

## **IV-071 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO RIO ANHANDUÍ FRENTE À ARTEMIA SALINA**

**Jamille dos Reis Amorim<sup>(1)</sup>**

Acadêmica de Engenharia Ambiental e Sanitária, Faculdade Estácio de Sá de Campo Grande – FESCG.

**Priscila Sabioni Cavalheri<sup>(2)</sup>**

Mestre e Docente da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) - Campo Grande/MS.

**Rodrigo Soares Garcia da Silva<sup>(3)</sup>**

Doutor em Hidráulica e Saneamento, Faculdade Estácio de Sá de Campo Grande - FESCG

**Sandro Gomes Rodrigues<sup>(4)</sup>**

Doutor e Mestre em Transportes pela Universidade de Brasília (PPGT/UNB). Docente da Faculdade Estácio de Sá de Campo Grande/MS.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua General Syzeno Sarmento, 211 – Bairro Parati – Campo Grande - MS - CEP: 79081-590 - Brasil - Tel: (67) 9 9195-6459 - e-mail: [jamilloreisamorim@gmail.com](mailto:jamilloreisamorim@gmail.com)

### **RESUMO**

O lançamento nas águas superficiais de esgoto sem qualquer tipo de tratamento ou tratamento parcial consiste em uma das maiores fontes de contaminação do meio ambiente aquático natural. No sistema de esgoto são lançados tanto rejeitos domésticos quanto os de origem industrial, sendo a maioria deles tóxicos ao meio aquático. Os testes de toxicidade têm sido utilizados para reduzir os efeitos causados pelo lançamento de efluentes em corpos hídricos. O efeito de poluentes não são avaliados pelas variáveis abióticas em corpos hídricos, por isso a utilização de ensaios toxicológicos. Este estudo tem como objetivo avaliar o grau de toxicidade aguda em relação à mortalidade da *Artemia salina* na montante e na jusante da Estação de Tratamento de Esgoto Los Angeles, por meio de testes toxicológicos. A *Artemia salina* é reconhecida internacionalmente por ser um organismo-teste, sendo indicada para testes toxicológicos, devido sua alta sensibilidade, fácil manutenção, rápida eclosão dos ovos, procedimentos simples e baixo custo.

**PALAVRAS-CHAVE:** ETE Los Angeles, toxicidade e *Artemia salina*.

### **INTRODUÇÃO**

A água é um recurso finito fundamental para a manutenção da vida no planeta e para as diferentes atividades humanas. Além da disponibilidade em quantidade suficiente, precisa atender a requisitos de qualidade em termos de parâmetros físicos, químicos e biológicos necessários aos múltiplos usos como o abastecimento público, dessedentação de animais, irrigação, produção industrial, proteção de comunidades aquáticas, entre outros (CONAMA, 2005).

Uma infinidade de toxinas é encontrada nos suprimentos de água, podendo causar diversos efeitos à saúde e ao meio ambiente, evidenciando a necessidade de dar um tratamento diferenciado às bacias consideradas como mananciais de abastecimento, priorizando a qualidade da água bruta a ser coletada para este uso (ANDREOLI *et al.*, 1999).

A integração de análises químicas, físicas e ecotoxicológicas permite uma caracterização bastante eficiente e adequada do lançamento de efluente no corpo hídrico (BERTOLETTI, 1992; CONSTAN *et al.*, 1993). As análises químicas servem para identificar e quantificar as substâncias, e as análises ecotoxicológicas para qualificar os efeitos causados pela substância (KNIE e LOPES, 2004).

Os ensaios de toxicidade constituem uma forma de biomonitoração ativa, pois utilizam-se organismos-teste, definidos como indivíduos padronizados e cultivados em laboratório, que podem fornecer informações sobre as condições de um ecossistema frente à presença de impacto ambiental (RAYA-RODRIGUES, 2000).

O uso da *Artemia salina* como bioindicador expandiu-se a partir de estudos realizados em 1957. Estes organismos são amplamente utilizados em ensaios de ecotoxicidade devido à facilidade de manuseio em laboratório, e também por serem organismos que suportam grandes variações sazonais no ambiente a que estão submetidos (VITORINO, 2015).

O controle da poluição ambiental causado pelo despejo de efluentes vem sendo realizado através da utilização de análises ecotoxicológicas e, inclusive, fora regulamentada através da Resolução 357/2005 do CONAMA (PIMENTEL, et al., 2010)

Ante ao exposto, o presente estudo é de suma importância na conservação dos ambientes aquáticos que recebem lançamento de efluentes domésticos. Sua significância se dá pela avaliação do impacto causado por este lançamento e a busca por alternativas para o melhoramento da qualidade dos corpos hídricos, garantindo assim a preservação deste recurso.

## OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo avaliar a toxicidade aguda do rio Anhanduí, à montante e jusante da estação de tratamento de esgoto Los Angeles do município de Campo Grande – MS, por meio do organismo bioindicador *Artemia salina*.

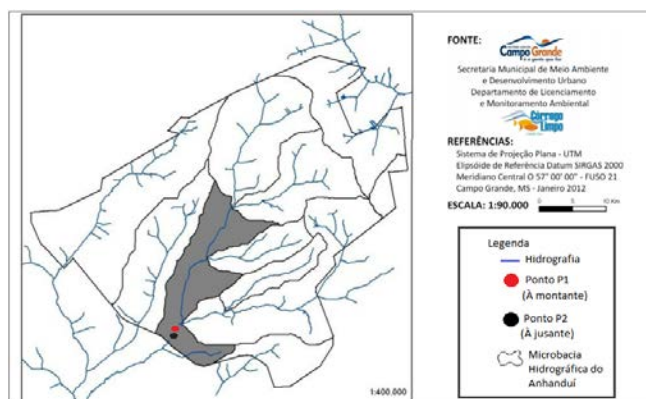
## METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada em três etapas fundamentais, sendo elas: Delimitação da área de estudo; Teste de toxicidade com *Artemia salina*; e Análises físico-químicas.

### -Etapa 1 - Área de estudo

O rio Anhanduí foi escolhido para a pesquisa devido à importância que possui para o município de Campo Grande-MS. O rio Anhanduí é tributário do rio Pardo, que por sua vez é afluente do rio Paraná. É através deste rio que é drenada a maioria das bacias hidrográficas do perímetro urbano do município. Além disso, este rio recebe os efluentes da maior estação de tratamento de efluentes da cidade, cuja capacidade de tratamento é de 900 L.s<sup>-1</sup>.

Foram definidos dois pontos de amostragem no rio Anhanduí para avaliação ecotoxicológica. Os pontos de coleta foram denominados P1 e P2 (Figura 1), sendo as coordenadas P1 (N 7725688,6; 0743937,5 com Altitude: 490,17) e P2 (N 7725242,0; 0743626,2 com Altitude: 479,00 m) respectivamente à montante e à jusante da ETE Los Angeles.



**Figura 1- Localização da microbacia hidrológica do Anhanduí e pontos de monitoramento.**

**Fonte: SEMADUR, 2010 (modificado pelo autor).**

### -Etapa 2 - Teste de toxicidade com *Artemia salina*

A *Artemia salina*, mostrada na Figura 2, é um bioindicador da classe Crustácea, ordem Anostraca e família Artemiidae. Trata-se de um microcrustáceo zooplancônico que vive nas águas salgadas de praticamente todos os ambientes marinhos da Terra (GRINEVICIUS, 2006).



**Figura 2 - Microcrustáceo *Artemia* sp.**  
**Fonte: Kribensis, 2008.**

O ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* foi realizada através da adaptação da metodologia de Meyer *et al.* (1982). Este ensaio consiste da preparação de uma solução com sal marinho na concentração de 30 g.L<sup>-1</sup>. O pH deve ser ajustado, de forma a resultar valores entre 8,0 e 9,0. Esta solução é utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no preparo das demais diluições. Os ovos são colocados para eclodir na solução salina por 48 horas, com aeração constante, temperatura controlada em 25 °C e mantidos sob iluminação artificial, como pode ser observado na Figura 3.

Em relação às soluções, estas passam por homogeneização e, para o volume final, são adicionados 5mL de solução salina obtidas a partir de sal marinho nas concentrações de 1, 10 e 50 mg.L<sup>-1</sup>.



**Figura 3 - Teste toxicológico, ovos de *Artemia salina* sendo colocados para eclosão.**

Posteriormente, cerca de 10 larvas de *Artemia salina* são transferidas com micropipeta para tubos de ensaio contendo a solução salina e amostras a serem testadas, nas seguintes concentrações de Dicromato de Potássio: 50 mg L<sup>-1</sup>, 10mg L<sup>-1</sup>, 1mg L<sup>-1</sup> (da esquerda para direita, Figura 4).



**Figura 4 - Concentrações de Dicromato de Potássio.**

A correlação entre mortalidade porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas em relação à concentração de Dicromato de Potássio (controle positivo) é utilizada para ajuste de uma equação linear simples utilizada para estimar a concentração de Dicromato de Potássio responsável por matar 50% das *Artemias*, valor

representativo da DL50. Utilizou-se método gráfico de análise para obtenção da DL50 (dose letal do Dicromato para 50% da população). O teste foi realizado também com solução salina (controle negativo). Para obtenção dos valores de DL50 foi utilizado o programa *Microsoft Excel*®.

### -Etapa 3 - Análises físico-químicas

Anteriormente aos ensaios toxicológicos e após o final do mesmo foram realizadas leituras médias dos valores de pH e temperatura do ambiente da amostra de cada diluição no teste da *Artemia salina*. Os resultados que seguem nas tabelas 1 e 2 e nas figuras 5 e 6 fazem referência a mortalidade das *Artemias salina* com relação ao controle positivo (Dicromato de Potássio), na montante e na jusante da ETE Los Angeles no rio Anhanduí.

## RESULTADOS OBTIDOS

As temperaturas das soluções de eclosão dos cistos de *Artemia salina* permaneceram na faixa de 25°C a 30°C. Por ter ocorrido um aumento da temperatura ambiente e da amostra na 1ª campanha, as larvas da *Artemia salina* eclodiram com 24 hora. Já na 2ª campanha eclodiram com o tempo padrão, 48 horas. Em relação ao segundo parâmetro, o pH, este permaneceu na faixa de 8,0 e 9,0.

No ensaio com a solução de Dicromato de Potássio (controle positivo) é notória, em algumas concentrações, a sensibilidade da *Artemia salina* frente à solução tóxica. Na tabela 2 é mostrado o percentual da mortalidade da mesma dos dois pontos.

**Tabela 1 - Análises físico-químicas.**

1º Campanha (12/09/2018)			2º Campanha (26/09/2018)	
Parâmetros	Ponto P1*	Ponto P2*	Ponto P1*	Ponto P2*
Temperatura ambiente(°C)	29,5	29,5	24,0	24,0
Temperatura da amostra (°C)	26,0	26,0	25,0	25,0
pH	8,12	8,12	8,00	8,00

(\*P1 = ponto à montante da ETE Los Angeles e P2 = ponto à jusante da ETE Los Angeles).

Fonte: Elaborada pelo autor.

**Tabela 2 - Mortalidade da *Artemia salina* frente ao Dicromato de Potássio (controle positivo).**

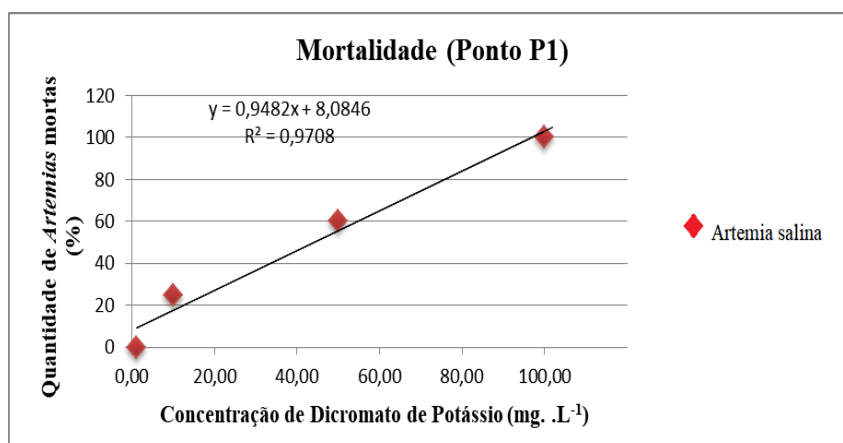
Ponto P1 (à montante da ETE)		Ponto P2 (à jusante da ETE)	
Concentração do controle positivo (mg.L <sup>-1</sup> )	Mortalidade de <i>Artemia salina</i> (%)	Concentração do controle positivo (mg.L <sup>-1</sup> )	Mortalidade de <i>Artemia salina</i> (%)
100	100	100	100
50	60	50	0
10	25	10	0
1	0	1	0

Fonte: Elaborada pelo autor.

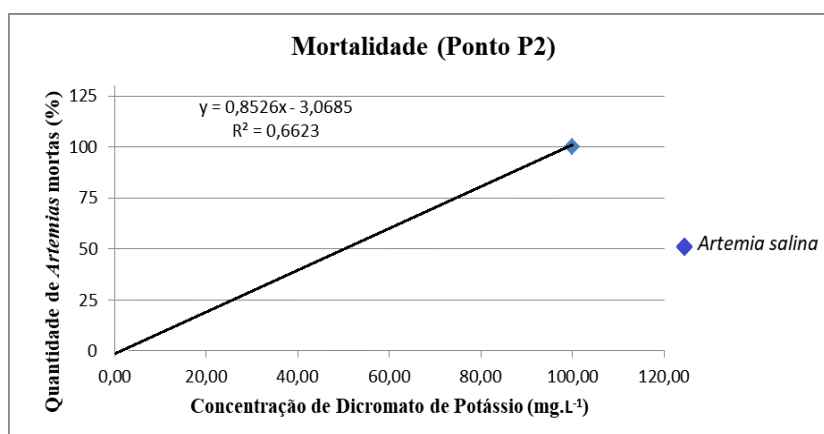
## ANÁLISE DE RESULTADOS

Zucker (1985) classifica o potencial de toxicidade aguda para peixes e invertebrados aquáticos em: extremamente tóxico ( $CL_{50} < 0,1$ ); altamente tóxico ( $0,1 < CL_{50} < 1$ ); moderadamente tóxico ( $1 < CL_{50} < 10$ ); ligeiramente tóxico ( $10 < CL_{50} < 100$ ); e praticamente não tóxico ( $CL_{50} > 100$ ). Portanto, os testes realizados neste trabalho mostraram que para o organismo *Artemia salina* seria ligeiramente tóxico (no ponto a jusante do lançamento do efluente da estação de tratamento de esgoto) de acordo com o coeficiente de linearidade.

Analisa-se a partir das Figuras 5 e 6, que a correlação das concentrações de Dicromato de Potássio com a mortalidade do organismo *Artemia salina* apresenta uma certa linearidade (coeficiente de linearidade de 97,08% e 66,23%, respectivamente para P1 e P2). Portanto, é possível utilizar o Dicromato de Potássio como controle positivo e a *Artemia salina* em ensaios de toxicidade de água doce. Já com o controle negativo (solução salina) não houve morte de nenhum indivíduo.



**Figura 5 - Correlação de Dicromato de Potássio com a mortalidade de *Artemia salina*.**



**Figura 6 - Correlação de Dicromato de Potássio com a mortalidade de *Artemia salina*.**

Salienta-se que o organismo-teste *Artemia salina* pode ser utilizado em testes toxicológicos de água doce, mesmo sendo um indivíduo proveniente de água salgada, pois apresentou um alto valor de correlação no número de mortalidade (97,08% e 66,23%) quando comparado a concentração de Dicromato de Potássio, desde que haja correção da salinidade, pH e temperatura da amostra a ser analisada para não afetar a sobrevivência deste organismo e preservação do ambiente aquático.

## CONCLUSÕES

Localizado no município de Campo Grande – MS, o rio Anhanduí é tributário do rio Pardo, que por sua vez é afluente do rio Paraná, apresenta toxicidade aguda para o microcrustáceo *Artemia salina*, ainda antes do lançamento dos efluentes da Estação de Tratamento de Efluentes, quando analisado o controle positivo com dicromato de potássio.

Observou-se que no ponto P1, as concentrações de 100 e 50 mg.L<sup>-1</sup>, ou seja, 100% e 50% da amostra do rio diluída, são levemente tóxicas, matando mais de 50% dos indivíduos, obtendo assim a CL<sub>50</sub>. Já no ponto P2 obteve o CL<sub>50</sub> apenas na concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup>, ou seja na diluição de 100% da amostra do rio, caracterizando assim baixa toxicidade no segundo ponto. Isto se deve ao fato que a jusante as águas do rio são diluídas com o efluente da ETE que possui tratamento eficiente comprovado pelos ensaios de monitoramento locais.

Portanto o organismo-teste *Artemia salina* pode ser utilizado em testes toxicológicos de água doce, mesmo sendo um indivíduo proveniente de água salgada, pois apresentou um alto valor de correlação no número de mortalidade (coeficiente de linearidade de 97,08% e 66,23%, sendo respectivamente P1 e P2). quando comparado a concentração de Dicromato de Potássio, desde que haja correção da salinidade, pH e temperatura da amostra a ser analisada para não afetar a sobrevivência deste organismo e preservação do ambiente aquático.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREOLI, C.V., 1999. Teste de toxicidade com *Artemia salina*. Rio de Janeiro: RiMa, 287 p.
2. BERTOLETTI, E.; NIPPER, M. G.; MAGALHÃES, N. P. A precisão de testes de toxicidade com *Daphnia*. *Ambiente*, v. 6, n. 1, p. 55-59, 1992.
3. BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Brasília – DF: Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, 2005.
4. BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº430, de 13 de maio de 2011. Brasília – DF: Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, 2011.
5. COTELLE, S.; FERARD, J.F. Cometassay in genetic ecotoxicology: a review. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 34 p.246-255. 1999
6. CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005, Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Seção 1, p.58-63. Available from: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>
7. CONSTAN, G.; BERMINGHAM, N.; BLAISE, G.; FERARD, J.F. Potencial ecotoxic effects probe (PEEP): a novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. *Environmental Toxicology and Water Quality: an International Journal*, v. 8, p. 115-140, 1993.
8. FREITAS, A. M. Utilização de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas por toxinas produzidas por cianobactérias. Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, 132p. 2008.
9. GUERRA, R., 2001, Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. *Chemosphere*, 44:1737-1747. doi:10.1016/S0045-6535(00)00562-2.
10. GRINEVICIUS, V. M. A. de S. Avaliação da remediação de efluentes de uma indústria têxtil utilizando bioindicadores e biomarcadores. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 179p. 2006.
11. HOOD, D. W.; DUKE, T. W.; STEVENSON, B. Measurement of toxicity of organic wastes to marine organism. *Journal Water Pollution Control Federation*, v. 32, p.982, 1960.
12. JAMES, R. C.; ROBERTS, S. M.; WILLIAMS, P. L. Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications. 2nd ed., 496p. John Wiley & Sons: New York, 2000.
13. KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA, 2004. 288 p.
14. KRIBENSIS. Foto de *Artemia* sp. Disponível em <<http://www.kribensis.kit.net/conteudo/artemia.jpg>> Acesso em: 20 out. 2008
15. MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*, v. 45, p. 35–36, 1982
16. PIMENTEL, M. F. et al. O Uso de *Artemia* sp. como Organismo-Teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias do Beneficiamento da Castanha de Caju Antes e Após Tratamento em Reator Biológico Experimental, 2010
17. RAYA-RODRIGUEZ, M. T., 2000. O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar em Porto Alegre. In: M. L. L. ZURITA & TOLFO, A.M. (Org.) A Qualidade do Ar em Porto Alegre. Secretaria Municipal do Meio Ambiente, Porto Alegre.
18. Os testes de toxicidade podem ser agudos ou crônicos, dependendo da duração e dos efeitos avaliados. O efeito agudo manifesta-se de maneira rápida e severa nos organismos aquáticos que foram submetidos a um estímulo com intervalo de tempo de 0 a 96 horas (RAND e PETROCELLI, 1985).
19. SEMADUR, 2010. Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Desenvolvimento Urbano. Qualidade das águas superficiais de Campo Grande, relatório 2010.
20. VITORINO, H. A. Compostos de ferro de interesse farmacológico: avaliação da estabilidade, toxicidade em organismos aquáticos, transporte em células e capacidade de gerar reservatórios de ferro lábil. São Paulo, 2015. Tese de Doutorado – Instituto de Química - Universidade de São Paulo, 2015.
21. ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division, Standard Evaluation Procedure: Acute Toxicity Test for Freshwater Fish. EPA-540/9/85-006. U.S. Washington D.C.: Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, 1985