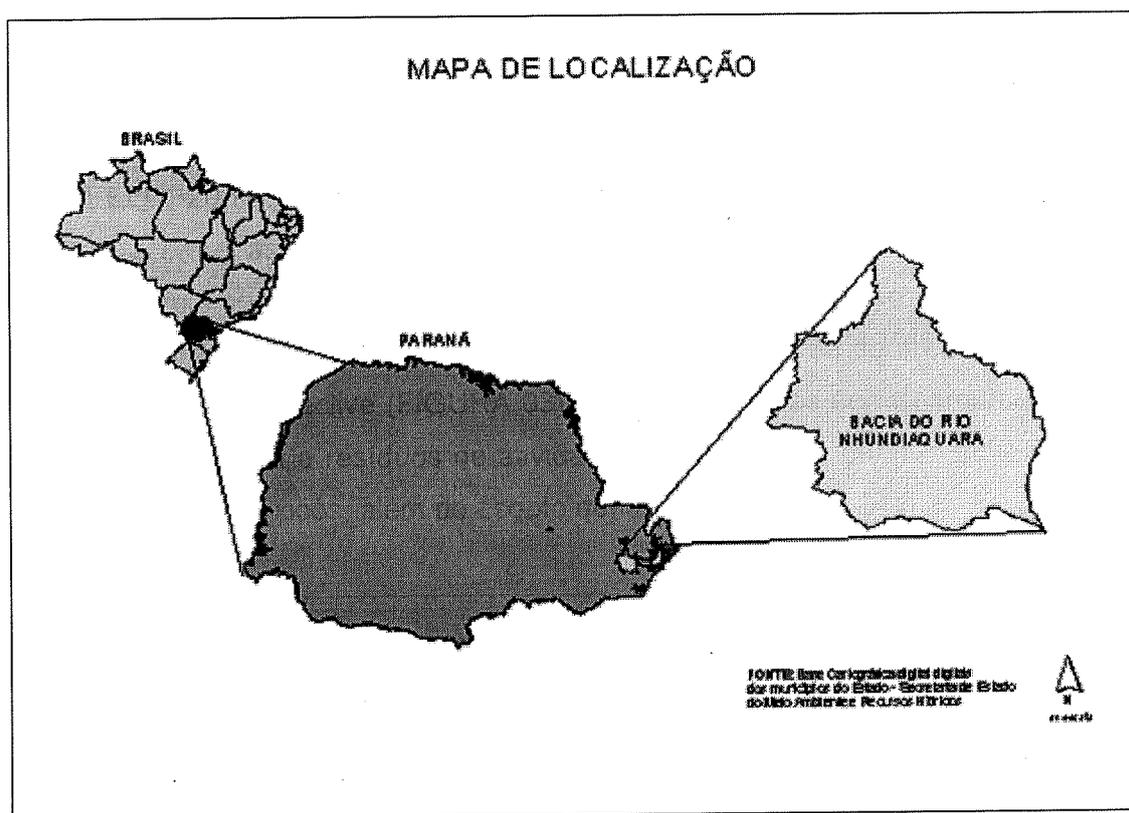


FIGURA 02 - Mapa de localização da Bacia do Rio Nhundiaquara, Paraná, Brasil.

Conforme MARCHIORO (1999, em BASSFELD 2001) a área do município de Morretes, na qual está localizada a maior parte da Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara, é de 66.275,80 ha, dos quais cerca de 18,50% correspondeu em 1996, a área de exploração agrícola, localizada principalmente na planície aluvial (BASSFELD, 2001).

Em parte a agricultura pode ser caracterizada como uma atividade familiar. Contudo, as práticas de uma agricultura mecanizada mais produtiva estão mudando tal característica. O cultivo de alface, feijão, chuchu, pepino, tomate, pimentão e abobrinha são as principais atividades agrícolas. Mas também estão presentes as culturas de banana, arroz de sequeiro, arroz irrigado, maracujá, gengibre e cana de açúcar, assim como criação de búfalos (EMATER, 1995)

Fundada em 1721, Morretes é a cidade mais importante da região. Localiza-se no pé da Serra do Mar e é cortada pelo Rio Nhundiaquara (FIGURA 04). De acordo com o censo de 2000 realizado pelo IBGE, sua população, que vive principalmente da hortifruticultura e do turismo, é de 15.273 habitantes (ILHA DO MEL PRESERVE, 2004).

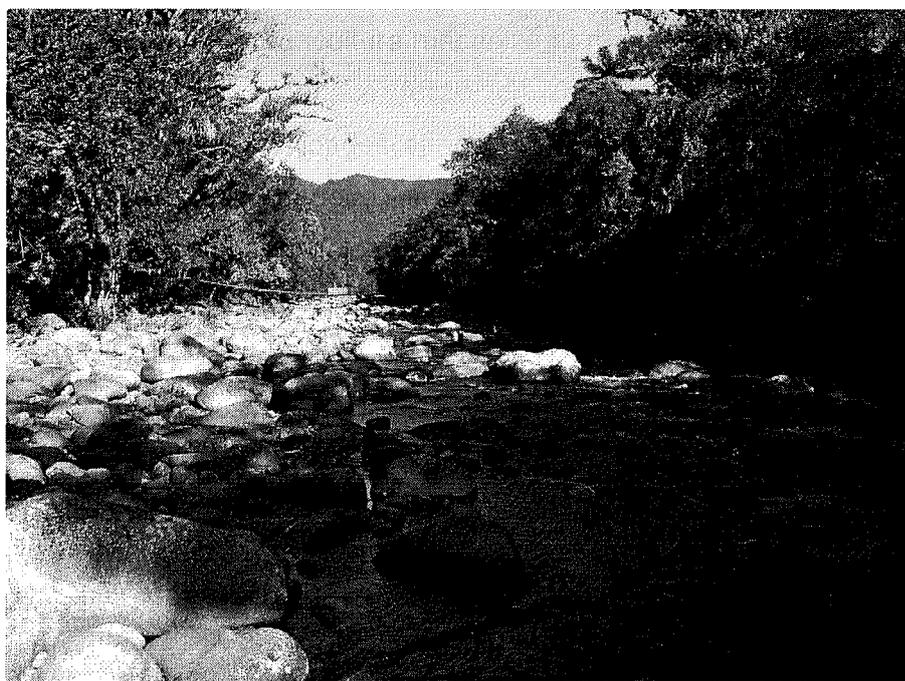


FIGURA 03 - Estação de coleta 1 no Rio Nhundiaquara á montante da cidade de Morretes com aspectos da vegetação local.

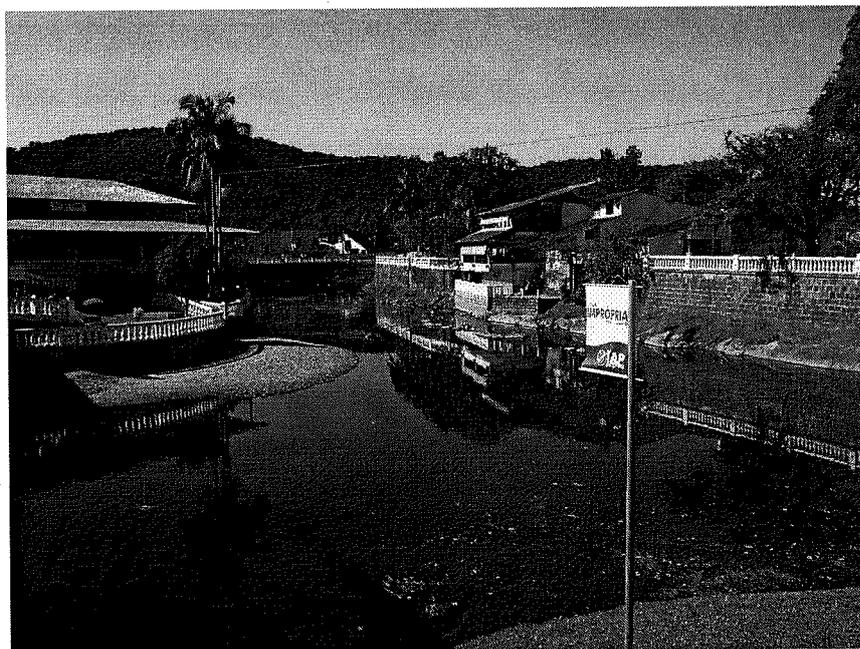


FIGURA 04 - Área localizada a montante da estação 2 de coleta, onde há influência da cidade de Morretes sobre o Rio Nhundiaquara.

O Rio Nhundiaquara é navegável em aproximadamente 12 km, e permite a prática de esportes como canoagem, bóia-cross e pescarias, o que leva a uma interferência humana cada vez maior no ecossistema, através do desenvolvimento do turismo na região. De acordo com a Conservation International a referida bacia foi considerada como área passível de proteção (CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL BRASIL, 2004).

De acordo com dados da SANEPAR (2006) apenas 978 habitantes do município de Morretes possuem atendimento de esgoto. A ampliação do Sistema de Esgotamento Sanitário está sendo realizada com as obras do projeto "Paraná San" do Governo do Estado do Paraná, que pretende ampliar a rede coletora (33.000m) e realizar 1.500 ligações novas (corpo receptor: Rio Nhundiaquara). Tal sistema ainda não foi implementado e os esgotos e outros resíduos produzidos pela população são descartados diretamente no Rio Nhundiaquara e seguem para a Baía de Antonina (FIGURA 05), no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, litoral do Paraná.



Fonte: Laboratório de Oceanografia Costeira e Geoprocessamento do CEM-UFPR.

FIGURA 05 - Mapa de Localização do Rio Nhundiaquara e estações de amostragem.

A área de estudo encontra-se na Região Bioclimática 1 (EMBRAPA, 1986 em MARQUES, 2004), apresentando pelo sistema de Holdridge o clima submontano (tipo temperado quente) úmido e muito úmido (VICENTINI *et al.*, 1993, em MARQUES, 2004). A Bacia do Marumbi, na vertente oceânica, apresenta o clima subtropical úmido mesotérmico com verões quentes, tendo a temperatura média dos meses mais quentes superior a 22° C, e meses mais frios isentos de geadas, com temperatura média inferior a 18° C, sem estação seca. Na bacia do rio Marumbi encontramos a Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana e Campos de Altitude no alto da Serra do Mar (MARQUES, 2004).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Em laboratório foram feitas culturas de microalgas isoladas a partir do Rio Nhundiaquara obtidas em dois pontos distintos (FIGURA 05): a montante do município de Morretes, 25°25'40.6"S e 48°52'37.3"W (referência de ambiente não contaminado) e a jusante do mesmo município, 25°28'58.7"S e 48°49'28.7"W (ambiente contaminado por atividade antrópica). As algas foram coletadas do ambiente utilizando-se rede de fitoplâncton com 20 µm de abertura de poro e o isolamento foi feito em meio nutritivo acrescido de ágar (10 g.L⁻¹) e. A alga *Eutetramorus sp* foi isolada, classificada em nível de gênero e utilizada para o desenvolvimento desta pesquisa.

Análises físico-químicas da água coletada no Rio Nhundiaquara foram também realizadas e forneceram informações fundamentais para o entendimento da dinâmica do cobre no ambiente.

4.1 AMOSTRAGEM E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS - RIO NHUNDIAQUARA

4.1.1 Coletas

Amostras de água foram coletadas em período seco (inverno) e chuvoso (verão) nos anos de 2004 e 2005. As coletas foram realizadas sempre considerando dois pontos amostrais situados a montante e jusante da cidade de Morretes. As amostras da água superficial foram obtidas com o auxílio de um coletor de plástico e posteriormente acondicionadas em galões de plástico previamente lavados com solução de ácido clorídrico (HCl 0,1 mol.L⁻¹). Em laboratório foram filtradas com filtros de acetato de celulose (Schleicher & Schull 0,45 µm), pré-lavados com ácido clorídrico (24 horas, 1,0 mol.L⁻¹) e conservados na geladeira para posterior análise de metal. O particulado retido no filtro foi conservado em freezer para determinação de clorofila-a.

4.1.2 Parâmetros físico-químicos

As variáveis físico-químicas investigadas para a caracterização da qualidade da água foram: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrato, nitrito, amônio, fosfato e silicato) e clorofila-a de acordo com metodologias padrões (GRASSHOFF *et al.*, 1983, STRICKLAND e PARSONS, 1972, CARMOUZE, 1994). A matéria orgânica dissolvida foi quantificada através do método de combustão com um analisador SHIMADZU (TOC- Vcph) (Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, Laboratório de Ficologia). As amostras de oxigênio dissolvido foram fixadas imediatamente após a coleta e as de nutrientes foram filtradas em filtros Schleicher & Schuell (GF-52C), acondicionados em frascos de polietileno e conservadas sob refrigeração, até posterior análise em laboratório.

4.1.3 Especificação de cobre e capacidade de complexação da água do Rio Nhundiaquara

As análises de especificação e complexação do cobre foram realizadas em temperatura controlada (22 ± 2 °C) e força iônica ajustada para $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ com NaNO_3 ultrapuro (MicroSelect, Fluka Biochemika). O pH foi mantido constante (pH entre 6,8 – 6,9) utilizando-se o tampão orgânico PIPES em concentração final de $7 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Utilizou-se recipiente de plástico ou policarbonato para reduzir a adsorção do cobre na parede do frasco. Todos os materiais utilizados nas titulações foram lavados com $\text{HCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, enxaguados com água destilada, secos em estufa e armazenados em sacos plásticos até o momento do uso. Os padrões de cobre para uso diário foram feitos a partir de um padrão mais concentrado $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ e conservados a 22 °C.

A potenciometria, utilizando-se eletrodo seletivo ao íon (ISE) cobre, foi a técnica usada para as titulações e determinação da concentração de cobre livre (Cu^{2+}) em amostras naturais do Rio Nhundiaquara e no meio de cultura das microalgas. Potenciais (mV) foram obtidos com um medidor de pH/ISE modelo AN2000 ANALION, em pH natural mantido com tampão PIPES. Utilizou-se o PIPES por ser um tampão orgânico ($\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}_2$) com baixa capacidade de

complexação com o metal escolhido para os experimentos. Calibrações diárias do sistema ISE (FIGURA 06) foram feitas com água deionizada em pH 5,0 e com o mesmo ajuste de força iônica.

Cada titulação foi processada através da adição de diferentes concentrações de cobre a partir de solução padrão do metal. Nas titulações, o sulfato de cobre (CuSO_4) foi incrementado em concentrações de $8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $4.4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em pH constante. As titulações assim realizadas com amostras naturais filtradas do Rio Nhundiaquara foram feitas com 3 réplicas em cada um dos dois pontos amostrais. Entre cada adição do padrão aguardava-se um período de estabilização do eletrodo. Como consequência dessa espera, cada titulação durou cerca de 8 - 9 horas. Os dados das titulações foram empregados na obtenção dos parâmetros de complexação, constante de estabilidade condicional (K') e concentração de ligantes (CL).

Para cada titulação foi realizado um branco experimental, também titulado com o metal cobre. Este é confeccionado a partir de água deionizada, seguindo o mesmo procedimento feito para as amostras de água natural tituladas.

A técnica potenciométrica com eletrodo de cobre apresenta o problema de limite de detecção inadequado às concentrações que normalmente são detectadas no ambiente. SWALLOW *et al.*, (1978) reporta que a concentração total de ligantes deve estar dentro do alcance linear de resposta do eletrodo, limitando o uso do método quando as concentrações de ligantes são menores que $10^{-6} - 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Porém, de acordo com LOMBARDI e VIEIRA (2000) isto é pertinente apenas quando a calibração é feita por simples diluição de padrões de metais e que tal problema pode ser superado com o uso de tampões metálicos. Um tampão metálico fornece uma fonte controlada de íons metálicos de maneira similar à regulação da concentração de íon hidrogênio por tamponamento de pH. Dessa forma o alcance de resposta linear do eletrodo pode ser ampliado até concentrações nano a pico molares ($10^{-9} - 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$), que são as concentrações normalmente presentes em ambientes naturais.

4.2 CULTURAS DE *EUTETRAMORUS* sp. E TITULAÇÕES

4.2.1 Reagentes e vidraria

Água deionizada foi utilizada na preparação das soluções estoque dos nutrientes, vitaminas e dos meios de cultura. Essa foi obtida pelo sistema de purificação de água AQUAPUR abastecido com água destilada. Para minimizar qualquer tipo de contaminação, as manipulações laboratoriais foram realizadas em frascos de polietileno lavados com ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ por 24 horas e cuidadosamente enxaguados com água destilada, secos em estufa antes do uso. Manipulações que requerem precauções contra possíveis contaminações por partículas aéreas e microorganismos (bactérias e fungos) foram feitas em cabine de fluxo laminar (VLFS12 – VECO).

4.2.2 Culturas de Algas

Culturas unialgais de *Eutetramorus* sp foram mantidas em tubos de ensaio com meios de cultura WC (GUILLARD e LORENZEN, 1972) modificado, sem EDTA (agente quelante de íons metálicos) e sem TRIS (tampão de pH). A ausência desses dois compostos deve-se à elevada capacidade de complexação dos mesmos com cobre, o que iria interferir na capacidade de complexação da MOD liberada pelas algas. A composição do meio WC é mostrada na TABELA 1. Os meios nutritivos foram esterilizados em autoclave a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos e inoculados somente após 24 horas. O acompanhamento das culturas foi feito através da dinâmica populacional quantificada através de contagem celular ao microscópio com lamina HS – ROSENTHAL e concentração de clorofila-a. As culturas foram mantidas em condições controladas de irradiância ($180 \text{ } \mu\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) com fotoperíodo de 12/12 h (claro/escuro) e temperatura de $21\text{-}23^\circ\text{C}$.

TABELA 1 - Composição do meio de cultura de água doce WC (GUILLARD e LORENZEN, 1972) modificado usado no presente estudo. pH ajustado para 6,8.

Composto	Concentração (mg L ⁻¹)	Concentração (10 ⁻⁶ mol L ⁻¹)
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	36,76	250
MgSO ₄ · H ₂ O	36,97	150
NaHCO ₃	12,60	150
K ₂ HPO ₄	8,71	50
NaNO ₃	85,01	1000
Na ₂ SiO ₃ · 9 H ₂ O	28,42	100
FeCl ₃ · 6H ₂ O	3,15	11,7
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,01	0,04
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0,022	0,08
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0,01	0,05
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	0,18	0,9
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,006	0,03
H ₃ BO ₃		16
Vitaminas		
Tiamina HCl	0,1	
Biotina		
B ₁₂	5x10 ⁻⁴	

4.2.3 Complexação e adsorção de cobre em células de *Eutetramorus sp*

Para a realização da titulação potenciométrica dos excretados algais, a cultura de *Eutetramorus sp* foi filtrada no início da fase estacionária de crescimento. Nesse ponto, o número de células/mL e concentração de clorofila-a foram determinados e o filtrado encaminhado para o procedimento de titulação. Com esses resultados, obteve-se a capacidade de complexação dos materiais orgânicos dissolvidos (MOD) produzidos e liberados ao ambiente pelas células algais. A filtração da cultura algal foi feita empregando-se filtros de membrana com 0,45 e 0,22 µm de abertura de poro previamente lavados em ácido clorídrico 1,0 mol L⁻¹ e enxaguados com água pura.

Para avaliar a capacidade de adsorção de cobre na superfície das células algais, utilizou-se células vivas e mortas oriundas da mesma cultura empregada para a complexação da MOD. As células algais foram mortas através de aquecimento, submetendo-as por uma hora à temperatura de 60 ± 10 °C (PARENT e CAMPBELL, 1994).

Para as titulações foram usadas soluções de 50 mL com células vivas, com células mortas e somente o filtrado. As soluções foram armazenadas em frascos previamente autoclavados e mantidos em refrigerador até o momento da titulação, não excedendo sete dias. Mesmo refrigeradas, as amostras de MOD não devem ser estocadas por períodos superiores a 7 dias, exceto quando as amostras de excretados tenham sido filtradas em membrana 0,22 μm e guardadas em frascos autoclavados. Desse modo torna-se possível estocá-las por um período maior, já que há exclusão bacteriana através de filtros de 0,22 μm . Todas titulações foram realizadas com 3 réplicas.

As propriedades de complexação dos exudados algais e da superfície de células algais vivas e mortas em relação ao do Cu^{++} foram também obtidas através de titulação potenciométrica, monitorando-se o cobre livre através de eletrodo seletivo (ISE). Para uma concentração total de cobre de $8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, cerca de 1 hora foi necessária para a estabilização do ISE.

Os procedimentos para titulação das amostras estão descritos na seção 4.1.3 (*Especiação de cobre e capacidade de complexação da água natural do Rio Nhundiaquara*).

4.3 TRATAMENTO DOS DADOS

4.3.2 Tratamento Matemático – Modelo de Scatchard

A resposta do eletrodo, em mV, é relacionada às atividades dos íons em solução, tornando-se necessário uma calibração empírica para fornecer resultados em termos de concentração. Se mantivermos o coeficiente da atividade constante para amostras e experimentos, podemos determinar as concentrações dos ligantes.

Os dados das titulações potenciométricas foram convertidos de milivolts para $\text{pCu} = -\log [\text{Cu}^{2+}]$ por meio da equação de Nernst, na qual a variação do eletrodo (29-30 mV) foi obtida através de curvas de calibração realizadas periodicamente (FIGURA 06). A equação de Nernst é matematicamente descrita em função do comportamento do eletrodo em solução e a sua relação com a potenciometria é detalhada em EVANS (1987).

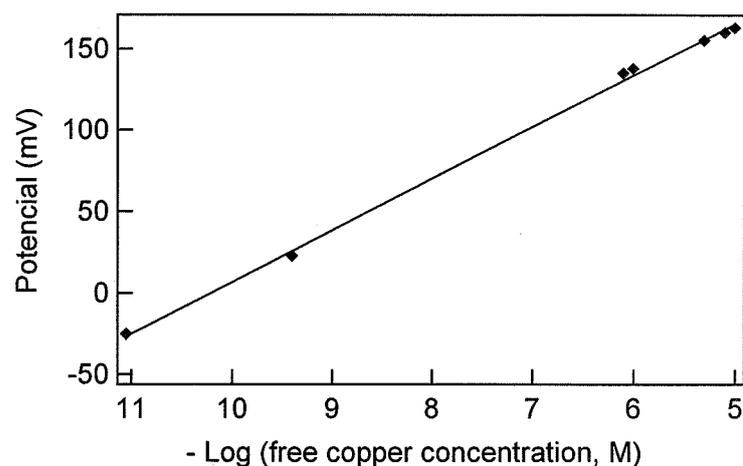


FIGURA 06 - Curva de Calibração para cobre ISE. Potencial (mV) registrado em função de -log da concentração de cobre total. Força iônica = 0.1 M (NaNO₃), pH 5.0. Curva realizada em água destilada. Regressão linear: $y = 133 + 8.11 \log x$, $R = 0.958$.

A constante de estabilidade condicional (K') e a concentração total de ligantes (CL, $\mu\text{mol.L}^{-1}$) foi obtida através da análise Scatchard Plot, na qual a concentração de cobre ligado (CuL) dividido pela concentração iônica do metal (Cu^{2+}) é plotado em função de CuL. Quando mais de um sítio de ligação estiver presente, uma curva côncava é obtida. O gráfico plotado é dividido em duas linhas retas. A extrapolação das duas linhas para os eixos y e x fornece ($K'_1L_1 + K'_2L_2$) e ($L_1 + L_2$), respectivamente. Após a análise da regressão linear de cada linha, $y = a + bx$, onde $a/b = \text{CL}$ e $b = K'$, as propriedades de complexação são obtidas. Detalhes do tratamento e comparação a outros modelos podem ser encontrados em SCATCHARD *et al.*, (1957) e BUFFLE (1988).

4.3.2 Tratamento Estatístico

Para os dados físico-químicos foram realizados gráficos do tipo "Box-Plot" representando média, erro e desvio padrão. Na determinação de metal e obtenção de K e Cl, foi utilizada regressão linear e posteriormente foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e teste post-hoc LSD para diferenciação entre as médias. Os gráficos do tipo "Box-Plot" e ANOVA foram feitos com o auxílio do software STATISTICA© e a regressão linear com o software IGOR©.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS

5.1.1 Regime climático e pluviométrico

A variabilidade temporal na estrutura físico-química de sistemas fluviais é controlada por uma variedade de fatores. Tradicionalmente, a descarga dos rios tem sido considerada a variável chave para hidroquímica, com uma correlação direta com os fluxos de materiais particulados e dissolvidos. Entretanto, relações mais complexas entre a descarga fluvial e a química destes ambientes têm emergido a partir de estudos recentes (AHEARN *et al.*, 2004). Os fluxos de materiais têm apresentado alterações drásticas associadas a mudanças no clima, morfologia e usos dos solos no contínuo continente-oceano (TAPPIN, 2002). Assim, para o entendimento das variações temporais na hidroquímica fluvial, torna-se imperativo o monitoramento das variáveis climáticas, tais como a precipitação e a temperatura.

Durante a campanha de amostragem, a temperatura da água variou entre os períodos (FIGURA 07), com mínimas de 14°C em julho de 2004 (Est.1) e máxima de 23,1°C em dezembro de 2005 (Est. 2). Em julho de 2005 observou-se um comportamento climático destoante, com valores da temperatura da água muito elevados para época (inverno) - média de 19,1°C - igualando-se aos meses de janeiro e dezembro.

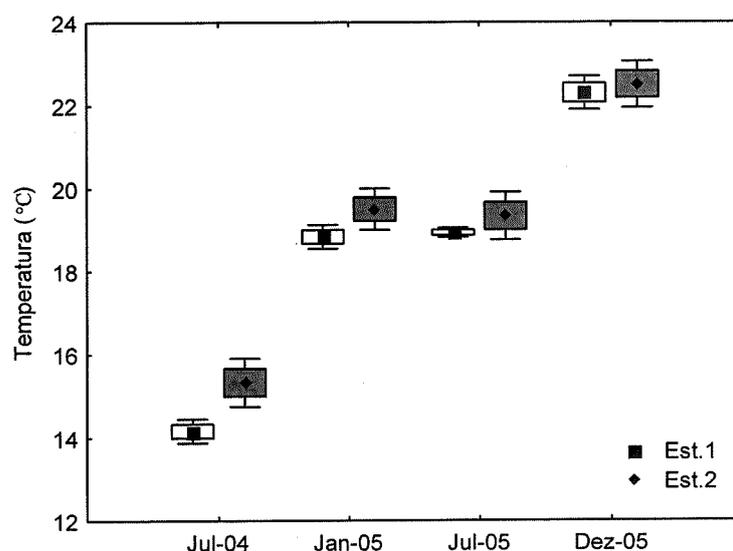


FIGURA 07 - Distribuição espaço temporal da Temperatura da água no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

O regime pluviométrico pode ser considerado típico para a região, com verão chuvoso (máximo de 136,4 mm nos 15 dias que antecederam a coleta) e inverno seco (máximo de 81 mm nos 15 dias que antecederam a coleta). A precipitação acumulada em 5, 10 e 15 dias (FIGURA 08) demonstra a importância desses dados e auxilia na compreensão da distribuição espaço temporal das outras variáveis.

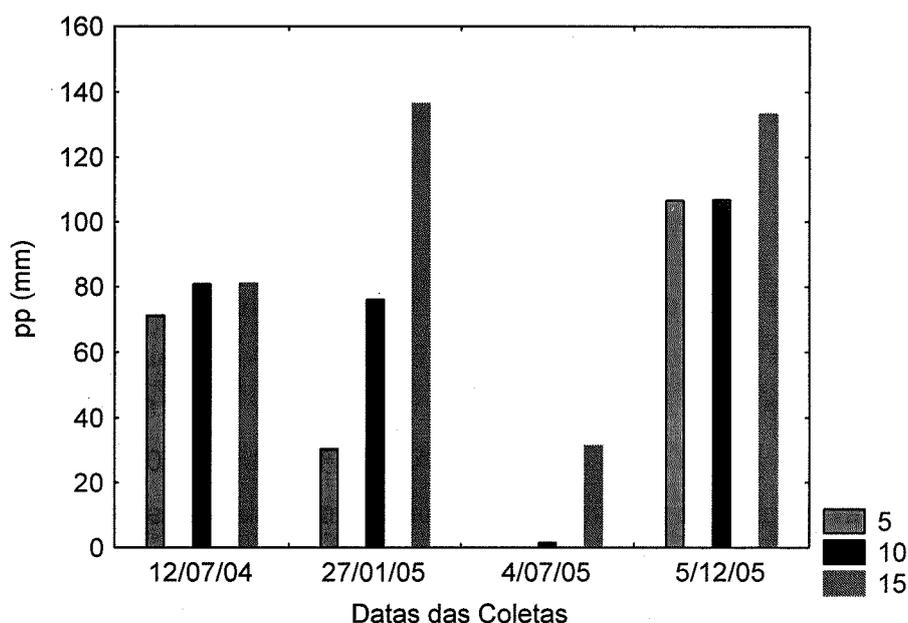


FIGURA 08 - Precipitação pluviométrica referente à estação meteorológica de Antonina, acumulada 5, 10 e 15 dias anteriores a cada coleta no Rio Nhundiaquara. (Dados: SIMEPAR, 2005).

5.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

O oxigênio é um dos gases dissolvidos mais importantes na dinâmica e caracterização do metabolismo de ambientes aquáticos (CARMOUZE, 1994). Tem como principal fonte a atmosfera e a fotossíntese, sendo que sua solubilidade depende principalmente da temperatura e pressão. No presente estudo, a concentração de oxigênio dissolvido (FIGURA 09) apresentou pouca variação entre as estações de amostragem e os períodos investigados, com máximo de 10,5 mg/L em julho de 2004, coincidindo com os valores mínimos de temperatura da água (FIGURA 07), e mínimo de 7,8 mg/L em janeiro de 2005, no verão.

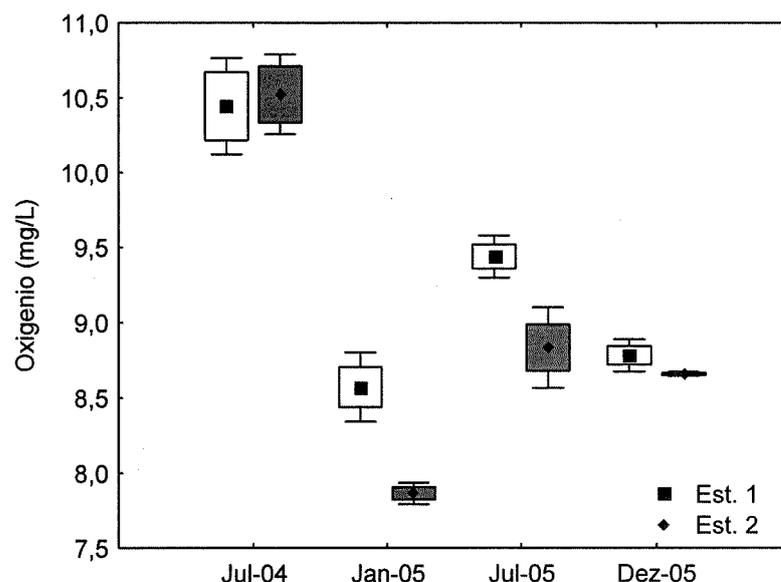


FIGURA 09 - Distribuição espaço temporal da concentração de Oxigênio Dissolvido, OD (mg/L) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

Os valores encontrados demonstraram um ambiente bem oxigenado ao longo do rio, que pode ser atribuído à velocidade relativamente elevada da corrente fluvial, com trechos de corredeira e rochas. Já no trecho do rio com menor energia física (estação 2), a concentração de oxigênio dissolvido foi um pouco menor. MARQUES (2000, 2004) e TODESCHINI (2004), encontraram comportamento e valores semelhantes em estudos de alguns rios das vertentes oriental e ocidental da Serra do Mar (TABELA 7b).

5.1.4 Potencial Hidrogênionico (pH)

O pH da maioria dos corpos de água doce oscila entre 6 e 8. Ecossistemas aquáticos com valores de pH menores possuem, freqüentemente, elevadas concentrações de ácidos orgânicos dissolvidos de origem alóctone e autóctone (ESTEVES, 1998). Em águas naturais, podem ocorrer vários processos metabólicos que geram íons hidrogênio e diminuem o pH do meio. Entre esses, podemos citar a oxidação biológica, a troca catiônica e hidrólise de cátions. Além disso, em ecossistemas aquáticos continentais com pouca capacidade de tamponamento, o

pH pode ser modificado pela chuva, que é normalmente ácida, com valores entre 5 e 6 (ESTEVEVES, 1998).

Os valores de pH apresentaram uma grande variação entre os períodos estudados, sendo que o maior valor, de 7,60 foi obtido em julho de 2004 na estação 1 e o menor, de 5,12 em janeiro de 2005 na estação 2 (FIGURA 10). Esta variação pode estar associada a períodos de maior precipitação e aporte de substâncias húmicas para o sistema, decorrente da lixiviação da serrapilheira em ambientes florestados (LIMA, 1986 em MARQUES, 2000) caracterizando o período chuvoso (verão) como mais ácido.

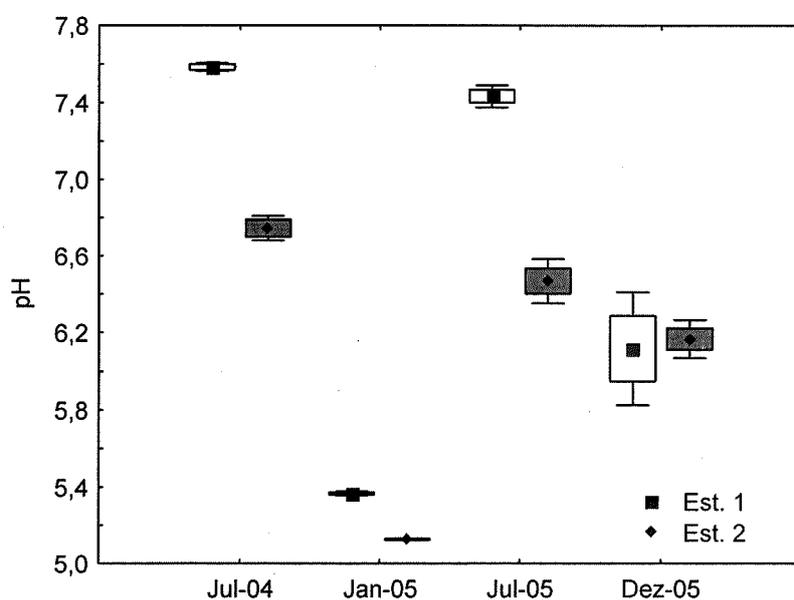


FIGURA 10 - Distribuição espaço temporal da concentração do Potencial Hidrogênionico, pH do Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

Diversos estudos têm demonstrado que o pH do meio atua sobre a especiação de metais, podendo modificar a toxicidade de um contaminante no meio natural (CAMPBELL e STOKES, 1985; GUASCH *et al.*, 2002). BONFIN (2005) detectou uma diminuição na toxicidade do metal cobre em baixos valores de pH. Contudo, a tendência natural da maioria dos sais de metais é o aumento da solubilidade em pH reduzido e, portanto o aumento na biodisponibilidade e toxicidade.

BENEDETTI *et al.*, (1995), demonstrou que há um acréscimo de duas ordens de magnitude na adsorção de cobre sobre ácido húmico com o aumento do pH de 4 para 8. A mesma variação foi verificada por HOLM (1990) investigando a complexação de cobre em águas subterrâneas quando o pH aumentou de 7 para 8,3. Portanto, podemos dizer que uma variação na concentração de íons hidrogênio afeta a concentração de metal iônico no meio.

Essas variações podem ser explicadas por processos de competição entre H^+ e Cu^{2+} para os sítios de adsorção nas superfícies celulares, que se tornarão protonados em valores mais baixos de pH. Há dados da literatura que mostram que em pHs mais elevados (pH6 a pH7), os sítios para adsorção do metal estarão desprotonados e o Cu^{2+} poderá ligar-se à superfície celular (SCHAMPHELAERE *et al.*, 2005; BROWN *et al.*, 2000; CAMPBELL e STOKES, 1985; XUE e SIGG, 1990; CRIST *et al.*, 1990), aumentando sua toxicidade.

5.1.5 Carbono Orgânico Dissolvido (COD)

O COD origina-se principalmente da decomposição de plantas e animais e a partir de produtos de excreção desses organismos. Estudo realizado por OHLE (1972a, em ESTEVES 1998), em lagos alemães, mostrou que a concentração de COD esta diretamente relacionada com o estado trófico do lago (TABELA 2) e com o tipo de influência à qual o sistema está submetido, podendo indicar a contribuição alóctone e poluição por esgoto.

TABELA 2 - Concentração de COD ($mg\ C\ L^{-1}$) em diferentes tipos de lagos temperados, segundo OHLE (1972a, em ESTEVES, 1998).

Tipo de lago	$mg\ C\ L^{-1}$
Oligotrófico	0,5 – 5
Mesotrófico	5 – 10
Lagos cercados por florestas	10 – 20
Lagos poluídos	15 – 30

O carbono orgânico dissolvido influencia a dinâmica dos ecossistemas de várias maneiras, dentre elas pode-se citar seu uso como fonte de energia para bactérias heterotróficas e como agente precipitador de nutrientes e complexador de metais. Porém, em concentrações muito elevadas pode tornar-se tóxico ou causar problemas como mau cheiro e sabor desagradável (ESTEVES, 1998).

No presente estudo, a concentração de carbono orgânico dissolvido (TABELA 3) não apresentou diferença significativa entre as estações e os períodos amostrados (máximo 4,8 e mínimo 2,51). De acordo com OHLE (1972a em ESTEVES 1998) as taxas registradas para COD estão dentro do esperado para lagos oligotróficos. Contudo, considerando que o rio Nhundiaquara encontra-se circundado por florestas e que recebe aporte de esgoto doméstico, as baixas taxas de COD podem estar relacionadas com a elevada velocidade da corrente fluvial e o curto tempo de renovação da água.

TABELA 3 - Concentração de carbono orgânico dissolvido (mg/L) no Rio Nhundiaquara. COD (Carbono Orgânico Dissolvido), CT (Carbono Total) e CI (Carbono Inorgânico).

	Julho/04			Jan/05			Julho/05			Dez/05		
	COD	CT	CI	COD	CT	CI	COD	CT	CI	COD	CT	CI
Est.1	2,96	3,38	0,41	2,96	4,23	1,27	2,6	4,2	1,6	1,7	4,6	2,9
Est.1	2,51	4,23	1,71	2,73	3,80	1,06	2,8	8,9	6,1	1,6	3,2	1,6
Est.2	2,99	4,04	1,05	2,74	4,94	2,20	4,7	6,7	2,0	1,6	3,6	2,0
Est.2	2,51	4,23	1,71	2,77	4,53	1,76	4,8	7,1	2,3	1,6	1,8	0,2

5.1.6 Silicato – Si(OH)₄

A concentração de silicato em águas naturais é fortemente influenciada pelas características geológicas da bacia hidrográfica, e a principal fonte desse elemento para os ambientes aquáticos são as rochas ígneas (ESTEVES, 1998). No presente estudo, identificou-se flutuações sazonais na concentração de silicato no rio Nhundiaquara, com um incremento durante o período seco (FIGURA 11), também verificado por MARQUES (2004).

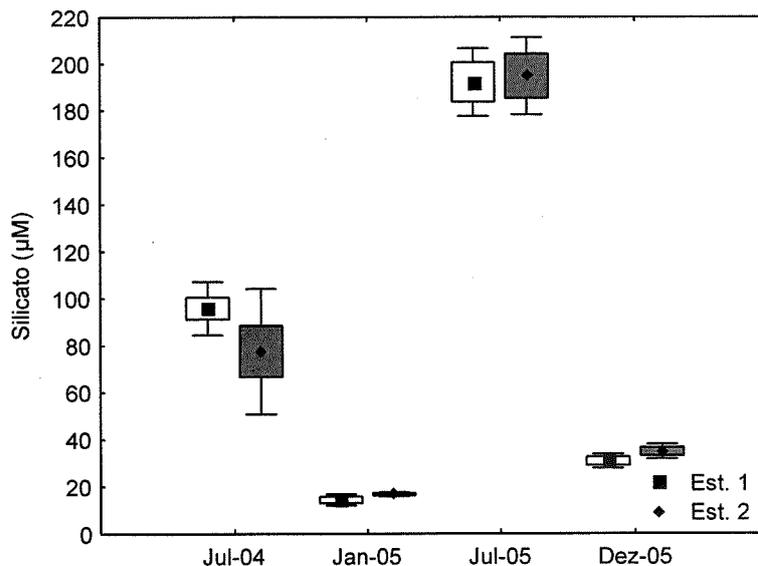


FIGURA 11 - Distribuição espaço temporal da concentração de Silicato, Si(OH)_4 (μM), média e desvio padrão no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

Segundo MARQUES (2004) a diferença sazonal de concentração pode ser atribuída a uma maior diluição no período chuvoso e/ou incorporação biológica, isto é, incorporação em frústulas de diatomáceas (DEMASTER *et al.*, 1996).

5.1.7 Fósforo – PO_4

O fósforo presente em ecossistemas aquáticos continentais é proveniente de fontes naturais e artificiais. A fonte natural para esses ambientes é o intemperismo e a lixiviação de solos e rochas antigas, que pelo escoamento superficial pode alcançar os diferentes ecossistemas aquáticos sob duas formas principais: solúvel e adsorvido às argilas. Na maioria das águas continentais o fósforo é o principal fator limitante da produtividade e tem sido apontado como o principal responsável pela eutrofização artificial desses ecossistemas (ESTEVES, 1998).

A concentração de fósforo é fortemente influenciada pelas atividades humanas em bacias hidrográficas, principalmente através dos resíduos de esgotos domésticos e industriais, além da utilização de fertilizantes, produzindo variações que podem ser facilmente detectadas através de “picos” de concentração em

determinados trechos do rio, o que o qualifica como um bom indicador de fontes pontuais de poluição (MARQUES, 2000).

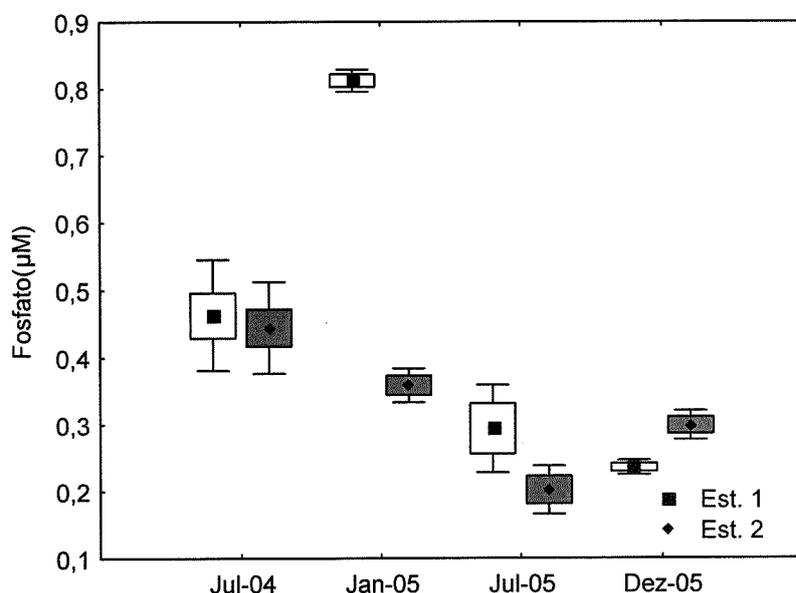


FIGURA 12 - Distribuição espaço temporal da concentração de Fosfato, PO_4 (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

As concentrações de fosfato registradas neste estudo (FIGURA 12) estão dentro da faixa de valores reportada para bacias de pouca interferência antrópica segundo MARQUES (2000) (TABELA 7b). Houve uma variação de de $0,57\mu M$ na est.1 em julho de 2004 a $0,17\mu M$ na est.2 em julho de 2005, com um pico pronunciado de fosfato ($0,82\mu M$) na estação 1 em janeiro de 2005, que pode estar relacionado à elevada taxa pluviométrica $136,4\text{ mm}$ e conseqüente lixiviação dos solos.

TABELA 4 - Concentração P-total em relação ao estado trófico de lagos, segundo a agencia de Proteção Ambiental dos EUA (em Esteves, 1998).

Tipo de lago	$\mu g L^{-1}$
Oligotrófico	< 10
Mesotrófico	10 - 20
Eutróficos	>20

De acordo com a classificação trófica utilizada pela agência de Proteção Ambiental dos EUA (em ESTEVES, 1998) para lagos (TABELA 4) o ambiente estudado pode ser classificado como oligotrófico para os períodos de Jul-05 ($9,1 \mu\text{g L}^{-1}$ est.1 e $6,2 \mu\text{g L}^{-1}$ est.2) e Dez-05 ($7,2 \mu\text{g L}^{-1}$ est.1 e $9,2 \mu\text{g L}^{-1}$ est.2) e mesotrófico para Jul-04 ($14,3 \mu\text{g L}^{-1}$ est.1 e $13,7 \mu\text{g L}^{-1}$ est.2) e Jan-05 ($11,1 \mu\text{g L}^{-1}$ est.2), com exceção da estação 1 em janeiro de 2005 ($25,1 \mu\text{g L}^{-1}$).

5.1.8 Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos de grande importância no metabolismo de ecossistemas aquáticos e por isso quando presente em baixas concentrações pode atuar como fator limitante na produção primária desses ecossistemas. Nitrogênio na forma de nitrito (NO_2^-) é encontrado em baixas concentrações, notadamente em ambientes bem oxigenados, onde é rapidamente transformado em nitrato (NO_3^-). Entretanto, o nitrito tem grande importância em termos de monitoramento, podendo indicar fontes pontuais de poluição como esgotos domésticos e industriais, além do uso de fertilizantes.

Geralmente o nitrogênio na forma de nitrato (NO_3^-) é a forma inorgânica, estando muitas vezes diretamente associada aos teores de oxigênio dissolvido, que influem decisivamente em seu ciclo e determinam a eficiência dos processos de nitrificação e desnitrificação (TANIGUCHI 1998). O nitrato é uma forma do nitrogênio bastante móvel e facilmente transportada pela água. As maiores fontes de nitrato para o ecossistema aquático são o escoamento superficial da água das chuvas, os processos de lixiviação em ambientes florestados e os processos de nitrificação no lençol freático.

As formas amoniacais (NH_3 e NH_4^+) do nitrogênio, ou N-amoniacal ocorrem geralmente em baixas concentrações em águas naturais. As principais fontes de N-amoniacal estão associadas aos processos de decomposição de algas e macrófitas aquáticas em condições naturais, e à decomposição de material orgânico proveniente de fontes poluidoras, sendo um bom indicativo de poluição pontual em rios.

Os valores de nitrato encontrados no Rio Nhundiaquara foram mais altos para os períodos mais chuvosos (FIGURA 13), possivelmente devido aos processos de

lixiviação da floresta atlântica que se desenvolve nessa vertente da Serra do Mar. A predominância do nitrato também pode ser devida à elevada concentração de oxigênio nas estações amostradas, além do aporte de amônio e nitrito ao decorrer das estações, evidenciando a rapidez do processo de nitrificação propiciado pelas condições locais (TANIGUCHI, 1998).

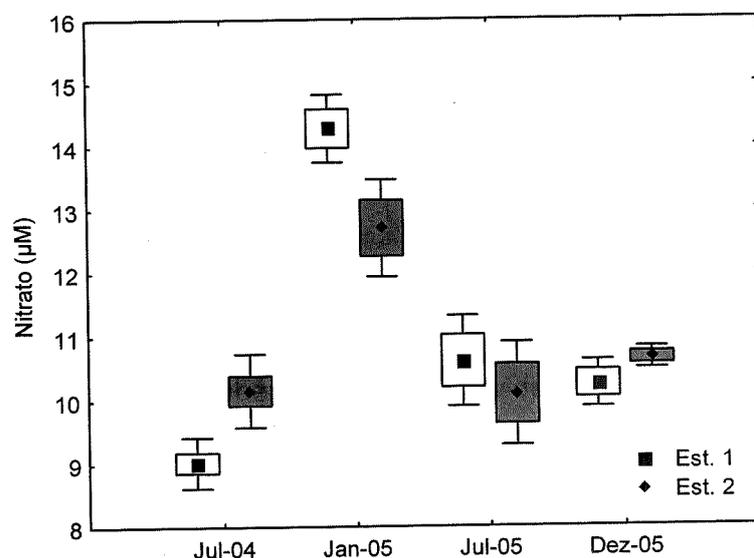


FIGURA 13 - Distribuição espaço temporal da concentração de Nitrato, NO_3 (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

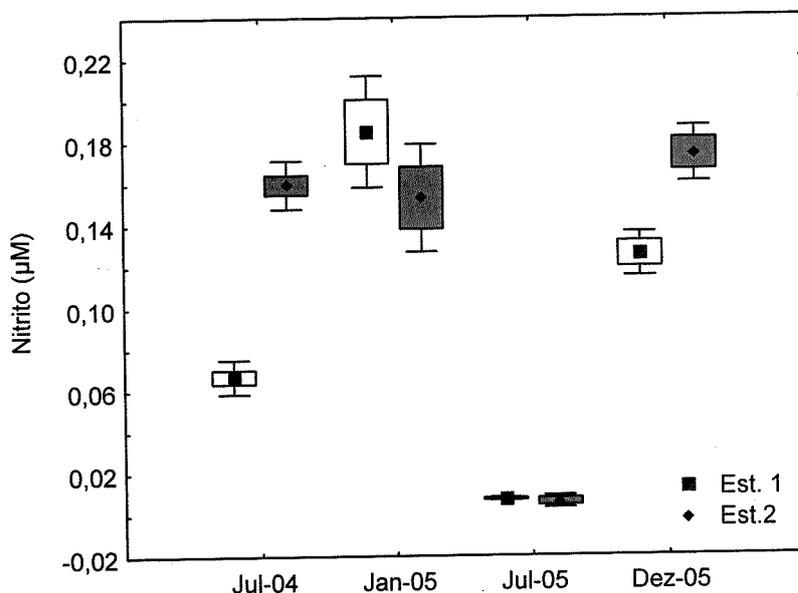


FIGURA 14 - Distribuição espaço temporal da concentração de Nitrito, NO_2 (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

O nitrito apresentou uma leve tendência de maior concentração nos períodos mais chuvosos com os valores observados (média de 0,01 a 0,18 μM) próximos aos limites de detecção do método utilizado. Não foi detectada, variação significativa em nenhum ponto do rio (FIGURA 14).

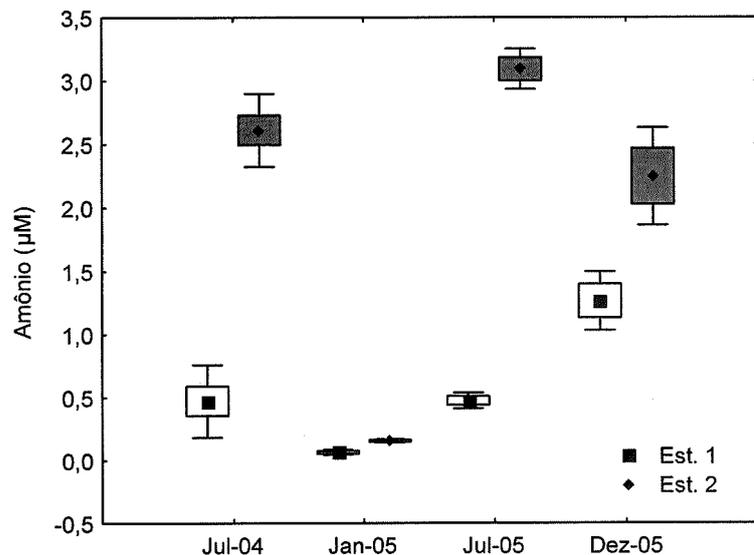


FIGURA 15 - Distribuição espaço temporal da concentração de Amônio, NH_4 (μM) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

Para o N-amoniaco, foram registradas maiores concentrações na estação 2 (FIGURA 15), depois da cidade de Morretes, provavelmente decorrentes dos aportes de efluentes domésticos. MARQUES (2004) também verificou incremento de amônio a jusante da cidade de Morretes, porém as taxas reportadas pelo autor foram maiores do que as encontradas no presente estudo (TABELA 7b). Em geral, as maiores concentrações de amônio foram nos períodos mais secos, denotando a diluição das concentrações dos constituintes particulados e dissolvidos na água do rio pela chuva.

Segundo a classificação de lagos relativa á diferentes formas de compostos nitrogenados sugerido por VOLLENWEIDER (1968 em ESTEVES 1998) para lagos (TABELA 5), o ambiente estudado pode ser classificado como oligotrófico, com medias de 0,001 mg/L de nitrito, 0,15 mg/L de nitrato e 0,018 mg/L de amônio.

TABELA 5 - Concentração N-total em relação ao estado trófico de lagos, segundo a agência de Proteção Ambiental dos EUA (apud ESTEVES 1998).

Tipo de lago	Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Nitrato (mg/L)
Oligotrófico	0,0 – 0,3	0,0 – 1,0	0,0 – 0,5
Mesotrófico	0,3 – 2,0	1,0 – 5,0	0,5 – 5,0
Eutróficos	2,0 – 15,0	5,0 – 50,0	5,0 – 15,0

De acordo com a TABELA 7b que compara os resultados do Rio Nhundiaquara com outros rios, a taxa de nitrato encontrada no presente estudo está um pouco acima dos valores reportados por MARQUES (2004) e TODESCHINI (2004), e maiores que os valores reportados por WASSERMAN (2000). Em contraste, o amônio apresenta concentrações mais baixas que os valores registrados nos estudos supracitados, com maior índice de uso e ocupação do solo no entorno, evidenciando a importância da mata ciliar e saneamento básico das regiões urbanas.

5.1.9 Biomassa Fitoplanctônica – Clorofila-a

O teor de clorofila-a foi baixo para ambos os períodos, fato esperado em função das condições de corrente do local, com valores relativamente mais elevados na estação 2, decorrente do incremento de nutrientes ao longo do percurso (FIGURA 16). MARQUES (2004) verificou um forte gradiente de clorofila-a no rio Nhundiaquara no período seco, em que o ambiente lótico apresenta menor nível de vazão, indicando um processo de alta produtividade algal. De acordo com o autor, esse processo pode estar relacionado ao aumento no aporte de esgotos. Contudo, no presente estudo não foi observado aporte expressivo de nutrientes proveniente, da cidade de Morretes, o que explicaria os baixos valores de clorofila-a, quando comparados a outros estudos (Tabela 7a e 7b).

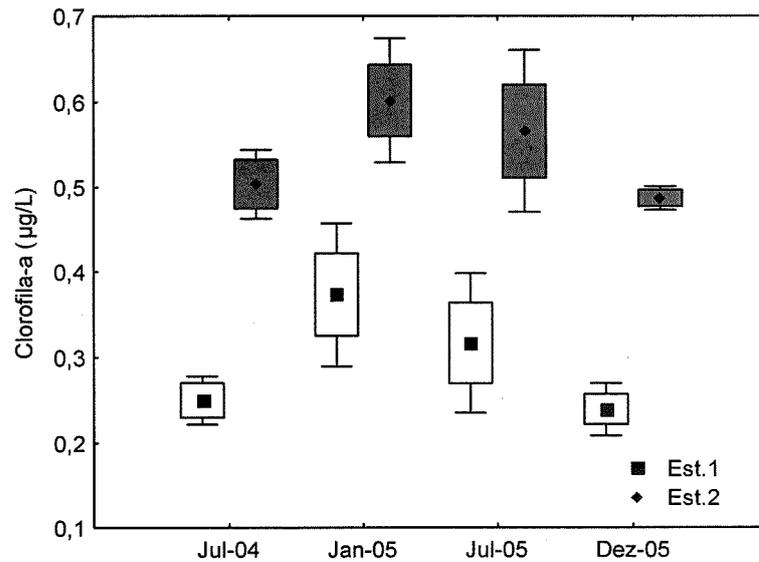


FIGURA 16 - Distribuição espaço temporal da concentração de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) no Rio Nhundiaquara. Box plot representando média, erro padrão e desvio padrão das amostragens.

A divisão Chlorophyta contém cerca de 8000 espécies conhecidas (VAN DEN HOEK *et al.*, 1995) e 500 gêneros com organismos predominantemente de água doce ou de águas marinhas. São amplamente distribuídas em ambientes de diversos graus de trofia e temperatura conhecida. Alguns gêneros são indicadores da qualidade da água, outros apresentam plasticidade fenotípica. Apresentam grande variedade de nível organizacional, desde flagelados de vida livre, organismos unicelulares ou coloniais, cocoides ou palmelóides e ainda multicelulares. A espécie *Eutetramorus* sp. utilizado em experimentos deste projeto pertencem à divisão Chlorophyta, classe Chlorophyceae, ordem Chlorococcales. São organismos produtores de mucilagem rica em exopolissacarídeos semelhantes àquele produzido por *Kirchneriella* sp. e outras Chlorophyceae (LOMBARDI e VIEIRA, 1999;

TABELA 7a – Descrição dos rios Bacaxá, Seco, Tinguí, Jundiá, Mole, do Padre, Cubatão, Marumbi, Nhundiaquara, Monjolinho, Ribeirão do Feijão em coletâneas de vários trabalhos na literatura para comparação com os resultados encontrados no presente estudo.

Rio	Est.	Características	Referencia
Bacaxá, Seco, Tinguí, Jundiá, Mole e Do Padre (RJ)		Planície litorânea da serra do mar, pouca vegetação em torno do rio. Uso do solo: alta ocupação urbana e influencia antrópica.	WASSERMAN (2000)
Cubatão (PR)		Planície litorânea da serra do mar, com vegetação de médio e pequeno porte e áreas inundadas. Uso do solo: Ocupação baixa, moderada e alta ao longo do percurso, existência de atividades antrópicas como pecuária, cultivo de banana e arroz.	TODESCHINI (2004)
Marumbi (PR)	1M 3M 4M 6M	Bacia hidrográfica do Rio Marumbi – Serra do Mar Trecho inicial do rio com alta declividade (1000M) Uso do solo: cobertura vegetal (Florestas Ombrófila Densa e Mista), com alto grau de preservação. Trecho final do rio, abaixo da cota de 300 m até a cidade de Morretes. Uso do solo: área preservada Trecho final do rio que deságua no Rio Nhundiaquara Uso do solo: área urbana e atividades agrícolas.	MARQUES (2004)
Nhundiaquara (PR)	1Nh 2Nh 3Nh	Bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara – Serra do Mar Vertente oceânica da Serra, abaixo da cota de 300 m até a cidade de Morretes. Uso do solo: área preservada Trecho final da bacia do Nhundiaquara Uso do solo: área urbana e atividades agrícolas.	MARQUES (2004)
Monjolinho (SP)	M1 M3 M5	2,5 km da nascente, após mata ciliar. Uso do solo: pastagem Área de drenagem: 2,6 Km ² Após o matadouro municipal de São Carlos. Uso do solo: área urbana e cultivo de cana-de-açúcar. Área de drenagem: 121,5 Km ² Antes da confluência com o Rio Jacaré-Guaçu Uso do solo: pastagem Área de drenagem: 58,1 Km ²	RODRIGUES (2001)
Ribeirão do Feijão (SP)	F1 F3	3,4 km da nascente Uso do solo: pastagem Área de drenagem: 6,9 Km ² Córrego do São Jose, a montante do antigo lixão de São Carlos. Uso do solo: nas margens há abundante mata ciliar, com assentamento humano a aproximadamente 300 m a montante do ponto de coleta. Área de drenagem: 18,2 Km ²	RODRIGUES (2001)
Nhundiaquara (PR)	1 2	Bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara – Serra do Mar Ponto a jusante da cidade de Morretes. Uso do solo: cobertura vegetal, com traços de urbanização e atividades agrícolas. Ponta a montante da cidade de Morretes. Uso do solo: Área urbana e atividades agrícolas	PRESENTE ESTUDO

TABELA 7b –Caracterização físico-química da água dos rio Bacaxá, Seco, Tingui, Jundiá, Mole, do Padre, Cubatão, Marumbi, Nhundiaquara, Monjolinho, Ribeirão do Feijão em coletâneas de vários trabalhos na literatura para intercomparação com os resultados encontrados no presente estudo. Os valores apresentados são valores médios, exceto o Rio Cubatão para o qual são reportados os valores em mínimos e máximos.

Rio	Est.	Período	Temp. (oC)	pH	OD (mg/L)	N-NH4 (ug/L)	N-NO2 (ug/L)	N-NO3 (ug/L)	P-PO4 (ug/L)	Chl.a (ug/L)
Bacaxá			30,0	6,92	0	1503,9	4,9	11,3	375,2	6,0
Seco			25,5	6,25	5,12	89,6	2,9	10,6	5,8	4,6
Tingui			24,0	6,18	8,85	75,3	3,8	45,8	92,1	9,2
Jundiá			25,0	6,04	8,20	76,8	8,8	65,0	68,1	7,7
Mole			26,0	6,18	3,41	503,2	26,3	58,6	69,5	4,7
do Padre			25,5	6,67	6,01	115,0	1,7	47,9	4,4	3,0
Cubatão		Min.	15 (s)	6,36 (c)	8,28 (c)	11,2 (c)	1,4 (s)	74,2 (s)	5,89 (s)	0,8
		Máx.	25,6 (c)	8,14 (s)	9,62 (s)	30,66 (s)	4,2 (s)	158,2 (c)	36,58 (s)	2,7
Marumbi	1M	S	12,5	6,65	9,1	33,0	1,55	70,0	12,0	---
	1M	C	16,0	6,0	8,2	25,0	1,55	110,0	9,3	---
	3M	S	12,5	6,7	8,8	30,0	1,5	85,0	14,5	---
	3M	C	16,5	5,9	8,5	28,0	1,8	95,0	9,0	---
	6M	S	19,0	7,5	7,3	24,0	3,0	140,0	13,5	1,8
	6M	C	27,0	7,25	7,3	18,5	3,0	160,0	8,0	0,5
Nhundiaquara	1Nh	S	17,0	7,45	8,8	33,0	2,0	145,0	16	3,2
	1Nh	C	24,0	7,25	7,7	19,0	1,9	125,0	12,3	0,4
	2Nh	S	18,5	7,4	7,7	70,0	3,4	135,0	15,8	6,5
	2Nh	C	26,5	7,3	7,2	38,0	3,0	105,0	10,5	0,8
	3Nh	S	18,5	7,6	7,5	60,0	3,5	105,0	13,7	7,8
	3Nh	C	26,0	7,2	7,45	25,0	3,3	200,97	11,0	1,0
Monjolinho	M1	Mês	19,5	5,64	7,27	59,11	1,22	200,97	-----	-----
	M3	3 e 8	18,6	6,45	8,8	2411,11	2,13	176,13	-----	-----
	M5		20,85	6,7	6,35	1197,78	21,30	162,58	-----	-----
Ribeirão do Feijao	F1	Mês	17,35	5,95	10,06	151,67	0,61	210,00	-----	-----
	F3	3 e 8	19,35	6,1	7,9	46,67	0,91	80,61	-----	-----
Nhundiaquara (presente estudo)	1	S	(17,1±2,5)	(7,4±0,1)	(9,8±0,5)	(6,6±3,2)	(0,6±0,4)	(133,7±12,3)	(12,6±3,4)	(0,29±0,07)
	1	C	(20,6±1,8)	(5,7±0,4)	(8,5±0,2)	(9,3±9,4)	(2,1±0,5)	(171,7±31,5)	(16,2±9,8)	(0,31±0,09)
	2	S	(17,7±2,3)	(6,5±0,2)	(9,5±0,9)	(38,8±4,7)	(1,5±1,1)	(141,9±9,6)	(11,2±4,1)	(0,54±0,08)
	2	C	(21,3±1,4)	(5,6±0,5)	(8,3±0,4)	(16,8±16,3)	(2,2±0,3)	(163,5±1,2)	(10,1±1,2)	(0,56±0,08)

5.2 ESPECIAÇÃO DO METAL COBRE NO RIO NHUNDIAQUARA

5.2.1 Micronutriente – cobre (livre)

Os metais-traço essenciais incluem Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Mo, Se, Sn e Zn, e são requeridos para o desenvolvimento normal da biota e, conseqüentemente influenciam a produtividade e composição de espécies de uma comunidade algal. Os íons metálicos essenciais são requeridos para uma grande variedade de processos biológicos, para os quais os organismos apresentam sistemas de transporte cuidadosamente regulados. Tem-se, por exemplo, que cobre é cofator da plastocianina, enzima com atividade na cadeia de transporte eletrônico da fotossíntese. Apesar dos requerimentos nutricionais em relação aos micronutrientes diferirem para os diversos grupos de microalgas, esses metais apresentam geralmente uma faixa estreita de concentração ótima. Se, por exemplo, uma contaminação ambiental apresentar caráter crônico, poderá haver a redução da biodiversidade e da biomassa algal, fato que tem implicações para o equilíbrio dinâmico do ecossistema.

Em ecossistemas aquáticos, a dinâmica dos metais-traço é diretamente influenciada pelos materiais orgânicos dissolvidos naturais. Encontrados associados a materiais inorgânicos, ligantes orgânicos e superfícies de partículas, os metais-traço estão presentes em uma grande variedade de formas ou espécies químicas. A magnitude destas interações depende de diversos parâmetros, tais como pH, natureza e concentração dos ligantes, dentre outros. Assim, tem-se que a concentração total de um íon metálico inclui espécies dissolvidas, ligadas ao material particulado e livre, na forma de íons hidratados.

A determinação da concentração de cobre livre no rio Nhundiaquara revelou diferenças resultantes das chuvas no ambiente. A concentração mais elevada foi obtida no período de julho de 2005 (seco) em relação às outras amostragens (TABELA 8). No entanto, não foram observadas diferenças significativas em relação à qualidade do ambiente, e.g., montante e jusante do município de Morretes.

TABELA 8 - Concentração inicial de cobre livre em águas naturais e algumas variáveis físico-químicas do rio Nhundiaquara. Os valores de cobre livre são apresentados em log da concentração molar. * A pluviometria citada é referente à acumulada em 15 dias.

Período	Est.	[] inicial de Cu ⁺⁺	pH	COD (mg/l)	Pluviometria (mm) *
Jul - 04	1	3,48E-11	7,5	2,7	81
	2	4,29E-12	6,7	2,7	
Jan - 05	1	2,00E-09	5,3	2,8	136,4
	2	1,20E-09	5,1	2,7	
Jul - 05	1	1,75E-08	7,4	2,7	31,4
	2	2,39E-08	6,5	4,7	
Dez - 05	1	2,83E-09	6,1	1,6	133
	2	1,18E-09	6,2	1,6	

Contrastando a concentração inicial de cobre livre com as variáveis pH (competição), carbono orgânico dissolvido (complexação) e pluviometria (aporte), não se observou qualquer relação expressiva que pudesse evidenciar os processos que dominam a especiação química do metal cobre (TABELA 8). Observa-se que apesar da estação 2 em Julho 2005 apresentar a maior concentração de carbono orgânico dissolvido, a concentração de cobre livre inicial encontrada foi a mesma que a observada na estação 1 no mesmo período. Considerando-se que no referido período foi verificada a menor precipitação pluviométrica, e portanto o aporte de metal no rio foi baixo, podemos aferir que a capacidade de complexação foi igual para estações 1 e 2 (Jul-2005), o que pode ser explicado pelo fato de que nem toda a matéria orgânica dissolvida do sistema se liga ao metal ou caracteriza um sítio de ligação disponível.

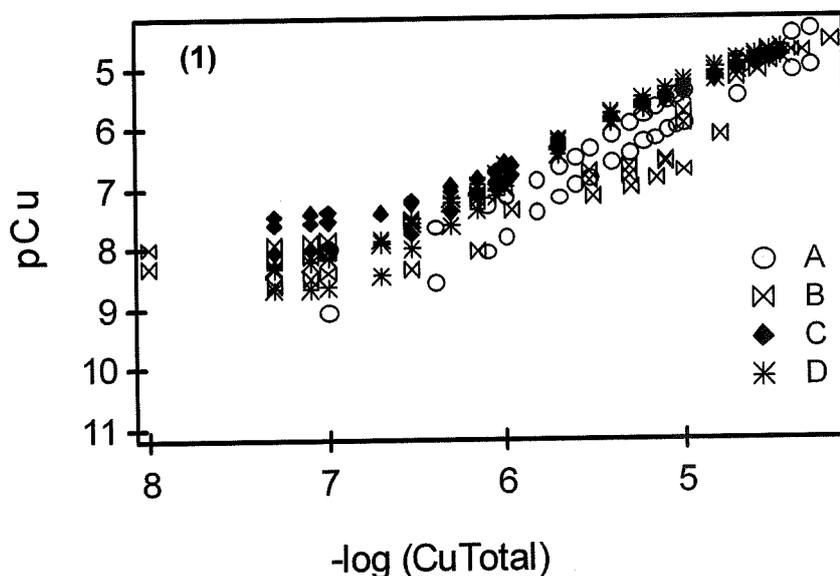
5.2.2 Cobre Complexado – K' e CL .

A capacidade de complexação de um corpo d'água reflete a habilidade do mesmo em tamponar íons metálicos, conseqüentemente pode ser definida como a quantidade de íons que podem ser adicionados sem que, no entanto, a espécie iônica seja predominante (BUFFLE e DE VITRE, 1994). A capacidade de complexação é um parâmetro importante quando se analisa a qualidade das águas. Através de sua determinação se obtém valores de K' (constante de estabilidade condicional = força de associação entre os ligantes e o metal) e CL (concentração de ligantes = quantidade de sítios ou ligantes disponíveis para o metal). Portanto,

informações quantitativas e qualitativas podem ser obtidas mediante determinação da capacidade de complexação de amostras de água.

A FIGURA 17 reporta uma curva típica gerada a partir da titulação de amostras do Rio Nhundiaquara com o cobre utilizando a potenciometria com eletrodo íon sensível como técnica de detecção. Podemos observar que as curvas da estação 1 não apresentam uma grande diferença em relação àquela da estação 2, demonstrando que a capacidade de complexação a montante e jusante da cidade de Morretes são semelhantes. Outra informação que se pode obter da mesma figura é que ao início da titulação, conforme se adiciona o cobre na amostra da água do Rio Nhundiaquara, há um seqüestro do metal que passa para forma complexada e não é detectado pelo ISE. Desse modo, em baixas concentrações iniciais de cobre poucos íons livres são observados na amostra.

A concentração do ligante mais fraco CL_2 (menor K' , classificado aqui como $K'2$) estava presente em quantidade de cerca de 10 a 50 maior ($CL_2 \sim 10^{-5}$ a 10^{-4} M) do que o ligante mais forte ($CL_1 \sim 10^{-7}$ a 10^{-6} M).



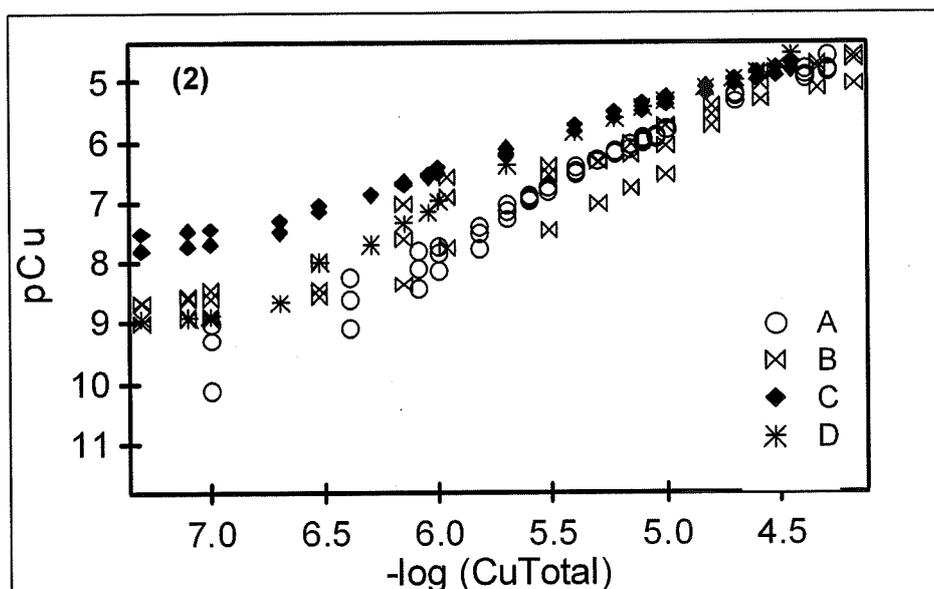


FIGURA 17 - Curva de titulação para cobre ISE em águas naturais da estação 1 (1) e 2 (2) do Rio Nhundiaquara para os períodos amostrados. $pCu = [-\log(\text{Cobre iônico livre})]$ vs $-\log(\text{concentração de cobre total})$. Força iônica = 0,1 M (NaNO₃), pH 6.8. Julho de 2004 (A), Janeiro de 2005 (B), Julho de 2005 (C) e Dezembro de 2005 (D).

A TABELA 9 mostra o resultado dos parâmetros de complexação (K_1' , Cl_1 , K_2' , Cl_2) obtidos usando análises Scatchard Plot. Naturalmente, eles refletem o comportamento das curvas de titulação. A FIGURA 18 ilustra três Scatchard Plots para os dados titulados, o qual foi obtido das amostras naturais do rio Nhundiaquara. Os gráficos mostram que dois ligantes distintos foram produzidos para cada tratamento e que os ligantes são de natureza diferente, o que é indicado pela diferença das formas das curvas.

TABELA 9 - Parâmetros de complexação obtidos com análises Scatchard plot das titulações em águas naturais do rio Nhundiaquara. Todos os valores são apresentados em log da concentração molar.

Período	Est.	K_1'	Cl_1	K_2'	Cl_2
Jul - 04	1	7,03	$4,6 \times 10^{-6}$	5,43	$3,64 \times 10^{-5}$
	2	8,21	$1,75 \times 10^{-6}$	5,55	$3,13 \times 10^{-5}$
Jan - 05	1	----	----	----	----
	2				
Jul - 05	1	6,46	$2,32 \times 10^{-6}$	4,42	$6,31 \times 10^{-5}$
	2	6,36	$1,98 \times 10^{-6}$	4,08	$1,09 \times 10^{-4}$
Dez - 05	1	7,41	$9,30 \times 10^{-7}$	4,56	$3,78 \times 10^{-5}$
	2	7,99	$7,88 \times 10^{-7}$	5,12	$2,08 \times 10^{-5}$

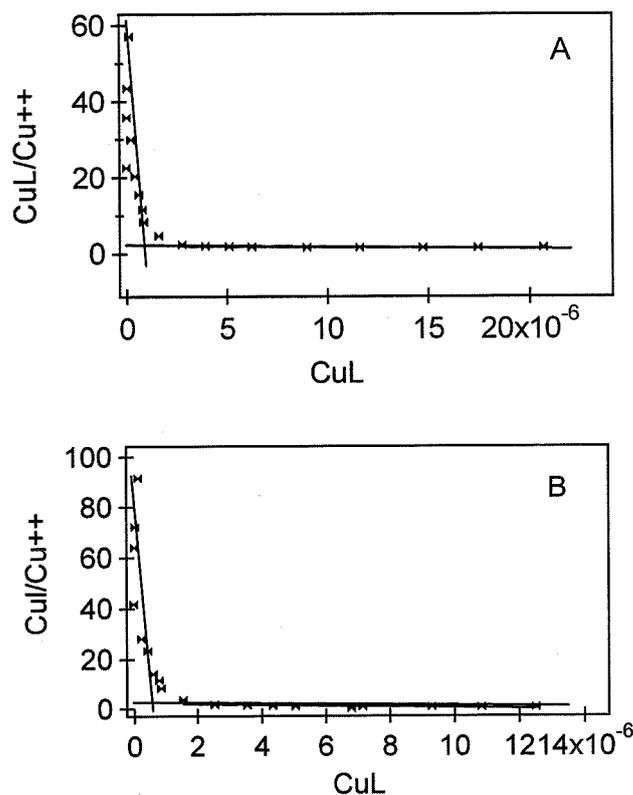


FIGURA 18 - Scatchard plots para os dados titulados da estação 1 (A) e da estação 2 (B) do Rio Nhundiaquara, com regressão linear.

Análise estatística (ANOVA), contrastou os parâmetros de complexação (TABELA 9) para cada período (jul-04, jul-05, dez-05) e estação (1 e 2), revelando que entre as estações 1 e 2, o $\log K'_1$ e CL_1 foi diferente ($p < 0,05$) somente em Jul-04, e $\log K'_2$ foi diferente em Dez-05. Em relação aos períodos, na estação 1 $\log K'_1$ foi significativamente maior em Dez-05, $\log K'_2$ foi maior em Jul-05, CL_1 e CL_2 foi diferente ($p < 0,05$) em Dez-05. Já na estação 2 $\log K'_1$ e $\log K'_2$ foi menor em Jul-05, enquanto CL_2 foi maior nesse mesmo período.

Comparando-se as duas estações amostrais, observamos que a estação 2, localizada a jusante de Morretes apresentou valores de K' mais elevados do que a estação 1 e valores de CL menores, ou seja, menor quantidade de sítios disponíveis, mas cada qual com maior afinidade pelo cobre. No entanto uma exceção foi obtida quando da análise de titulação da amostra coletada em julho/2005, período de menor índice pluviométrico. De maneira geral, os resultados mostraram que também

nas análises de complexação, a pluviosidade exerce grande influência na dinâmica do cobre no Rio Nhundiaquara.

5.3 COMPLEXAÇÃO DO COBRE COM CELULAS DE EUTETRAMORUS SP

5.3.1 Curva de crescimento

A curva de crescimento (FIGURA 19), que mostra o número de células em função do tempo de incubação, confirma que a fase exponencial foi alcançada após 50 dias. As culturas foram destinadas para titulações quando a densidade populacional atingiu aproximadamente 2.5×10^6 cells.ml⁻¹. De acordo com LOMBARDI e VIEIRA (2000) a habilidade de complexação do íon cobre em meio de cultura é maior para os excretados na fase estacionária do que na fase exponencial.

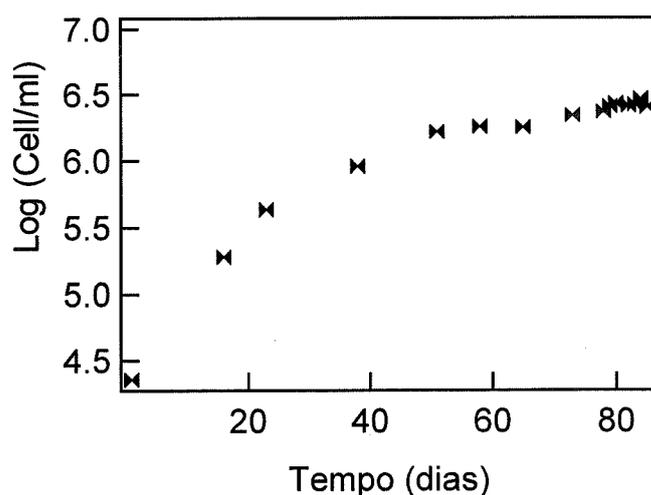


FIGURA 19 - Curva de crescimento de *Eutetramorus sp* cultivada em meio WC modificado (Guillard e Lorenzen 1972). Regressão linear da fase exponencial de crescimento: $y = 4,30 + 0,058 \log x$, $R = 0,999$.

5.3.2 Titulação

A curva de titulação para material excretado, suspensão de células mortas e de células vivas de *Eutetramorus sp* é representada na FIGURA 20. Considerando o material excretado, podemos inferir que a habilidade para complexação de íons de Cu^{++} do meio de cultura foi mais baixa para os excretos algais, com um aumento

seqüencial seguindo a ordem suspensão de células mortas e suspensão de células vivas.

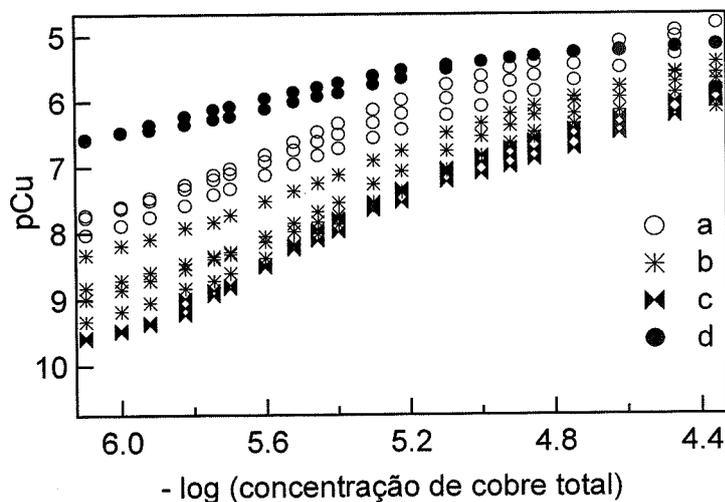


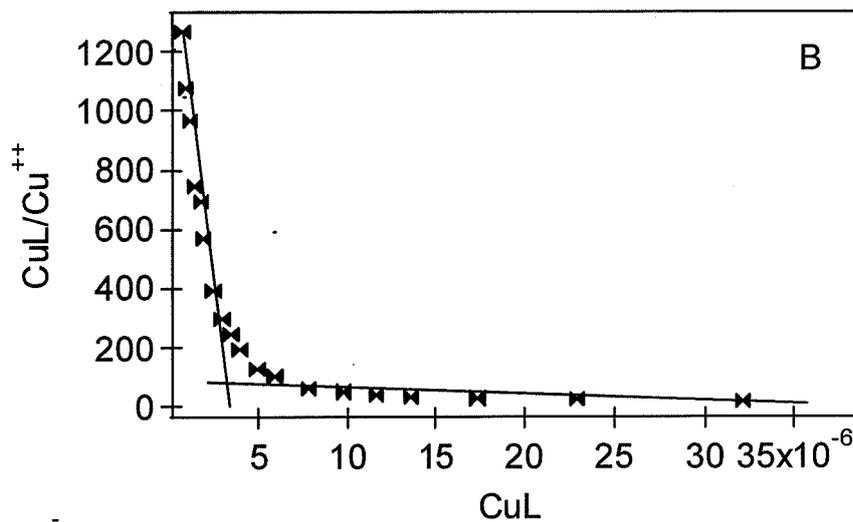
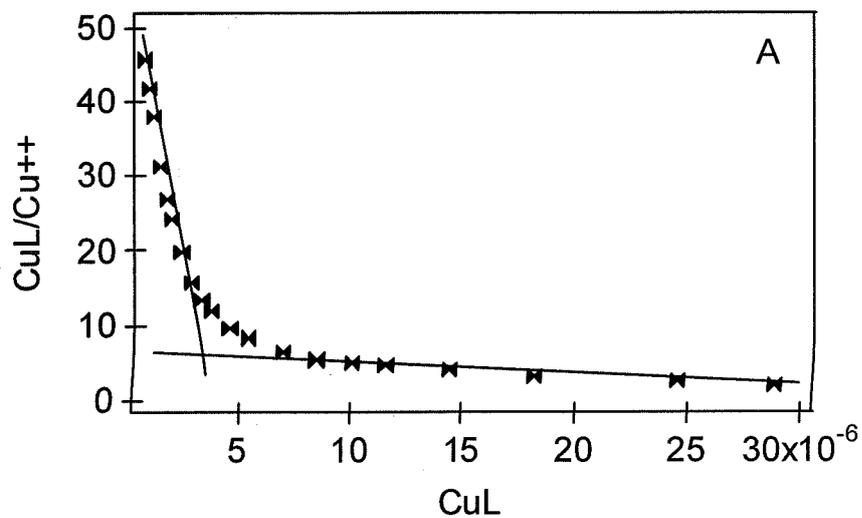
FIGURA 20 - Curva de titulação para cobre ISE em amostras filtradas, com células vivas e mortas da *Eutetramorus sp*. Potencial (mV) registrado em função do Log da concentração total de metal. Excretados (A), células mortas (B), células vivas (C), Branco (D).

A TABELA 10 mostra o resultado dos parâmetros de complexação (K_1' , CL_1 , K_2' , CL_2) obtidos usando análises Scatchard Plot dos dados titulados. Naturalmente, eles refletem o comportamento das curvas de titulação. A FIGURA 21 ilustra três Scatchard Plots para os dados titulados, obtidos das culturas de *Eutetramorus sp* na fase estacionária.

TABELA 10 - Parâmetros de complexação obtidos usando análises Scatchard Plot da titulação dos dados. Os valores de K' estão em log da concentração e CL estão em Molar.

Fase Estacionária				
<i>Eutetramorus sp</i>	K_1'	CL_1	K_2'	CL_2
Material excretado	7,31	$3,34 \times 10^{-6}$	5,12	5×10^{-5}
Células mortas	8,48	$3,88 \times 10^{-6}$	6,11	$5,17 \times 10^{-5}$
Células vivas	9,11	$3,16 \times 10^{-6}$	6,48	$4,79 \times 10^{-5}$

Contrastando os três tratamentos, K'_1 e K'_2 foram diferentes com 95% de intervalo de confiança, enquanto que CL_1 e CL_2 foram considerados similares entre os tratamentos (ANOVA bifatorial). Além disso, ANOVA unifatorial com 95% de intervalo de confiança contrastou K'_1 e K'_2 em cada tratamento e demonstrou que os parâmetros de complexação foram diferente. Contudo, quando é considerado CL_1 e CL_2 as análises estatísticas revelam que não há diferença significativa para cada tratamento.



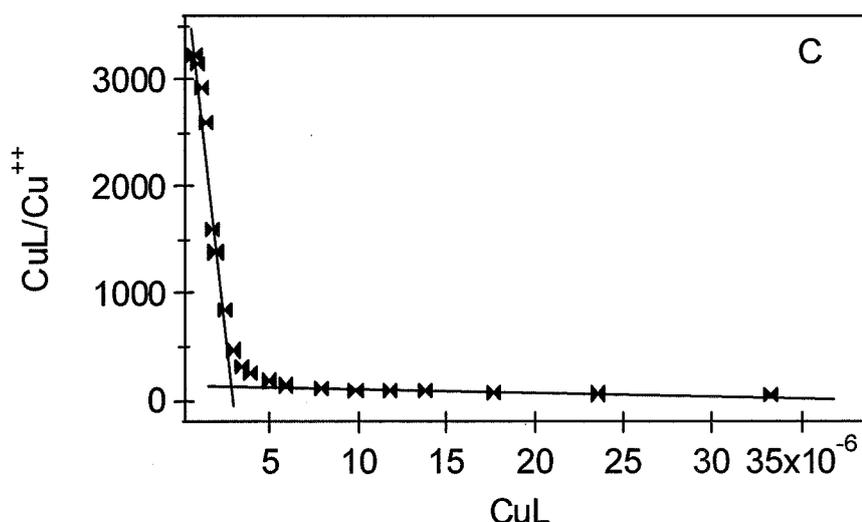


FIGURA 21 - Scatchard Plot dos dados titulados. Ligantes associados ao metal por metal livre em função de ligantes associados ao metal. (A) Material excretado, (B) Células mortas, (C) Células vivas.

Os experimentos de complexação com *Eutetramorus* sp. tiveram como objetivo verificar a capacidade de complexação de seu excretado total, de suas células vivas e de células mortas. Os resultados mostraram que a produção e exudação de agentes complexantes de cobre por *Eutetramorus* sp. é capaz de alterar a especiação de cobre no meio nutritivo, portanto atua sobre sua biodisponibilidade (MORRISON e FLORENCE, 1989; LOMBARDI *et al.*, 2002; LOMBARDI *et al.*, 2005). Por outro lado, a capacidade da superfície celular de quelar metais pode ser um caminho para entrada destes no organismo.

O produto orgânico excretado por *Eutetramorus* sp, acumulado no meio de cultura na fase estacionária de crescimento, apresentou características de agente de complexação (FIGURA 20) com força de associação maior que o normalmente obtido por muitas Chlorophyceae (LOMBARDI e VIEIRA, 2000). De acordo com SWALLOW *et al.*, (1978), que usa ISE para determinar complexação do cobre pelos excretados algais, somente uma entre oito espécies de fitoplâncton testadas produzem compostos orgânicos extracelulares que podem alterar a especiação do íon cobre no meio de cultura em concentração de cobre de 1×10^{-6} M.

Baseado em análises estatísticas dos dados obtidos do material excretado, podemos generalizar que são produzidas maiores quantidades de ligantes fracos (CL2) quando comparado com a produção do ligante forte (CL1). Esse material

excretado é normalmente constituído por exopolissacarídeos, como reportado por LOMBARDI e VIEIRA (1999). A constante de estabilidade condicional (K') obtida com o material excretado está em acordo com os resultados apresentados por MCKNIGHT e MOREL (1979) e LOMBARDI e VIEIRA (2000). Esses autores detectaram que algas eucariontes liberam ligantes de complexação fracos quando comparados com os produzidos por Cyanobacterias. Contudo, algumas Chlorophyceae podem produzir ligantes fortes.

LOMBARDI *et al.*, (2005) detectaram $\text{Log}K'1$ igual a 7,3 para os excretados de *Scenedesmus acuminatus* no fim da fase exponencial. MCKNIGHT e MOREL (1979) e MCKNIGHT e MOREL (1980) encontraram resultados similares para *S. obliquus* (Chlorococcales). Diferenças na habilidade de complexação de metabólitos excretados por microalgas têm sido freqüentemente encontradas. LOMBARDI e VIEIRA (1999) reportaram a produção de ligantes de complexação fracos pela Chlorophyceae *Kirchneriella aperta* na fase exponencial, enquanto que a mesma espécie produz ligantes fortes na fase estacionária de crescimento.

A microalga *Eutetramorus* sp. forma colônias esféricas de células livres que são mantidas unidas através da produção de mucilagem. Similarmente a outras mucilagens produzidas por Chlorophyceae, a produzida por *Eutetramorus* sp é capaz de complexar cobre e pode controlar a especiação do metal em ambientes aquáticos.

As superfícies celulares de microalgas são caracterizadas pela presença de elevada heterogeneidade química de sítios de ligação, constituídas de grupos sulfônico, imidazólico, amino, fenólicos, e principalmente carboxílicos (CRIST *et al.*, 1990), os quais levam a uma distribuição de afinidades por metais. Há uma ocupação preferencial por sítios mais fortes, seguida de sítios mais fracos, que são os mecanismos responsáveis pela biosorção dos metais na superfície celular e representam a somatória de todos os processos passivos de interação da parede celular com íons metálicos. Em contraste, o processo de absorção, que resulta na bioacumulação de metais por microalgas é um mecanismo ativo, no qual o metal entra na célula contra um gradiente de concentração e, em microalgas, é considerado irreversível (SCHMITT *et al.*, 2001).

O presente estudo demonstrou que esses sítios da superfície celular (células mortas) apresentam alta afinidade ($K'1$ e $K'2$) com cobre quando se compara ao

material excretado. Contudo, sua concentração foi similar (CL1 e CL2). Resultados da literatura mostram que há uma variação do metal associado à superfície celular mediante variações do pH. XUE e SIGG (1990) investigaram a ligação de cobre livre com superfícies de alga viva em vários níveis de pH, e obtiveram $\text{Log } K' = 10$ em pH 6,5. CRIST e colaboradores publicaram uma série de estudos sobre a interação de prótons e metais com algas. CRIST *et al.*, (1990) mostrou que são 2 os processos responsáveis pela taxa de tomada de prótons por *Vaucheria* sp., uma alga encontrada em solos úmidos. Os autores demonstraram que os processos são dependentes da $[\text{H}^+]$ e o primeiro relaciona-se a reações de superfície (ligação covalente na superfície aniônica da alga envolvendo troca iônica), enquanto o segundo é mais lento e envolve reações de parede celular.

Aplicando-se o modelo de Scatchard aos presentes resultados, foram obtidas curvas côncavas, evidenciando a existência de 2 sítios de ligação para os exudados, células vivas e células mortas de *Eutetramorus* sp. Segundo CRIST *et al.*, (1994), a curva côncava resultante pode ser interpretada como a presença de mecanismos de troca iônica, não simplesmente processo de adsorção. Assim, para as células vivas, cujos valores de $K'1$ foram os maiores obtidos neste estudo, os resultados sugerem que outros mecanismos, além de troca iônica podem estar operando em nível de parede celular. Tais mecanismos estão presentes somente nas células vivas e, portanto relacionam-se ao metabolismo celular. Conforme os íons metálicos ligam-se à parede celular das células vivas, o processo de tomada de metal tem início, sugerindo que esse é uma combinação de mecanismos de troca iônica na superfície algal e bioacumulação, levando ao enriquecimento de metais no interior da célula. Estes resultados estão de acordo com os reportados em LOMBARDI *et al.*, (2002) sobre a ligação de metais na mucilagem e superfície algal, e posterior transporte iônico para dentro da célula.

Portanto, pode-se concluir que a quelatação dos íons metálicos às algas ocorre através de grupos funcionais específicos na superfície celular e/ou devido aos mecanismos específicos de absorção (SCHMITT *et al.*, 2001). A constante de estabilidade do complexo formado entre metal/ligante proveniente das células vivas em suspensão são duas ordens de magnitude maior que o material excretado e uma ordem maior do que o obtido para a suspensão de células mortas.

Dos resultados deste trabalho obtidos sobre interações de microalgas com metais, pode-se concluir que uma microalga, como entidade dotada de carga superficial e produtora de agentes complexantes de metais (cobre) afeta a especiação de íons metálicos no ambiente. Várias conseqüências podem ser previstas dessa interação, dentre elas, menciona-se o transporte facilitado de metais em cadeias tróficas e mesmo a redução da biodisponibilidade de íons metálicos no ambiente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como resultado do desenvolvimento da presente proposta, avaliou-se o impacto de atividades antrópicas do município de Morretes no Rio Nhundiaquara, através do estudo da comunidade algal, dos materiais orgânicos e inorgânicos dissolvidos e da especiação do metal cobre. Os resultados demonstraram que o Rio Nhundiaquara apresenta caráter oligotrófico e elevado potencial de recuperação da influência exercida pelos efluentes urbanos da cidade de Morretes. Ficou evidente também que a chuva dilui as concentrações dos constituintes dissolvidos na água do rio, contribuindo para a manutenção da saúde do sistema.

O relevo (alta declividade) e a vegetação local (Florestas Ombrófila Densa e Mista, com alto grau de preservação) exercem influenciam a dinâmica do sistema, caracterizando o ambiente como bem oxigenado, com pouco material em suspensão e baixos teores de nutrientes. As variações sazonais foram bem menores em relação ao encontrado em outros trabalhos, denotando a proteção que as condições de preservação da vegetação conferem aos cursos d'água.

As amostras do Rio Nhundiaquara apresentaram níveis de cobre abaixo do limite estipulado pela legislação brasileira e seus valores estão diretamente relacionados com os parâmetros de complexação, os quais apontam para uma grande capacidade de tamponamento do aporte do cobre, pois quanto maior a constante de estabilidade condicional menor a concentração de íons livre no meio.

Os experimentos de interações do metal cobre com *Eutetramorus* sp possibilitaram uma melhor compreensão da dinâmica desse metal em relação à sua capacidade de adsorção na superfície celular e de complexação com exudatos algais. Os resultados mostraram um aumento no valor da constante de estabilidade condicional seguindo a ordem: material excretado; suspensão de células mortas; e suspensão de células vivas, apresentando esta última os maiores valores de K' . Assim, considerando que as microalgas são capazes de alterar a especiação química e biodisponibilidade de íons metálicos, tanto através da produção de ligantes orgânicos extracelulares, como também através de adsorção e absorção iônica, o estudo das interações envolvendo íons metálicos e microalgas assumem grande importância ambiental. Podemos ainda concluir que a microalga, presente no

Rio Nhundiaquara e dele isolada, pode contribuir para a capacidade de complexação obtida para as amostras naturais do rio.

No presente estudo, valores atípicos foram verificados quando o índice pluviométrico foi elevado e fora de época, ou quando o mesmo foi muito baixo, o que demonstra a grande influência que as chuvas exercem em sistemas lóticos. Reforçamos ainda a necessidade, não só da preservação da mata ciliar, como é de conhecimento público, mas também de um controle rigoroso quanto ao uso de agrotóxicos e fertilizantes agrícolas em plantações desenvolvidas no entorno do rio.

7 BIBLIOGRAFIA

- AHEARN, D.S.; SHEIBLEY, R.W.; DAHLGREN, R.A.; KELLER, K.E. (2004). Temporal dynamics of stream water chemistry in the last free-flowing river draining the western Sierra Nevada, California. *J. Hydrol.*, Amsterdam. [s.n.]
- BASSFELD, J. (2001). **Toxicidade aguda para organismos-teste *Selenastrum capricornutum* Printz (Alga – Chlorophyceae) e *Daphnia magna* Straus (Crustácea: Cladocera) de cinco agrotóxicos frequentemente utilizados na Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara – Morretes** – PR. 97p. Tese (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BENEDETTI, M.F.; MILNE, C.J.; KINNIBURGH, D.G.; VAN RIEMSDIJK; WILLEM, H. e KOOPAL, L.K. (1995). Metal ion binding to humic substances: application of the non-ideal competitive adsorption model. *Environ. Sci. Technol.* [S.L], v. 29, n. 2, p. 446-457.
- BONFIM, K.V. (2005). **Toxicidade de Cu²⁺ em células de *OOCYSTIS sp.*** 39p. Monografia (Especialização em Ecotoxicologia) – Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná.
- BROWN, P.L.; MARKICH, S.J. (2000). Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: Extension of the conceptual model. *Aquat. Toxicol.* [S.L], v.5, p.177-194.
- BUFFLE, J.; DE VITRE, R.R. (1994). **Chemical and biological regulation of aquatic systems.** Lewis Publishers, CRC Press, Inc. USA, p. 385.
- BUFFLE, J. (1988). **Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach.** West Sussex, England: Ellis Horwood. p. 692.
- CAMPBELL, P.G.C.; TWISS, M.R.; WILKINSIN, K.J. (1997). Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells: implications for the interaction of toxic solutes with aquatic biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, v. 54, p. 2543-2554.
- CAMPBELL, P.G.C.; STOKES, P.M. (1985). Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Canad. J. Fish. Aquat. Sci.* Quebec, v. 42, n. 12, p. 2034-2049.
- CARMOUZE, J.P. (1994). **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises química.** São Paulo: Edgard Blucher. p.253.
- CETESB. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>> Acesso em: 07 março 2006.
- CHAPMAN, P.M.; ALLEN, H.; GODTFREDSSEN, K.; GRAGGEN, M.N. (1996). Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. *Environ. Sci. Technol.*, Washington, v. 30, n.10, p. 448A-452A.
- CHU, K.H.; HASHIM, M.A.; PHANG, S.M.; SAMUEL, V.B. (1997). Biosorption of cadmium by algal biomass: adsorption and desorption characteristics. *Water Sci. Technol.*, Kidlington, v. 35, p.115-122.
- CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL BRASIL. Disponível em: <<http://www.conservation.org.br/>> Acesso em: 10 março 2004.
- CRIST, R.H.; MARTIN, J.R.; CARR, D.; WATSON, J.R.; CLARKE, H.J.; CRIST, D.R. (1994). Interaction of metals and protons with algae. 4. Ion exchange vs adsorption models and a reassessment of scatchard plots; ion-exchange rates and equilibria compared with calcium alginate. *Environ. Sci. Technol.*, Washington, v. 28, p.1859-1866.
- CRIST, R.H.; MARTIN, J.R.; GUPTILL, P.W.; EISLINGER, J.M.; CRIST, D.R. (1990). Interaction of metals and protons with algae. 2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. *Environ. Sci. Technol.*, Washington, v. 24, p. 337-42.

CROOT, P.L.; MOFFET, J.W.; BRAND L.E. (2000). Production of extracellular Cu ligands by eucaryotic phytoplankton in response to Cu stress. **Limnol. Oceanogr.**, Waco, v. 45, p. 619-627.

DeMASTER, D.J.; SMITH JR, W.O.; NELSONS, D.M.; ALLER, J.Y. (1996). Biogeochemical processes in Amazon shelf waters: chemical distributions and uptake rates of silicon, carbon and nitrogen. **Cont. Shelf Res.** [S.L], v. 16, p. 617- 643.

DE OLIVEIRA, C.R.; LOMBARDI, A.T.; e JARDIM, W.F. (1995). Copper complexation by naturally occurring organic matter. A multiligand model. **Chem. Spec. Bioavail.** [S.L], v.7, p.125- 131.

FOX, L.E. (1984). The relationship between dissolved humic acids and soluble iron in estuaries. **Geochim. Cosmochim. Acta.** [S.L], v. 48, p. 879-885.

EMATER (1995). Diagnóstico regional. Paranaguá. p.90.

ESTEVES, F.A. (1998). **Fundamentos de limnologia.** [S.L.]: Interciência. p.146 – 243.

EVANS, A. (1987). **Potentiometry and ion selective electrodes.** London: John Wiley & Sons. p.304.

GARGIONI, V. (1991). **Partição do cádmio entre o sedimento e a água intersticial.** [s.n.]. Tese (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GRASSHOFF, K.; EHRHARDT, M.; KREMLING, K. (1983). **Methods of seawater analysis.** 2.ed. Weinheim: Verlag Chemie. p.419.

GUASCH, H.; PAULSSON, M. e SABATER, S. (2002). Effect of copper on algal communities from oligotrophic calcareous streams. **J. Phycol.** [S.L.], v. 38, p. 241-248

GUILLARD, R.R.L.; LORENZEN, C.J. (1972). Yellow-green algae with chlorophyllide-c. **J. Phycol.**, Lawrence, v. 8, p. 10-14.

HOLM, T.R. (1990). Copper complexation by natural organic matter in contaminated and uncontaminated groundwater. **Chem. Speciation Bioavailability.** [S. L.], v. 2, p. 63-72

HUTCHINS, S.R.; DAVIDSON, M.S.; BRIERLEY, C.L. (1986). Microorganisms in the reclamation of metals. **Annu. Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v. 40, p. 311-36.

ILHA DO MEL PRESERVE. **Morretes.** Disponível em: <<http://www.ilhadomelpreserve.com.br/turismoolitoraladoparanamorretes.htm>> Acesso em: 10 março 2004.

KASAN, H.C. (1993). The role of waste activated sludge and bactéria in metal-ion removal from solution. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** [S.L.], v. 23, p. 79-117

KNAUER, K. (1996). **Interactions of trace metals (Cu, Zn and Mn) with freshwater phytoplankton.** 118 p. Tese (PhD) - Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.

KNAUER, K.; BEHRA, R.; SIGG, L. (1997). Adsorption and uptake of copper by the green alga *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyta). **J. Phycol.**, Lawrence, v. 33, p. 596-601.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B.; DEMOPOULOS, G. (1997). Optimizing Cu removal/recovery in a biosorption column. **Water Res.**, Kidlington, v. 31, p. 2327-2339.

LOMBARDI, A.T.; HIDALGO, T.M.R.; VIEIRA, A.A.H. (2005). Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). **Chemosphere**, Kidlington, v. 60, p. 453-459.

- LOMBARDI, A.T. (2006). **Efeito da MOD nas interações metais – microalgas: uma investigação na bacia do rio nhundiaquara, Paraná.** Pontal do Paraná: Universidade Federal do Paraná. Relatório Científico CNPQ.
- LOMBARDI, A.T.; JARDIM, W.F. (1997a). The complexation of marine and terrestrial organic materials with copper(II) ions as determined by fluorescence quenching. **Chem. Spec. Bioavail.** [S.L], v. 9, p. 27-34.
- LOMBARDI, A.T.; JARDIM, W.F. (1997b). Synchronous-scan fluorescence and the complexation of copper(II) ions by humic substances. **J. Brazil. Chem. Soc.** [S.L], v. 8, p. 339-342.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H. (1999). Lead and copper complexing extracellular ligands released by *Kirchneriella aperta* (Chlorococcales, Chlorophyta). **Phycologia**, Lawrence, v.38, p. 283- 288.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H. (2000). Copper complexation by Cyanophyceae and Chlorophyceae exudates. **Phycologia**, Lawrence, v. 39, p. 118-125.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H.; SARTORI, A.L. (2002). Mucilaginous capsule adsorption and intracellular uptake of copper by *Kirchneriella aperta* (Chlorococcales). **J. Phycol.**, Lawrence, v. 38, p. 332-337.
- MARQUES, P.H.C. (2000). **Estudo limnológico do Rio Piraquara (Piraquara-PR): Variação espacial e temporal das características físicas e químicas e ordenação espacial da bacia hidrográfica.** 100 p. Tese (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- MARQUES, P.H.C. (2004). **Integração entre ecologia de bacias hidrográficas e Educação ambiental para a conservação dos rios da serra do mar no estado do Paraná.** 177 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- MART, L. (1979). Prevention of contamination and other accuracy risks in voltammetric trace analysis of natural waters. Part I. Preparatory steps, filtration and storage of water samples. **Fresenius. Z. Anal. Chem.**, Berlin, v. 296, p. 350-357.
- MCKNIGHT, D.M.; MOREL, F.M.M. (1979). Release of weak and strong copper-complexing agents by algae. **Limnol. Oceanogr.**, Waco, v. 24, p. 823-837.
- MCKNIGHT, D.M.; MOREL, F.M.M. (1980). Copper complexation by siderophores from filamentous blue-green algae. **Limnol. Oceanogr.**, Waco, v. 25, p. 62-71.
- MEITES, L. (1981). **An introduction to chemical equilibrium and kinetics.** Pergamon Series in Analytical Chemistry. v.1, p.280-290.
- MEYBECK, M.; HELMER, R. (1992). An introduction to water quality. In: CHAPMAN, D. (Ed.). **Water quality assessment.** Cambridge: University Press. [s.n.]
- MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K. (2002). **Vogel: Análise Química Quantitativa.** 6a. edição (Traduzido por Afonso, J.C. et al., UFRJ), Rio de Janeiro, LTC-Longman, p.462.
- MOREL, F.M.M.; HUDSON, R.J.M. (1985). The geobiological cycle of trace elements in aquatic systems. In: STUMM, W. (Ed.) **Chemical Processes in Lakes.** New York: Wiley – Interscience. p. 251-281.
- MORRISON, G.M.P.; FLORENCE, T.M. (1989). Comparison of physicochemical speciation procedures with metal toxicity to *Chlorella pyrenoidosa*. Copper complexation capacity. **Electroanalysis**, Weinheim, v. 1, p.107-112.
- NAKSHINA, Y.P. (1985). Heavy metals in the water sediment interface of water bodies: A survey. **Hydrobiol.** [S.L.], v. 21, p. 92-101.

NOGUEIRA, P.F.M.; MELÃO, M.D.; LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H. (2005). The effects of *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) exopolysaccharide on copper toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Daphnidae). **Freshw. Biol.**, Oxford, v. 50, p. 1560-1567.

NRIAGU, J.O.(1990). Global metal pollution. **Environment**, Washington, v. 32, n. 7, p. 7-33.

PARENT, L.; CAMPBELL, P.G.C. (1994). Aluminum Bioavailability to the green-algae *Chlorella pyrenoidosa* in acidified synthetic soft-water. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, v. 13, n. 4, p. 587-598.

PHYNNEY, J.T.; BRULAND, K.W. (1994). Uptake of lipophilic organic Cu, Cd and Pb complexes by passive diffusion in the coastal diatom, *Thalassiosira weissflogii*: qualifying the present free-ion model of metal- microorganism interactions. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v. 28, p. 1781-1790.

REUTER, J.H.; PERDUE, E.M. (1977). Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. **Geochim. Cosmochim. Acta**. [S.L.], v. 41, p. 325-334.

REZENDE, C.E.; LACERDA, L.D. (1986). Metais pesados em mexilhões *Perna perna* no litoral do Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 46, p. 239-247.

RODRÍGUES, M.P.(2001). **Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu/SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas**. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

SANEPAR (2006). **Esgotamento Sanitário Morretes**. [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por: <josemo@sanepar.com.br> em: 22 mar. 2006.

SCATCHARD, G.; COLEMAN, J.S.; SHEN, A.L. (1957). Physical chemistry of protein solution: VII. The binding of some small anions to serum albumin. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 79, p. 312-313.

SCHAMPHELAERE, K.A.; STAUBER, J.L.; WILDE, K.L.; MARKICH, S.J.; BROWN, P.L.; FRANKLIN, N.M.; CREIGHTON, N.M.; JANSSEN, C.R. (2005). Toward a biotic ligand model for freshwater green algae: surface-bound and internal copper are better predictors of toxicity than free Cu^{2+} -ion activity when pH is varied. **Environ Sci Technol**. [S.L.], v. 39, n. 7, p. 2067-72.

SCHMITT, D.; MULLER, A.; CSOGOR, Z.; FRIMMEL, F. H.; POSTEN, C. (2001). The adsorption kinetics of metal ions onto different microalgae and siliceous earth. **Water Res.**, Kidlington, v. 35, p. 779-785.

SIGG, L. (1987). Surface chemical aspects of the distribution and fate of metal ions in lakes. In: STUMM, W. (Ed.) **Aquatic Surface Chemistry, Chemical Processes at the Particle-Water Interface**. New York: Wiley-Interscience. p. 319-349.

STUMM, W. e MORGAN, J.J. (1981). **Aquatic Chemistry**, John Wiley & Sons. New York, U.S.A.

STRICKLAND, J.L.H.; PARSONS, T.R. (1972). A practical handbook of seawater analysis. **Fish. Res. Board. Can. Bull.**, Ottawa, 167 p.

SUNDA, W.G.; HUNTSMAN, S.A. (1998). Processes regulating cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model systems. **Sci. Total Environ.**, Shannon, v. 219, p. 165-181.

SWALLOW, K. C.; WESTALL, J. C.; MCKNIGHT, D. M. M.; MOREL, N. M. L.; MOREL, F. M. M. (1978). Potentiometric determination of copper complexation by phytoplankton exudates. **Limnol. Oceanogr.**, Waco, v. 23, p. 538-542.

- TANIGUCHI, G. M. (1998). **Varição Espacial e Temporal de Características Limnológicas abióticas no Gradiente Litorâneo Limnético da Lagoa do Diogo, Planície de Inundação do Rio Mogi-Guaçu – SP.** [s.n.]. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TAPPIN, A.D. (2002). An Examination of the Fluxes of Nitrogen and Phosphorus in Temperate and Tropical Estuaries: Current Estimates and Uncertainties. **Estuar. Coast. Shelf Sci.**, London, v. 55, p. 885-901.
- TODESCHINI, M.L. (2004). **Dinâmica Espacial E Temporal Das Características Físicas E Químicas Do Rio Cubatão E Ordenação Espacial Da Bacia Hidrográfica.** 120 p. Tese (Mestrado em Geologia Ambiental) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- TUNDISI, J. G. (1999). **Limnologia no século XXI: perspectivas e desafios.** São Carlos: Instituto Internacional de Ecologia. 24 p.
- TWISS, M.R. (1996). The importance of chemical speciation: from the bulk solution to the cell surface. **J. Phycol.**, Lawrence, v. 32, p. 885-886.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS. Clube da química. **Teoria de oxidação e redução.** Disponível em: <http://www.cq.ufam.edu.br/cd_24_05/teoria_oxida%E7%E3o.htm> Acesso em: 05 abril 2006.
- VAN DEN HOEK; MANN, D.G.; JAHNS, H.M. (1995). **Algae, an introduction to phycology.** Cambridge University Press. U.K., p. 623.
- VASCONCELOS, M.T.S.D.; LEAL, M.F.C. (2001). Adsorption and uptake of Cu by *Emiliania huxleyi* in natural seawater. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v. 35, p. 508-515.
- VOELKER, B.M.; KOGUT, M.B. (2001). Interpretation of metal speciation data in coastal waters: the effects of humic substances on copper binding as a test case. **Mar. Chem.** [S.L], v. 74, p. 303-318.
- WASSERMAN, J.C.; *et al.*, (2000). **Estudo do impacto ambiental da Barra Franca na Lagoa de Saquarema.** Niterói: Universidade Federal Fluminense. Relatório técnico UFF
- WIKIPÉDIA. **Cobre.** Disponível em: < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cobre>> Acesso em: 05 abril 2006
- WHITFIELD, M.; TURNER, D.R. (1987). The role of particles in regulating the composition of seawater. In: STUMM, W. (Ed.) **Aquatic Surface Chemistry Chemical Processes at the Particle-Water Interface.** New York: Wiley-Interscience. p. 457-493.
- XUE, H.B.; SIGG, L. (1990). Binding of Cu (II) to algae in a metal buffer. **Water Res.**, Kidlington, v. 24, p. 1129-1136.
- XUE, H.B.; SIGG, L. (1993). Free cupric ion concentration and cu(ii) speciation in a eutrophic lake. **Limnol. Oceanogr.** Dubendorf , v. 38, n.6, p.1200-1213.
- XUE, H.B.; STUMM, W.; SIGG, L. (1988). The binding of heavy metals to algal surfaces. **Water Res.**, Kidlington, v. 22, p. 917-926.
- XUE, H.B.; SUNDA, W.G. (1997). Comparison of [Cu²⁺] measurements in lake water determined by ligand exchange and cathodic stripping voltammetry and by ion-selective electrode. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v. 31, p. 1902-1909.