



Toxicidade das águas do Rio Marrecas para o bioindicador *Eisenia fetida*

Toxicity of Marrecas River waters for the Eisenia fetida bioindicator

Geiciane Locatelli Alves*, Eduardo Michel Vieira Gomes†, Patricia Aline Bressiani[€], Juan Carlos Pokrywiecki[#], Ana Paula de Oliveira Schmidt^{\$}, Liliane Hellmann[&], Franciele Ani Caovilla Follador[@], Gisele Arruda[¥], Elisangela Dusman[‡]

RESUMO

O Rio Marrecas é o principal rio da cidade de Francisco Beltrão, considerando a importância deste rio na vida dos habitantes desta cidade, foi então realizado este trabalho. Tendo como objetivo analisar a qualidade de suas águas, foram coletadas amostras em 9 pontos diferentes do rio, para realizar o teste de fuga com o bioindicador animal *Eisenia fetida*. O teste de fuga, consiste em um experimento utilizando uma parte do solo irrigado com água filtrada e outra parte com a amostra, minhocas são soltas entre os dois solos e então, após 24 horas é analisada a quantidade de minhocas que foram para o solo irrigado com amostra e quantas escolheram o solo com água filtrada. Os testes mostraram toxicidade em quatro pontos de coletas sendo eles o ponto 3, 6, 7 e 9, a provável causa do indicador de toxicidades nestes pontos são atividades irregulares na região, no entanto não houve significância nesses resultados de acordo com o teste estatístico de Fisher unicaudal, e estatisticamente o motivo desta toxicidade não está correlacionada a motivos físico-químico e microbiológico destes pontos.

Palavras-chave: Correlação Estatística, Monitoramento Ambiental, Poluição Hídrica, Teste de fuga.

ABSTRACT

The Rio Marrecas is the main river in the city of Francisco Beltrão, considering the importance of this river in the lives of the inhabitants of this city, this work was then carried out. Aiming to analyze the quality of its waters, samples were collected at 9 different points of the river, to carry out the leakage test with the animal bioindicator *Eisenia fetida*. The leakage test consists of an experiment using a part of the soil irrigated with filtered water and another part with the sample, earthworms are released between the two soils and then, after 24 hours, the amount of earthworms that went to the irrigated soil is analyzed with sample and how many chose the soil with filtered water. The tests showed toxicity in four collection points, they being points 3, 6, 7 and 9, the probable cause of the toxicity indicator in these points are irregular activities in the region, however there was no significance in these results according to the statistical test of One-tailed Fisher, and statistically the reason for this toxicity is not correlated to physicochemical and microbiological reasons for these points.

Keywords: Environmental monitoring, Leak test, Statistical correlation, water pollution.

1 INTRODUÇÃO

<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2021>

1

* Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; geicianelocatelli@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; eduardogomes@utfpr.edu.br

€ Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; patriciaab142536@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; juan@utfpr.edu.br

\$ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; anapoliveira@utfpr.edu.br

& Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; lilianehellmann@utfpr.edu.br

@ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Francisco Beltrão; francaovilla@hotmail.com

¥ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Francisco Beltrão; giselearrudabioq@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão; edusman@professores.utfpr.edu.br



Ao longo dos anos os rios vêm sofrendo cada vez mais com impactos ambientais, alterando seu funcionamento e sua qualidade, principalmente devido a atividades como o desmatamento da mata ciliar, a ocupação humana, e também os poluentes industriais, agrícolas e domésticos, dentre outras atividades (SILVEIRA, 2004).

O Rio Marrecas possui um perímetro de aproximadamente 173,19 km, sendo sua nascente nos perímetros da cidade de Marmeleiro e desague no rio Santana (Figura 1). Passa pelos limites dos municípios de: Marmeleiro, Flor da serra, Francisco Beltrão, Verê e Itapejara D'oeste (GAEDKE, 2019).

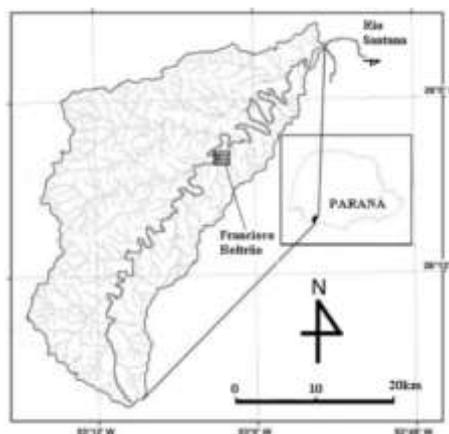


Figura 1 - Localização da Bacia Hidrográfica do Rio Marrecas.
Fonte: LUZ, 2011.

Para determinar a qualidade da água e o impacto que ela está causando na fauna e na flora, são realizadas avaliações físico-químicas, biológicas e monitoramentos (SILVEIRA, 2004). As minhocas têm sido utilizadas como bioindicadores para testes ecotoxicológicos, pois fornecem limites de segurança para produtos químicos no meio ambiente (ABNT, 2007; SIVAKUMAR, 2015; AZEVEDO, 2018; FIEIRA, 2019). As respostas das minhocas aos poluentes do solo podem ser de natureza aguda, tais como evitamento (fuga), mortalidade e taxa de crescimento; e crônica, através da medição da taxa de reprodução e redução de biomassa (LIONETTO, 2012).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade das águas do Rio Marrecas, da região da nascente à foz, utilizando como biomarcador o teste de fuga com os bioindicadores minhocas, além de realizar a tabulação, análise e interpretação dos dados obtidos, em especial correlacionando com as análises físico-químicas destas amostras de água.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Solução tratamento e pontos de coletas

Para a realização deste experimento, foram coletadas amostras de nove pontos do Rio Marrecas (Figura 2), na estação do verão. O ponto P1 está localizado a 4 km da nascente do rio. O P2 está em uma área rural junto de plantações de pinos. O P3 encontra-se nos perímetros rurais da cidade de Francisco Beltrão ao lado de plantações. Os pontos P4, P5, P6, P7 e P8 estão localizados no perímetro urbano da cidade de Francisco Beltrão, sendo o P4 o local onde é feito a captação de água para a Estação de Tratamento de Água. O P5 está localizado em uma região com grande concentração de lixo. O P6 é um local onde as residências são próximas ao rio. O P7 está em um local crítico por encontrar-se logo após a devolução do esgoto pela estação de tratamento de esgoto (ETE) de Francisco Beltrão, cemitério Municipal e o desague dos rios Lonqueador e Urutago. O P8 encontra-se no final do perímetro urbano onde podem ser encontradas moradias irregulares

próximas ao rio e, o P9 está próxima afoz do Rio Marrecas (SANTOS, 2021).

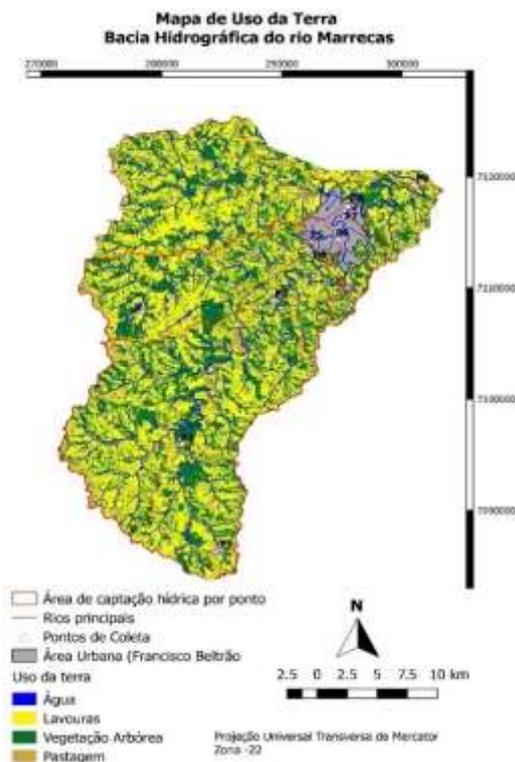


Figura 2 - Localização dos pontos de coletas de água do Rio Marrecas na bacia hidrográfica deste Rio.
Fonte: Adaptado de Santos et. al. (SANTOS, 2021).

A coleta e preservação/armazenamento de amostras de água foram realizadas de acordo com as instruções e métodos contidos no "Standard Methods" (APHA, 2012). As amostras foram coletadas com auxílio de balde de plástico, em locais de difícil acesso ao meio do leito do rio, e armazenadas em garrafas plásticas limpas. Nos locais de acesso, as garrafas plásticas foram imersas no ponto de coleta de água do rio, a cerca de 30 cm da superfície. As amostras de foram armazenadas em caixa isotérmicas e transportadas ao laboratório onde permaneceram congeladas ($T \leq 4^{\circ}\text{C}$) para posterior análise.

2.2 Teste de fuga com *Eisenia fetida*

O ensaio de fuga com as minhocas *Eisenia fetida* foi realizado segundo a norma NBR ISO 17512-1 (NBR ISO 17512-1, 2011). As minhocas utilizadas no experimento possuíam clitelo bem desenvolvido e massa corporal individual de 300 a 600 mg. Como solo, utilizou-se uma adaptação do solo artificial tropical (SAT) proposto pela OECD (OECD, 1984), sendo constituído por uma mistura de areia fina seca e peneirada (70%), caulim em pó (20%) e fibra de coco (10%).

Foram utilizados 11 recipientes de plástico, sendo estes embalados com papel alumínio para isolar o teste da luz. Cada recipiente foi dividido em duas seções, usando uma divisória removível. Em cada uma das seções foi colocado 300g do SAT, sendo que em uma parte foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção de água com água filtrada (sendo chamada de solo controle) e a outra seção foi ajustada com as amostras de água do Rio Marrecas (chamado de solo teste).

No controle positivo o solo teste continha uma solução de ácido bórico (H_3BO_3) ($750\text{mg H}_3\text{BO}_3 \text{ Kg}^{-1}$ de solo). E o teste de controle dual foi realizado com o solo controle sendo disposto nas duas seções do recipiente. Esse processo objetiva verificar o atendimento a um dos critérios de validação do ensaio: a distribuição homogênea dos organismos nos recipientes-teste, na ausência de contaminantes. Também se analisou o



número de minhocas mortas durante o tempo do ensaio, pois o teste apenas é validado se esse número for menor que 10% em cada recipiente.

Após colocar o solo foi retirado a divisória e colocado 10 minhocas entre as duas seções, depois fechado com uma tampa com pequenos furos possibilitando a entrada de oxigênio. O experimento ficou 48 horas em repouso e, após esse tempo, os potes foram abertos e a divisória foi reposta e foi feita a contagem das minhocas em cada lado do teste. Para as análises dos testes, foi realizado o cálculo do percentual de fuga, que está apresentado na equação (1) (NIEMEYER, 2019).

$$x = \left(\frac{n_c - n_t}{N} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo:

x = percentual de fuga

n_c: Numero de minhocas que estavam no controle

n_t: Numero de minhocas que estavam no teste

N: Número total de minhocas

Quando o percentual de fuga for maior de 60% o solo é considerado tóxico. Caso o teste de fuga dê um valor negativo, é considerado 0%.

2.3 Análise Estatística

Para verificar a significância da resposta de fuga foi utilizado o teste estatístico de Fisher unicaudal, utilizando os dados da média mais ou menos o desvio padrão do número de organismos encontrados em cada seção do recipiente de cada tratamento e do controle dual.

Além disso, também foi analisado o grau de correlação entre a taxa de fuga e alguns parâmetros físico-químicos das amostras de água, com o auxílio do Programa *Action Stat*.

3 RESULTADOS

O resultado da distribuição dos organismos *E. fetida* nos diferentes grupos controle e tratado estão representados na Figura 3. Os dados do controle negativo mostram que as minhocas se distribuíram de forma satisfatória, pois, de acordo com ISO 17512-1 (NBR ISO 17512-1, 2011), no controle negativo a taxa de distribuição de minhocas deve estar dentro da faixa 40 a 60%.

A Figura 4 apresenta a taxa de fuga de cada um dos pontos de coletas de água do Rio Marrecas e mostra que os pontos 3, 6, 7 e 9 resultaram em taxas superiores a 60%, sendo considerados tóxicos. Mesmo indiciando toxicidade nestes pontos, segundo o teste de Fisher unicaudal, não houve significância nestes valores.

O P3 foi o que apresentou maior taxa de fuga (80%), o que pode ser explicado devido as condições em que o Rio se encontrava neste ponto de coleta nesta estação do ano. Em especial, de acordo com Santos et al. (SANTOS, 2021), o Ponto 3 do Rio Marrecas possui grande contribuição de lavouras e pastagens (P3: 55,52% lavouras e 5,41% pastagem), o que pode ter gerado muito resíduo de agrotóxico no Rio e o efeito tóxico aqui apresentado. De acordo com as análises físico-químicas e microbiológicas dessas amostras de água (Tabela 1) (dados gentilmente cedidos pelas Prof^{as}. Dr^{as}. Gisele Arruda e Prof^{as}. Dr^{as}. Franciele Ani Caovilla Folador, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná), este ponto de coleta destacou-se por possuir elevado teor de coliformes fecais. Entretanto, nenhum dos parâmetros analisados apresentou correlação estatística com a taxa de fuga (pH: p valor=0,78, r²=0,011; turbidez: p valor=0,90, r²=0,002; condutividade: p valor=0,78, r²=0,011; coliformes totais: p valor=0,45, r²=0,082; coliformes fecais: p valor=0,57, r²=0,047; *E. coli*: p valor=0,36, r²=0,118).

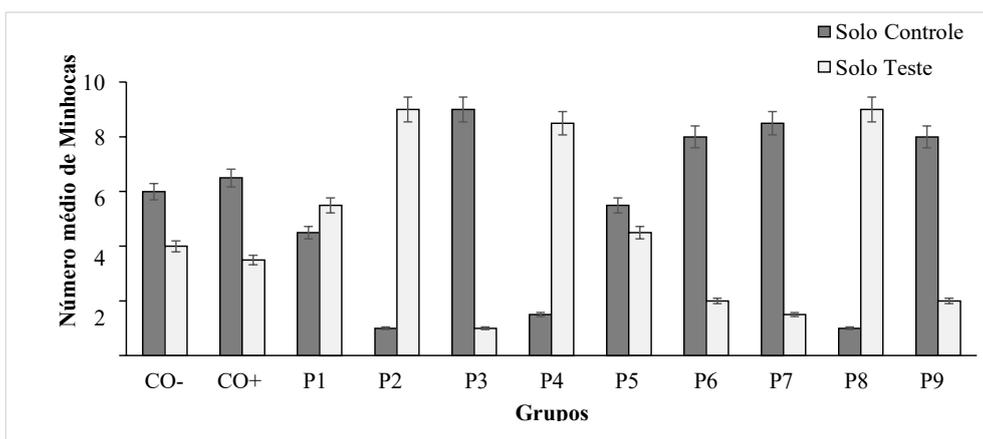


Figura 3 - Distribuição dos organismos no grupo controle negativo (CO-) e positivo (CO+) e nas amostras de água dos nove pontos do Rio Marrecas.
Fonte: Autoria Própria.

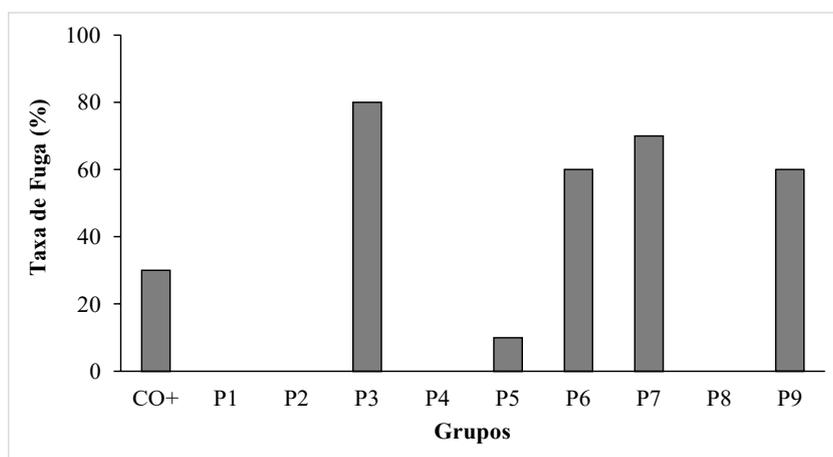


Figura 4 - Taxa de fuga dos organismos *Eisenia fetida* expostos ao controle positivo e as amostras de água do Rio Marrecas.
Fonte: Autoria Própria.

Os pontos 6, 7 e 9 ainda possuem grande contribuição de lavouras e pastagens, mas também de área urbana (SANTOS, 2021). Em especial, entre o Ponto 6 e 7 do Rio Marrecas ocorre elevada descarga de efluentes urbanos, industriais e domésticos, pois é a região onde se encontram a Estação de Tratamento de Esgoto do Município de Francisco Beltrão (ETE), o cemitério municipal e o deságue das águas do Rio Urutago e do Rio Lonqueador, eventos que podem ter contribuído para a poluição destas águas e o efeito tóxico apresentado para *E. fetida*.

Santos et al. (2021), avaliando os micronúcleos e as alterações nucleares, pelo teste do micronúcleo com girinos de *Lithobates catesbeianus* expostos às mesmas amostras dos nove pontos de coleta de água do Rio Marrecas também confirmaram a citotoxicidade e mutagenicidade das águas do Ponto 6. Vale destacar que para os pontos P1, P2, P4 e P8, as minhocas escolheram o solo teste, por isso, a taxa de fuga foi igual a 0%.

4 CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo indicam toxicidade para as amostras de água dos pontos 3, 6, 7 e 9 do Rio Marrecas, para o bioindicador animal *E. fetida*. Possivelmente estes resultados devem-se às atividades/poluções nesta região da bacia hidrográfica, como uso de agrotóxicos. Entretanto, não houve



correlação estatística entre os parâmetros físico-químico e microbiológicos avaliados com a taxa de fuga.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal do Paraná por proporcionar a realização deste projeto, ao professor Eduardo Michel Vieira Gomes e a professora Elisangela Dusman por conceder a oportunidade de realizar esta iniciação científica, agradeço também a Patrícia pelo auxílio durante a realização do experimento e aos demais colegas da iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NOMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 15537**: ecotoxicologia terrestre. Ecotoxicologia aguda. Método de ensaio para minhocas. ABNT, 2007.
- APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd ed. Washington: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 2012.
- AZEVEDO, A. R.; CORONAS, M. V. **Uso de testes de fuga com minhocas *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* para identificação da toxicidade de agrotóxicos no Brasil: uma breve revisão da literatura**. Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM, Cachoeira do Sul, v. 40, p. 18-26, 2018.
- FIEIRA, C, et al. Treatment of effluent containing thiamethoxam and efficiency evaluation of toxicity reduction. **Environmental Technology**, [s. l.], 30 dez. 2019.
- GAEDKE, P. S.; LOHMANN, M; GALVÃO, R. P. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA BACIA DO RIO MARRECCAS – PR. **Geografia, Física e Mudanças Globais**, [s. l.], 15 jun. 2019.
- LIONETTO, M.G.; CALISI, A.; SCHETTINO, T. Earthworms biomarkers as tools for soil pollution assessment, **Soil Health and Land Use Management**, Itália, v.16, p.305-331, 2012X
- LUZ, C.E. **Tendências granulométricas dos sedimentos de fundo no Rio Marrecas, região Sudoeste do Paraná**. Dissertação (Pós-Graduação em Geografia), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Francisco Beltrão-PR, 2011. 78p
- NORMA BRASILEIRA REGULAMENTADORA. **NBR ISO 17512-1**: Qualidade do Solo - Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento - Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro, 2011
- NIEMEYER, J. C., et al. Ecotoxicologia terrestre: Métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. **Ensaio de comportamento de fuga**, 2019.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. **Earthworm, Acute Toxicity Tests**. OECD 207 – **Earthworm, acute toxicity tests** (Guideline for testing of chemicals, 207). Paris, 1984.
- SANTOS, F. I., et al. Citotoxicidade e mutagenicidade das águas do rio Marrecas (Paraná, Brasil) para rã-touro (*Lithobates catesbeianus*). Janeiro, 2021
- SILVEIRA, Mariana Pinheiro. **Aplicação do Biomonitoramento para Avaliação da Qualidade da Água em Rios**. Embrapa. Março, 2004
- SIVAKUMAR, S. (2015). **Effects of metals on earthworm life cycles: a review**. Environmental and Monitoring Assessment, 187(530), 4742