

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
AMBIENTAL: ANÁLISE E TECNOLOGIA AMBIENTAL

PATRICIA ALINE BRESSIANI

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E
ECOTOXICOLÓGICOS DAS ÁGUAS DO RIO MARRECAS E
SEUS AFLUENTES EM DIFERENTES VAZÕES**

FRANCISCO BELTRÃO/PR

2024

PATRICIA ALINE BRESSIANI

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E
ECOTOXICOLÓGICOS DAS ÁGUAS DO RIO MARRECA E
SEUS AFLUENTES EM DIFERENTES VAZÕES**

**EVALUATION OF THE PHYSICAL-CHEMICAL AND
ECOTOXICOLOGICAL PARAMETERS OF THE WATERS OF THE
MARRECA RIVER AND ITS AFFLUENTS AT DIFFERENT FLOWS**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental como requisito parcial à qualificação do curso de mestrado.

Linha de Pesquisa: Tecnologia Ambiental

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisângela Düsman

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula De Oliveira Schmitz

Francisco Beltrão/PR

2024



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



PATRICIA ALINE BRESSIANI

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ECOTOXICOLÓGICOS DAS ÁGUAS DO RIO
MARRECAS E SEUS AFLUENTES EM DIFERENTES VAZÕES**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Engenharia Ambiental: Análise E Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Meio Ambiente.

Data de aprovação: 29 de Fevereiro de 2024

Dra. Elisangela Dusman, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Alessandra Paim Berti, Doutorado - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Uems)

Dra. Ticiane Sauer Pokrywiecki, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 29/02/2024.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar agradecendo a Deus, por toda a força e coragem que Ele me forneceu e me ajudou a não desistir nos momentos mais difíceis. A fé e as orações sempre me auxiliaram para manter concentração e disciplina necessária.

Quero agradecer a minha família. Meus pais Nilza e Gilberto, por me ensinaram a ser uma mulher com responsabilidade, respeito e valores que levarei por toda minha vida. A meus irmãos, Vagner e Jean, agradeço pelos conselhos, conversas e sempre me motivando a ser uma pessoa melhor. A minha cunhada, Luciane, pelos conselhos e conversas. A minha madrinha, Michele, que sempre acreditou em mim. Ao meu namorado Kristian, que sempre me motivou e acreditou em mim. Gratidão a todos.

Especialmente, quero agradecer a minha grande amiga Ana Flávia e meu grande amigo Israel, que sempre me ajudaram nos momentos mais difíceis e complicados. Quero agradecer aos meus colegas e amigos da pós-graduação, Anna Karolina, Cassiano, Emanuel, Gisele, Mariah, Marina e Thaís. Gratidão por toda a ajuda, conversas e conselhos.

Não posso deixar de agradecer, principalmente, a minha orientadora Elisângela, que nunca mediu esforços em me ajudar, sempre me incentivou, apoiou e teve toda paciência para me ajudar a realizar este trabalho. Gratidão também por todo auxílio e não ter poupado seu tempo para me orientar nas horas que eu mais precisei. Também a minha coorientadora, Ana Paula, por todo apoio e por aceitar a causa deste projeto e me fornecer todos os conhecimentos de engenharia necessários.

Quero agradecer as professoras, Ticiane e Alessandra, por ter aceitado o convite para participar da minha banca e pelos conhecimentos compartilhados. E também, aos técnicos dos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – FB, que ajudaram de alguma forma para realização deste trabalho, em especial, o João Paulo. Agradecer também a CAPES e a Fundação Araucária, via NAPI SUDOESTE, pela bolsa de mestrado concedida ao longo do desenvolvimento do trabalho. Também a Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), pela parceria na execução do projeto.

RESUMO

A qualidade da água é um dos maiores desafios mundiais, entretanto, um grande volume de resíduos das atividades industriais e urbanas ainda são descartados, sem tratamento, em corpos d'água. Além disso, muitos rios sofrem com as mudanças nas condições de descarga, devido aos eventos de elevação ou baixa vazão de suas águas. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade das águas do Rio Marrecas e seus afluentes, em alta e baixa vazão, e da água tratada pela Estação de Tratamento de Água (ETA) de Francisco Beltrão-Paraná, realizando análises físico-químicas e ensaios ecotoxicológicos. As coletas foram realizadas em cinco pontos do Rio Marrecas (Pontos 1, 2, 3, 6 e 7), um ponto na foz do Rio Lonqueador (Ponto 4), um na foz do Rio Urutago (Ponto 5), rios que desembocam no Rio Marrecas e um ponto de uma residência abastecida pela ETA (Ponto 8). Essas amostras foram coletadas na alta vazão ($314 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) e baixa vazão ($5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) do Rio Marrecas. As análises físico-químicas das amostras coletadas em alta vazão do presente estudo, apresentaram valores elevados para turbidez (P1, P2, P3, P6, P7 e P8), sólidos totais dissolvidos (P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7), agroquímico 2,4D (P3, P4, P5, P6, P7 e P8), com valores acima do permitido pela legislação brasileira e valores elevados para os hormônios estrogênicos estrona (E1) (P5), 17β -estradiol (E2) (P1, P2, P3, P4 e P5), 17α -etinilestradiol (EE2) (P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7) e estriol (E3) (P3, P5 e P7). As amostras não afetaram a mobilidade/mortalidade do bioindicador *Artemia salina* e nem apresentaram efeito citotóxico ou mutagênico para as células meristemáticas de *Allium cepa*. Já para a *Eisenia fetida* o P4 apresentou efeito tóxico pelo teste de fuga, para *Lithobates catesbeianus* os pontos 5, 6 e 8 apresentaram efeito mutagênico e o P1 apresentou efeito citotóxico, pelo teste do micronúcleo com o sangue periférico destes girinos. Para a cultura de células de fígado humano (Huh7.5) os pontos 3, 5 e 8 alteram as divisões celulares pelo teste do MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-il) -2,5-diphenil tetrazolium bromide). Com relação a coleta das amostras em baixa vazão, as análises físico-químicas mostraram que apenas o P7 continuou apresentando valores de turbidez e sólidos totais dissolvidos acima dos valores exigidos pela legislação. Os valores dos hormônios estrogênicos continuaram sendo elevados para E1 (todos os pontos), E2 (todos os pontos), EE2 (P1, P2, P3, P5, P6, P7 e P8) e E3 (P6 e P8). Foi possível detectar alumínio dissolvido (P7), alumínio total (P8), ferro dissolvido (P7), fósforo total (P4, P6 e P7) e manganês total (P4, P5 e P7) com valores acima dos permitidos pela legislação brasileira. Os ensaios ecotoxicológicos apresentaram toxicidade para a *A. salina* (P4), *E. fetida* (P4), efeito mutagênico para *L. catesbeianus* (P5 e P7), mutagenicidade para *A. cepa* (P4) e alterações nas divisões celulares das células Huh7.5 (todos os pontos). Dessa forma, é possível observar que as águas avaliadas estão alteradas em termos físico-químicos e ecotoxicológicos e que a vazão dos Rios afeta estes parâmetros, alertando sobre a necessidade de monitoramento constante e medidas de proteção destas águas.

Palavras-chaves: eventos extremos; agroquímico 2,4D; hormônios estrogênicos; ecotoxicidade; bioindicadores.

ABSTRACT

Water quality is one of the biggest global challenges, however, a large volume of waste from industrial and urban activities is still discarded, without treatment, in bodies of water. Furthermore, many rivers suffer from changes in discharge conditions, due to high or low water flow events. Therefore, the objective of the work was to evaluate the quality of the waters of the Marrecas River and its tributaries, at high and low flows, and of the water treated by the Water Treatment Station (ETA) of Francisco Beltrão-Paraná, carrying out physical-chemical and ecotoxicological tests. Collections were carried out at five points on the Marrecas River (Points 1, 2, 3, 6 and 7), at the mouth of the Lonqueador River (Point 4), at the mouth of the Urutago River (Point 5) and at a residence supplied by ETA (Point 5). Point 8), in the high flow ($314 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) and low flow ($5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) of the Marrecas River. The physicochemical analyzes of the samples collected at high flow rates in the present study showed high values for turbidity (P1, P2, P3, P6, P7 and P8), total dissolved solids (P1, P2, P3, P4, P5, P6 and P7), agrochemical 2,4D (P3, P4, P5, P6, P7 and P8), with values above those permitted by Brazilian legislation and high values for the estrogen hormones estrone (E1) (P5), 17β -estradiol (E2) (P1, P2, P3, P4 and P5), 17α -ethinylestradiol (EE2) (P1, P2, P3, P4, P5, P6 and P7) and estriol (E3) (P3, P5 and P7). The samples did not affect the mobility/mortality of the bioindicator *Artemia salina* nor did they present a cytotoxic or mutagenic effect on the meristematic cells of *Allium cepa*. For *Eisenia fetida*, P4 showed a toxic effect through the escape test, for *Lithobates catesbeianus*, points 5, 6 and 8 showed a mutagenic effect and P1 showed a cytotoxic effect, through the micronucleus test with the peripheral blood of these tadpoles. For the culture of human liver cells (Huh7.5) points 3, 5 and 8 alter cell divisions by the MTT test (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide). Regarding sample collection at low flow rates, physical-chemical analyzes showed that only P7 continued to present turbidity and total dissolved solids values above the values required by legislation. The values of estrogen hormones continued to be high for E1 (all points), E2 (all points), EE2 (P1, P2, P3, P5, P6, P7 and P8) and E3 (P6 and P8). It was possible to detect dissolved aluminum (P7), total aluminum (P8), dissolved iron (P7), total phosphorus (P4, P6 and P7) and total manganese (P4, P5 and P7) with values above those permitted by Brazilian legislation. Ecotoxicological tests showed toxicity for *A. salina* (P4), *E. fetida* (P4), mutagenic effect for *L. catesbeianus* (P5 and P7), mutagenicity for *A. cepa* (P4) and changes in cell divisions of Huh7.5 cells (all points). In this way, it is possible to observe that the waters evaluated are altered in physical-chemical and ecotoxicological terms and that the flow of rivers affects these parameters, warning about the need for constant monitoring and protection measures for these waters.

Keywords: extreme events; agrochemical 2,4; estrogen hormones; ecotoxicity; bioindicators.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Agroquímicos por número de análises em que foram identificados, no controle de qualidade de Sistema de Abastecimento de Água, na saída do tratamento, no ano de 2019..... | 20 |
| Figura 2 – Pontos de coletas de água do Rio Marrecas, Lonqueador e Urutago no município de Francisco Beltrão-PR com destaque para a localização da Estação de Tratamento de Água (ETA) e Esgoto (ETE) de Francisco Beltrão..... | 27 |
| Figura 3 – Pontos de coletas dos Rio Marrecas, Lonqueador e Urutago em alta e baixa vazão..... | 29 |
| Figura 4 – Número médio de organismos mortos/imóveis pelo ensaio de toxicidade com <i>A. salina</i> das amostras de água coletadas na alta vazão..... | 44 |
| Figura 5 – Análise de componentes principais das amostras de água coletadas na alta vazão..... | 46 |
| Figura 6 – Números médios dos organismos <i>E. fetida</i> distribuídos nos solos controle e teste das amostras de água coletadas na alta vazão..... | 47 |
| Figura 7 – Taxa de fuga dos organismos <i>E. fetida</i> das amostras de água coletadas na alta vazão..... | 47 |
| Figura 8 – Porcentagem média de micronúcleos em <i>L. catesbeianus</i> expostos as amostras de água coletadas na alta vazão..... | 49 |
| Figura 9 – Porcentagem média de alterações nucleares de <i>L. catesbeianus</i> expostos as amostras de água coletadas na alta vazão..... | 51 |
| Figura 10 – Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) da <i>A. cepa</i> exposta as amostras de água coletadas na alta vazão..... | 53 |
| Figura 11 – Percentuais médios dos índices mutagênicos (IMG%) da <i>A. cepa</i> exposta as amostras de água coletadas na alta vazão..... | 54 |
| Figura 12 – Número médio de organismos mortos/imóveis pelo ensaio de toxicidade com <i>A. salina</i> das amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 61 |
| Figura 13 – Análise de componentes principais das amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 63 |
| Figura 14 – Números médios dos organismos <i>E. fetida</i> distribuídos nos solos controle e teste das amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 64 |

| | |
|---|-----------|
| Figura 15 – Taxa de fuga dos organismos <i>E. fetida</i> das amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 64 |
| Figura 16 – Porcentagem média de micronúcleos em <i>L. catesbeianus</i> expostos as amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 65 |
| Figura 17 – Porcentagem média de alterações nucleares de <i>L. catesbeianus</i> expostos as amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 66 |
| Figura 18 – Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) da <i>A. cepa</i> exposta as amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 70 |
| Figura 19 – Percentuais médios dos índices mutagênicos (IMG%) da <i>A. cepa</i> exposta as amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 71 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----------|
| Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas em alta vazão..... | 41 |
| Tabela 2 – Número médios das alterações nucleares observadas nos eritrócitos dos <i>L. catesbeianus</i> expostos às amostras de água coletadas na alta vazão..... | 50 |
| Tabela 3 – Percentual de viabilidade celular (VC) de células Huh7.5 tratadas com as concentrações (1:10, 1:100) das amostras de água coletadas em alta vazão, por 24,48 e 72 horas..... | 52 |
| Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas em baixa vazão..... | 56 |
| Tabela 5 – Metais das amostras de água coletadas em baixa vazão..... | 59 |
| Tabela 6 – Número médios das alterações nucleares observadas nos eritrócitos dos <i>L. catesbeianus</i> expostos às amostras de água coletadas na baixa vazão..... | 67 |
| Tabela 7 – Percentual de viabilidade celular (VC) de células Huh7.5 tratadas com as concentrações (1:10, 1:100) das amostras de água coletadas na baixa vazão, por 24,48 e 72 horas..... | 69 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2 | OBJETIVOS | 4 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL..... | 15 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 15 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 16 |
| 3.1 | POLUIÇÃO DAS ÁGUAS..... | 16 |
| 3.2 | POLUENTES AMBIENTAIS..... | 16 |
| 3.2.1 | Metais..... | 16 |
| 3.2.2 | Agroquímicos..... | 17 |
| 3.2.3 | Hormônios estrogênios..... | 20 |
| 3.3 | EFEITO DOS EVENTOS DE ENCHENTES E ESTIAGEM..... | 22 |
| 3.4 | ECOTOXICIDADE EM BIOINDICADORES..... | 24 |
| 3.4.1 | Legislações Ambientais no Brasil..... | 25 |
| 4 | METODOLOGIA..... | 27 |
| 4.1 | CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO..... | 27 |
| 4.2 | COLETAS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA..... | 28 |
| 4.3 | REGISTRO DO ÍNDICE PLUVIOMÉTRICO..... | 30 |
| 4.4 | ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS..... | 30 |
| 4.4.1 | Determinação de agroquímicos..... | 30 |
| 4.4.2 | Determinação de hormônios estrogênios..... | 31 |
| 4.4.3 | Curva de calibração para determinação do agroquímico 2,4D e dos hormônios estrogênios..... | 32 |
| 4.4.4 | Validação do método analítico..... | 33 |
| 4.5 | TESTES DE ECOTOXICIDADE..... | 34 |
| 4.5.1 | Teste de imobilidade/mortalidade com <i>Artemia salina</i> | 34 |
| 4.5.2 | Teste de fuga com <i>Eisenia fetida</i> | 34 |
| 4.5.3 | Teste de citotoxicidade e mutagenicidade com girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> | 35 |
| 4.5.4 | Teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células humana..... | 37 |
| 4.5.5 | Teste citotoxicidade e mutagenicidade com <i>Allium cepa</i> | 38 |
| 4.6 | ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)..... | 39 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 40 |

| | | |
|------------|-----------------------------------|------------|
| 5.1 | ALTA VAZÃO..... | 40 |
| 5.1.1 | Índice Pluviométrico e Vazão..... | 40 |
| 5.1.2 | Análises Físico-Químicas..... | 40 |
| 5.1.3 | Ensaio Ecotoxicológicos..... | 44 |
| 5.1.3.1 | <i>A. salina</i> | 44 |
| 5.1.3.2 | <i>E. fetida</i> | 45 |
| 5.1.3.3 | <i>L. catesbeianus</i> | 48 |
| 5.1.3.4 | Células Huh7.5..... | 51 |
| 5.1.3.5 | <i>A. cepa</i> | 53 |
| 5.2 | BAIXA VAZÃO..... | 54 |
| 5.2.1 | Índice Pluviométrico e Vazão..... | 54 |
| 5.2.2 | Análises Físico-Químicas..... | 55 |
| 5.2.3 | Ensaio Ecotoxicológicos..... | 61 |
| 5.2.3.1 | <i>A. salina</i> | 61 |
| 5.2.3.2 | <i>E. fetida</i> | 62 |
| 5.2.3.3 | <i>L. catesbeianus</i> | 65 |
| 5.2.3.4 | Células Huh7.5..... | 68 |
| 5.2.3.5 | <i>A. cepa</i> | 69 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 72 |
| | REFERÊNCIAS..... | 73 |
| | APÊNDICE..... | 100 |
| | ANEXO..... | 101 |

1 INTRODUÇÃO

A poluição da água é um problema comum em muitas partes do mundo (Ameen; Mourshed, 2017). A identificação dos principais fatores e fontes de poluição que afetam a qualidade da água dos rios é essencial. Os fatores naturais e as atividades humanas são os principais fatores que afetam a qualidade da água. Os processos naturais podem afetar a qualidade da água através do intemperismo das rochas, a evapotranspiração, as alterações climáticas e os desastres naturais. Já as atividades humanas podem afetar a qualidade da água através da liberação de efluentes industriais, domésticos e agrícolas em corpos d'água sem tratamento adequado (Anh *et al.*, 2023).

Os metais, por exemplo, estão naturalmente presentes na crosta terrestre. Entretanto, devido aos processos naturais e antrópicos eles são predominantes no ar, solo e água (Rahman; Singh, 2019; Vareda *et al.*, 2019). As atividades naturais incluem o intemperismo físico e químico de rochas, erosão e deposição atmosférica, enquanto a descarga de águas residuais industriais, escoamento de terras agrícolas e costeiras, são consideradas atividades antrópicas (Qu *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2019).

Assim, os metais podem estar dissolvidos na água ou fixados em sedimentos criando uma contaminação secundária (Islam *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2017; Nour *et al.*, 2018). Além disso, eles podem ser facilmente lixiviados, se espalhando e se tornando mais biodisponíveis, produzindo diversos efeitos nocivos tanto para o meio ambiente quanto para os seres humanos (Djahed *et al.*, 2018; Vareda *et al.*, 2019).

Além dos metais, os seres humanos estão expostos a misturas de muitos produtos químicos como, por exemplo, os agroquímicos (Tsatsakis *et al.*, 2016). Os agroquímicos podem ser transportados para vários compartimentos da natureza, de modo que são amplamente encontrados em culturas agrícolas, ar, solo e água doce (Ngoc *et al.*, 2015; Fevery *et al.*, 2016; Boff *et al.*, 2018; Houbraken *et al.*, 2017; Deknock *et al.*, 2019; Dibartolomeis *et al.*, 2019; Gentil *et al.*, 2019; Gonçalves *et al.*, 2020; Doan; Dufour *et al.*, 2021; Fantke *et al.*, 2021; Parker; Keller, 2021).

Os agroquímicos são utilizados para proteger as culturas agrícolas de ervas daninhas e danos causados por pragas e, assim, aumentar a produtividade das culturas (Van Der Werf *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2021). Entretanto, após a aplicação, os resíduos de agroquímicos tendem a persistir no solo, sedimentos e água, onde se acumulam (Shah; Parveen *et al.*, 2021). Sendo assim, o uso indiscriminado de agroquímicos é um dos grandes problemas ambientais e de saúde pública (Gyawali, 2018; Schechtman *et al.*,

2020). O aumento do uso de agroquímicos pode ter consequência adversa no desempenho ambiental e socioeconômico dos sistemas agrícolas, pois a contaminação do solo, das culturas e das águas superficiais por lixiviação, pode levar à destruição e perda da biodiversidade vegetal e animal (Ginebreda *et al.*, 2014; Mahmood *et al.*, 2016).

Ainda, como poluentes que podem estar presentes nas águas de rios e de consumo humano, destacam-se os hormônios esteróides. Estes são compostos que tem provocado preocupação ambiental, principalmente em razão do seu alto potencial de atuar como desreguladores endócrinos (EDCs) e devido a sua biodisponibilidade (Ali *et al.*, 2012; 2017; Chang *et al.*, 2018; Kasonga *et al.*, 2021). Os riscos ambientais derivados da produção e consumo desses compostos resultaram na contaminação de águas (Torres *et al.*, 2015), interferindo na biodiversidade e no equilíbrio dos ecossistemas aquáticos (Forio; Goethals, 2020).

O monitoramento ambiental é definido com o conhecimento e monitoramento sistemático da situação dos recursos ambientais, visando à recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental. Por meio das análises físico-químicas identificam-se e quantificam-se as concentrações das substâncias tóxicas e as condições de parâmetros de análise da qualidade da água. O monitoramento ambiental pode utilizar ainda como ferramenta os testes ecotoxicológicos, que por meio de bioindicadores e biomarcadores, avaliam o efeito dos parâmetros físico-químicos sobre os sistemas biológicos (Ronco *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2008; Zegura *et al.*, 2009; Tavares, 2014). O uso de bioindicadores para diagnosticar impactos na saúde dos ecossistemas pode ser considerado uma importante ferramenta na gestão dos recursos naturais, pois fornece subsídios que podem embasar a legislação e as ações de gestão pública (Danzei; Vercellino, 2018).

Para maior representatividade e confiabilidade, recomenda-se a realização de testes de biomonitoramento com mais de uma espécie, preferencialmente pertencentes a diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar (Luíz *et al.*, 2012). Isso porque, como destacado por Buss *et al.* (2003), existem compostos que podem ser biomagnificados e, assim, passados pelos organismos para o nível superior da cadeia trófica. Em alguns casos, esses compostos podem ser tóxicos se acumulados, como no caso de metais e de agroquímicos organoclorados. Neste sentido, podem-se citar como bioindicadores o microcrustáceo *Artemia salina*, o vegetal *Allium cepa* e os animais *Eisenia fetida*, *Lithobates catesbeianus* e cultura de células de mamíferos.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi monitorar as características físico-químicas e ecotoxicológicas das águas dos Rios Marrecas (Francisco Beltrão-Paraná-Brasil) e seus afluentes, assim como, da água tratada por uma Estação de Tratamento de Água, na alta e baixa vazão dos rios.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos das águas do Rio Marrecas e seus afluentes em diferentes vazões.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar e quantificar a presença de metais pesados, agroquímicos e hormônios das amostras de água, ao longo dos Rios, em pontos pré-definidos;
- Caracterizar as amostras de água em termos físico-químicos pelo teor de oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos, turbidez, pH e condutividade elétrica;
- Realizar análises de ecotoxicidade com os bioindicadores *Artemia salina*, *Allium cepa*, *Eisenia fetida*, *Lithobates catesbeianus* e células de fígado humano (Huh7.5).
- Analisar se a vazão interfere nos parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos do Rio Marrecas e seus afluentes.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 POLUIÇÃO DAS ÁGUAS

Segundo Zacarias *et al.* (2017) a qualidade da água é um dos maiores desafios mundiais. As Nações Unidas o incluíram nos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável como Objetivo nº 6: Assegurar o acesso à água e ao saneamento para todos. Entretanto, a qualidade da água é ameaçada uma vez que os resíduos das atividades industriais e urbanas são descartados diariamente em corpos d'água, sem o devido tratamento.

Os poluentes mais comuns são metais, desreguladores endócrinos, agroquímicos, produtos de higiene pessoal, produtos farmacêuticos, entre outros (Geissen *et al.*, 2015; Vargas-berrones *et al.*, 2020). As águas poluídas podem causar efeitos adversos, mesmo em baixas concentrações, podendo ser agudos e crônicos, causando desregulação endócrina, imunotoxicidade, distúrbios neurológicos e câncer para os seres humanos, organismos aquáticos e terrestres (Ojemaye; Petrik, 2019; Sanchez; Egea, 2018).

Os poluentes ambientais químicos podem ser orgânicos e inorgânicos. Os compostos inorgânicos incluem sais, ácidos, bases, metais, entre outros. Por outro lado, os compostos orgânicos incluem óleos, hidrocarbonetos, sabões, detergentes, hormônios e agroquímicos (Schwarzenbach *et al.*, 2010).

3.2 POLUENTES AMBIENTAIS

3.2.1 Metais

As concentrações de metais na água, solo e vegetais podem apresentar valores significativos em ambientes agrícolas, em virtude da utilização de agroquímicos e fertilizantes que, em alguns casos, têm em sua composição esses tipos de compostos (Ali *et al.*, 2019a; Rai *et al.*, 2019).

A contaminação de culturas agrícolas, que serão consumidas por serem humanos, e da água potável, além do limite permitido pela legislação, pode ocasionar diversos efeitos adversos à saúde humana como alterar as atividades bioquímicas do fígado, rins, pulmões e tecidos cardiovasculares em humanos (Maleki *et al.*, 2014; Emmanuel *et al.*, 2022).

O chumbo (Pb), por exemplo, em suas formas inorgânica e orgânica é absorvido em cerca de 15% e 80%, respectivamente, quando ingerido (Mingo-Ho, 2005). Ele é extremamente tóxico e pode causar riscos prolongados à saúde, incluindo dor de cabeça, perda de apetite, deficiências congênitas, hipertensão e câncer de pulmão (Saira *et al.*,

2019). Já o mercúrio inorgânico (Hg), quando ingerido, é tóxico para o rim, e sua forma orgânica é um potente tóxico ao sistema nervoso (Jarup, 2003). E, o cádmio (Cd) é um conhecido carcinógeno e pode provocar efeitos críticos nos rins e nos ossos (Suru, 2008; Hadzi *et al.*, 2015).

Além disso, os metais também foram classificados como desreguladores endócrinos (Nascimento *et al.*, 2018). Os desreguladores endócrinos atuam como hormônios ou bloqueiam seus receptores, interferindo todo o corpo e podendo causar inúmeras doenças crônicas, como diabetes, obesidade, distúrbios da tireóide e diferentes desequilíbrios homeostáticos, além de toxicidade reprodutiva (Nascimento *et al.*, 2018; Buha-Djordjevic *et al.*, 2021; Erkekoglu *et al.* al., 2021; Sevim; Kara, 2021).

3.2.2 Agroquímicos

Os agroquímicos utilizados em cultivos agrícolas podem ser perigosos para a saúde humana, causando efeitos tóxicos de curto a longo prazo (Grewal *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2020). A pulverização de agroquímicos começa com a manipulação dos produtos e aplicação por trabalhadores rurais em produtos agrícolas que, posteriormente, serão consumidos por toda a sociedade, podendo se espalhar e se acumular no meio ambiente, como na água, solo, sedimentos, animais, plantas e seres humanos (Panis *et al.*, 2022a).

Segundo Ferreira (2014), na pulverização aérea, cerca de 32% dos agroquímicos são aderidos pelas plantas e 49% pelo solo, enquanto 19% se expandem para áreas circunvizinhas à da aplicação. Assim, os agroquímicos podem entrar no corpo humano por meio de diferentes vias de exposição, incluindo a ingestão de alimentos, partículas do solo, água potável, inalação de ar contaminado e contato dérmico com ar, solo, água e outros produtos de consumo (Dong; Hu, 2012; Fantke; Jolliet, 2016; Houbraken *et al.*, 2016; Kuang *et al.*, 2020; Mekonen *et al.* al., 2016; Son *et al.*, 2018).

O mais recente relatório do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal) demonstra os resultados das análises realizadas em 2019 e 2020. Em média, os resíduos de agroquímicos estão presentes em 61,88% das amostras analisadas. Os alimentos feijão, pimenta-do-reino, pimentão, pera, morango, uva e farinha de trigo obtiveram mais de 90% das amostras com presença de resíduos de agroquímicos. Ainda segundo PNCRC/Vegetal, 86,84% das amostras de arroz, um dos alimentos mais consumidos no Brasil, apresentam a detecção de metais, como o arsênio, e o cacau e alho apresentaram

traços de cádmio em 100% e 26,32% das amostras, respectivamente, podendo esses metais estarem na composição de agroquímicos (Brasil, 2021). O acúmulo de resíduos de agroquímicos em produtos alimentícios está geralmente associado a vários riscos à saúde (Grewal *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2020).

Segundo o último relatório divulgado (2018–2021) do Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (SISÁGUA), aproximadamente 13% do total registrados neste documento apresentam agroquímico em amostras de água, e 25% destes foram detectados em amostras de água coletadas diretamente de torneiras, ou seja, em residências ou outros locais onde a população consome água diretamente, indicando assim, a contaminação da água para consumo humano por agroquímicos (Brasil, 2022).

A exposição a resíduos de agroquímicos pode ocasionar toxicidade reprodutiva para homens e mulheres (El-Nahhal, 2020), desregulação no sistema endócrino (Miranda-Contreras *et al.*, 2013), aumento do câncer de mama humano (Yang *et al.*, 2020) e câncer de próstata (Pardo *et al.*, 2020), além de outros tipos de câncer, doença de Parkinson (Pouchieu *et al.*, 2018), toxicidade cardiovascular (El-Nahhal; El-Nahhal, 2021), entre vários outros efeitos nocivos.

O Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS*) previa a existência de quatro categorias segundo o nível de perigo oferecido, e agora passou a ter cinco: Categoria 1 – Produto Extremamente Tóxico (faixa vermelha), Categoria 2 – Produto Altamente Tóxico (faixa vermelha), Categoria 3 – Produto Moderadamente Tóxico (faixa amarela), Categoria 4 – Produto Pouco Tóxico (faixa azul), Categoria 5 – Produto Improvável de Causar Dano Agudo e “Produto Não Classificado” (faixa verde) (Brasil, 2019).

O Brasil é um dos maiores consumidores de agroquímicos do mundo (Pevaspea, 2021). Segundo o Boletim 2019 referente a produção, importação, exportação e vendas de agroquímicos do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o consumo foi de 620537,98 toneladas (Brasil, 2019). De acordo com Teixeira (2019), dos 497 ingredientes ativos (IA) autorizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para fabricação e comércio no país, 32% (155) são proibidos na União Europeia.

Vale destacar que a aprovação de novos produtos agroquímicos no Brasil, em 2019, foi a maior dos últimos anos. Segundo o Ministério da Economia (2020), de 2005 a 2015, a média de novos registros por ano ficou em 140,5, a partir de 2016, o número passou para 277 novos registros e, em 2017, 2018 e 2019, atingiu 405, 449 e 474 novos registros, respectivamente. Além disso, o Brasil tem sido mais permissivo em relação aos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos e aos agroquímicos utilizados no território nacional. Como o caso dos agroquímicos carbendazim, clorpirifós e acefato que estão proibidos há anos nos países da União Europeia (Bombardi, 2017). Além disso, cerca de 80% dos agroquímicos autorizados para comercialização no Brasil são proibidos em pelo menos três países da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) da comunidade europeia (Panis *et al.*, 2022b).

Na Figura 1, mostram-se os parâmetros de agroquímicos por número de análises em que foram identificados, no controle de qualidade de Sistema de Abastecimento de Água (SAA), na saída do tratamento, no ano de 2019, no estado do Paraná. Vale destacar que o Endrin (88), a Atrazina (57), a Permetrina (46), o 2,4-D+2,4,5 T (37) e o Aldrin+Dieldrin (36) foram os mais identificados nas análises.

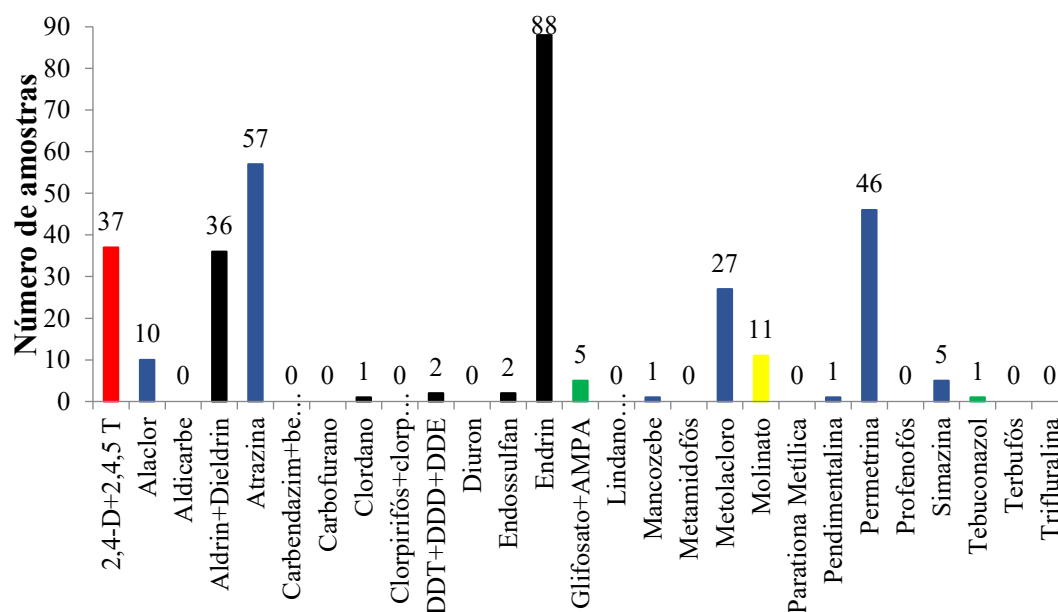
O Paraná é o segundo consumidor de agroquímicos do Brasil, segundo o Sistema de Monitoramento do Comércio e Uso de Agrotóxicos do Estado do Paraná (SIAGRO) da Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). O cultivo de soja foi o que mais consumiu, totalizando 59,88%, seguido do cultivo do milho (18,41%), trigo (9,01%), feijão (2,65%), pastagens (2,32%), cana-de-açúcar (1,86%), batata (1,47%), citros (1,16%) e tabaco (0,62%) (Paraná, 2020).

Segundo a ADAPAR (Paraná, 2020b), em 2019, foram consumidas 95286 toneladas de agroquímico no estado do Paraná, demonstrando um aumento de 2,5% em relação ao ano de 2018. Os agroquímicos mais consumidos foram: Glifosato ou equivalente (28,99%), Paraquate (6,89%), Atrazina (4,89%), 2-4D (4,76%), Mancozeb (3,54%), Cletodim (2,53%), Acefato (2,25%), Imidacloprido (2,22%), Tebuconazol (2,04%) e Trifloxistrobina (2%). Além disso, os agroquímicos mais utilizados de acordo com sua finalidade de uso foram: herbicidas (64,37%), fungicidas (15,52%), inseticidas (10,18%), acaricida/fungicida (3,99%) e acaricida/inseticida (3,72%) (Paraná, 2020).

O estado do Paraná é um dos três maiores produtores de alimentos e consumidores de agroquímicos no Brasil, podendo assim apresentar uma contaminação significativamente maior da água potável (Ibama, 2019; Brovini *et al.*, 2021; Fao, 2021).

Coincidentemente, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o Paraná está entre os cinco principais estados com maior incidência de câncer de cólon, pulmão, mama e oral no país (Inca, 2020).

Figura 1 – Agroquímicos por número de análises em que foram identificados, no controle de qualidade de Sistema de Abastecimento de Água, na saída do tratamento, no ano de 2019.



Fonte: Adaptado de PEVASPEA (2021).

Vermelho (Produtos Extremamente Tóxicos), amarela (Produtos Altamente Tóxicos), azul (Medianamente Tóxicos), verde (Produtos Pouco Tóxicos) e preto (Banidos no Brasil).

3.2.3 Hormônios estrogênicos

A excreção dos hormônios é realizada via urina e fezes, na forma de metabólitos e substância ativa inalterada (Torres *et al.*, 2021). Sua extensa disposição no ambiente ocorre em razão da sua remoção incompleta em estações de tratamento de esgoto (França *et al.*, 2020), por meio de lançamento de esgoto doméstico em cursos d'água (Peña-Guzmán *et al.*, 2019) e efluentes de indústrias farmacêuticas (Torres *et al.* 2021). Mesmo depois de passar por todas as etapas de tratamento de água e esgoto, a remoção dos hormônios pode ser insuficiente e, por essa razão, esses compostos são frequentemente encontrados em ambientes aquáticos (Hoff *et al.*, 2019; Matamoros *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2019b,c,d).

Normalmente, os hormônios são encontrados na água em concentrações muito baixas e, ainda assim, podem apresentar risco à saúde humana e animal (Galindo-Miranda *et al.*, 2019; França *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2020). Estes desreguladores endócrinos, como os estrogênios naturais estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3) e o estrogênio sintético 17 α -etinilestradiol (EE2), apresentam elevada atividade estrogênica (Huerta-Fontela *et al.*, 2011; Vargas-Berrones *et al.*, 2020). Segundo Zhou *et al.* (2019), a presença desses compostos no sistema aquático causou inibição no desenvolvimento de testículos de peixes, com aumento de sua carga metabólica, mesmo em baixas concentrações. Wee e Aris (2019) mostraram que a presença de hormônios no ambiente pode causar efeitos adversos no desenvolvimento, reprodução, funções neurológicas, imunológicas e metabólicas em humanos e animais.

Quando os hormônios E2 e E3 são encontrados em corpos d'água é um indício de contaminação pelo esgoto doméstico, devido ao fato de serem considerados os principais hormônios produzidos pelo corpo humano (Torres *et al.*, 2015). Entretanto, o EE2 também é encontrado em corpos hídricos e efluentes (Nunes *et al.*, 2016) e pode ocasionar efeitos adversos a saúde humana e aos organismos aquáticos (Bila; Dezotti, 2007; Farre *et al.*, 2008; Kuster *et al.*, 2010; Lopez-Serna *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2015).

Muitos estudos demonstram a detecção de hormônios em água, entretanto, existem poucas informações em ecossistemas terrestres (Galindo-Miranda *et al.*, 2019; Montagner *et al.*, 2019; Peña-Guzmán *et al.*, 2019; França *et al.*, 2020). Segundo Torres *et al.* (2015, 2017) foram encontrados resíduos de antibióticos e estrogênios em sedimentos. Em muitos países, como Áustria, Estados Unidos, Brasil e China, os hormônios E1 e E2 foram detectados em águas superficiais (Hohenblum *et al.*, 2004; Benotti *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2015). De acordo com Liz *et al.* (2017), os hormônios E1, E2 e E3 foram detectados em amostras de água no Estado do Paraná, Brasil.

Vale destacar que esses compostos muitas vezes apresentam propriedades físico-químicas persistentes, são lipofílicos e bioacumulativos favorecendo sua dispersão no meio ambiente (Langenbach, 2013). Consequentemente, os hormônios podem estar presentes em carnes, peixes, ovos e derivados do leite (Vilela *et al.*, 2018). Desse modo, a presença desses desreguladores endócrinos no ambiente aquático podem induzir efeitos adversos nas funções hormonais de humanos e outros organismos (Torres *et al.*, 2021). Portanto, é essencial avaliar os riscos potenciais dos hormônios para os ecossistemas aquáticos e sua toxicidade nos organismos (Czarny *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2022).

3.3 EFEITO DOS EVENTOS DE ENCHENTES E ESTIAGEM

A maior parte das cidades foi construída sem planejamento, crescendo a partir de pequenas cidades localizadas em regiões de risco como, por exemplo, perto de rios e lagos, em busca de abastecimento local, transporte e despejo de resíduos (Son *et al.*, 2020). Essas regiões de riscos estão mais suscetíveis a ocorrência de desastres, que provocam custos socioeconômicos e ambientais muito elevados, por isso, é fundamental a compreensão dos riscos destes eventos em todo seu aspecto de vulnerabilidade, exposição de pessoas e bens, características de perigo ao meio ambiente e estabelecer medidas para redução dos impactos (Lyubimova *et al.*, 2016).

A urbanização é um processo inevitável (Wang *et al.*, 2019) mas, a ocupação em áreas próximas às margens dos rios pode alterar o processo de infiltração de água no solo e promover a impermeabilização da bacia hidrográfica. Assim, durante as chuvas, eleva-se o escoamento da água pela superfície, aumentando as vazões dos rios acima da capacidade da rede de drenagem, ocasionando deslizamentos de terra e inundações (Gu *et al.*, 2011).

As inundações podem afetar a qualidade de vida das populações atingidas e causar danos materiais (Santis; Mendonça, 2000). Além disso, segundo Kwok *et al.* (2013), os poluentes podem se acumular nos sedimentos e podem ser remobilizados sob certas condições, como durante eventos de perturbação natural, caso das chuvas extremas (Borga *et al.*, 2014).

No Brasil, devido sua tropicalidade e, por consequência, de suas elevadas quantidades chuvas de verão, muitos impactos podem ser gerados, tanto para o meio ambiente quanto para o social. O município de Francisco Beltrão, Paraná, Brasil, por exemplo, enfrentou e ainda enfrenta muitos problemas com as cheias que ocorrem em sua principal bacia hidrográfica, a do Rio Marrecas (que corta a cidade ao meio) e, de seus afluentes, principalmente devido a ocupação desordenada das margens de seus rios e córregos, associados a falta de política de desenvolvimento e planejamento urbano (Santis; Mendonça, 2000). Além disso, as chuvas dos municípios vizinhos influenciam o fluxo das águas em Francisco Beltrão, pois o município está localizado em um encontro de bacias. Portanto, devido à alta incidência de enchentes no município, surgiu a necessidade da construção do túnel de contenção de cheias.

Por outro lado, a seca é um desastre natural lento definida como um período longo de pouca ou nenhuma precipitação, no qual a perda de umidade do solo é superior à sua reposição (Vieira *et al.*, 2021). A seca é um desastre recorrente que impacta os sistemas naturais e humanos e, conseqüentemente, que influenciam os aspectos políticos, socioeconômicos, agrícolas e ambientais (Van-Loon *et al.*, 2016; Linke *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2019).

No sudeste do Brasil, a seca de 2014 comprometeu o abastecimento de água de 28 milhões de pessoas (Melo *et al.*, 2016). Segundo Bevacqua *et al.* (2021) os impactos nas disponibilidades de água superficial e como as secas meteorológicas se propagam no Brasil são pouco conhecidas. A primeira seca a acontecer é meteorológica, a qual está associada a défices de precipitação, provocando redução da água no solo agrícola, resultando em estresse da vegetação. Já a seca hidrológica ocorre com o déficit hídrico nos rios e reservatórios, comprometendo sua utilização e, conseqüentemente, ocasionando a seca socioeconômica que acontece quando a diminuição na disponibilidade de água afetando a população (Souza *et al.*, 2021).

Em 2021, no município de Francisco Beltrão-PR, foi estabelecido situação de emergência em virtude da crise hídrica. A escassez de chuva ocasionou diversos problemas, como perdas na agricultura e o desabastecimento de água em muitas regiões (Prefeitura de Francisco Beltrão, 2021). Portanto, eventos extremos, como secas prolongadas e chuvas intensas, aumentam a vulnerabilidade dos ambientes aquáticos e podem afetar a qualidade de vida da população e do ambiente aquático, pois as variações na vazão das águas provocam alterações físicas, químicas e biológicas das mesmas (Marengo *et al.*, 2017; Dantas *et al.*, 2020).

Apesar de muitos rios estarem sob a pressão de mudanças nas condições de descarga, as investigações sobre o comportamento dos poluentes sob diferentes vazões são poucas documentadas. Mediante variações de vazão de ambientes aquáticos, caso um poluente ambiental específico for detectado em concentrações superiores aos limites máximos permitidos pela legislação, a água não deveria ser utilizada para determinados usos, embora possa ser utilizada para outros fins, desde que não represente nenhum risco (Schweitzer; Noblet, 2018). Portanto, é necessário realizar a determinação desses poluentes ambientais, para garantir a qualidade de vida dos seres humanos e demais organismos.

3.4 ECOTOXICIDADE EM BIOINDICADORES

Nos ambientes aquáticos, os contaminantes químicos sofrem muitas interações químicas ou biológicas, levando à sua transformação ou até mesmo sua degradação total. Entretanto, muitos destes poluentes não são degradáveis e possuem uma longa persistência, ou seja, causando a bioacumulação nos ecossistemas aquáticos (Thushari; Senevirathna, 2020).

A bioacumulação é um fenômeno que resulta em uma transferência e um aumento biológico da poluição dentro das biocenoses contaminadas, levando a um aumento na concentração de poluentes no nível das cadeias tróficas (Chahouri *et al.*, 2023). Segundo Chahouri *et al.* (2023), bioindicadores são animais, plantas ou grupos de espécies, que podem modificar suas funções vitais em resposta ao poluente, seja pela sua presença, ausência e/ou abundância, pois os organismos incorporam frações biodisponíveis de contaminantes persistentes no meio ambiente.

As minhocas são frequentemente utilizadas como bioindicadores sensíveis para realizar testes de ecotoxicidade e monitoramento de poluentes ambientais (Gu *et al.*, 2021). Este bioindicador é um representante da biodiversidade do solo, sendo capaz de melhorar a textura do solo, promover a decomposição da matéria orgânica, promover o ciclo do carbono e do nitrogênio e manter a permeabilidade do solo e da água (Elliston; Oliver, 2019). Dessa forma, as características fisiológicas e bioquímicas da minhoca podem refletir a qualidade do solo (Kwak *et al.*, 2019).

As minhocas da espécie *Eisenia*, em especial as *Eisenia fetida*, são menos sensíveis aos agroquímicos do que outras, devido a sua alta taxa reprodutiva, ciclo de vida curto, grande adaptabilidade e pode ser facilmente cultivada nas condições padrão de laboratório (Li *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2019). Dessa forma, são consideradas adequadas como organismo teste para conduzir os ensaios de ecotoxicidade para poluentes ambientais (Velki; Ečimović, 2015).

Outro bioindicador é a *Allium cepa* (cebola). Ela tem sido utilizada para verificar efeitos tóxicos de poluentes, devido ao fato de seu uso em testes de citotoxicidade e mutagenicidade ser considerado simples, barato e sensível (Mercado; Caleño, 2020; Khan *et al.*, 2020). Quando expostas a poluentes, as células meristemáticas das cebolas podem sofrer alterações no ciclo celular (Ramos *et al.*, 2020). Os danos causados nas células vegetais também podem resultar na formação de micronúcleos e anormalidades nucleares (Oost *et al.*, 2003), que serão contabilizadas como índice de mitose e índice mutagênico.

Testes biológicos utilizando o bioindicador microcrustáceo *Artemia salina* apresentam vantagens, incluindo baixo custo, alta sensibilidade e resposta rápida a determinados níveis reais de toxicidade (Cruzeiro *et al.*, 2017). Este invertebrado é encontrado em ecossistemas de água salgada e é amplamente utilizado em testes de ecotoxicidade, pois é capaz de ingerir partículas poluentes menores que 50 µm de diâmetro (Lish *et al.*, 2016).

Como a maioria das espécies de anfíbios, que tem um ciclo de vida de duas fases (fase larval aquática e fase adulta terrestre), esses organismos são sensíveis à contaminação da água e solo (He *et al.*, 2014). Dessa forma, os anfíbios são considerados bons bioindicadores em estudos de ecotoxicidade e risco ambiental (Burlibaşa; Gavrilă, 2011). A *Lithobates catesbeianus* (rã-touro) é uma espécie de anfíbio que possui grande capacidade de adaptação a qualquer ambiente e é de fácil obtenção de espécimes para testes laboratoriais (Veronez *et al.*, 2016; Boiarski *et al.*, 2020; Motta *et al.*, 2020). Estes organismos podem ser utilizados para a avaliação da formação de micronúcleos ou alterações nucleares após a exposição a poluentes. Os micronúcleos são gerados principalmente pela quebra ou perda de cromossomos (Leme; Morin-Morales, 2009), e as anormalidades nucleares são caracterizadas por alterações morfológicas no núcleo, que ocorrem quando a célula ativa genes de reparo para suprimir a ação dos poluentes, resultando em erros mitóticos, que são classificados como mitose C, núcleos lobulados e perda de cromátides (Zorzo *et al.*, 2021).

3.4.1 Legislações Ambientais no Brasil

Análises de toxicidade já vêm sendo exigidas por leis ambientais no Brasil, como as Resoluções nº357/2005 e nº430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), (Brasil, 2005; 2011), que preconizam que o efluente não deverá causar ou possuir potencial de causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, constituindo um importante instrumento do monitoramento dos recursos hídricos (Tavares, 2014). A Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 “Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade” (Brasil, 2011).

No Estado do Paraná, os ensaios ecotoxicológicos e de monitoramento ambiental são considerados pelo Instituto Água e Terra (IAT). Estes ensaios são utilizados para o

automonitoramento industrial, segundo a portaria IAP nº019/2006 (Paraná, 2006), além também da utilização dos ensaios biológicos para o monitoramento da qualidade das águas superficiais, avaliação integrada da qualidade da água e também no monitoramento de acidentes ambientais. A Resolução nº081/2010 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do Paraná (CEMA) (Paraná, 2010) dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o controle de efluentes líquidos lançados em águas superficiais no Estado do Paraná.

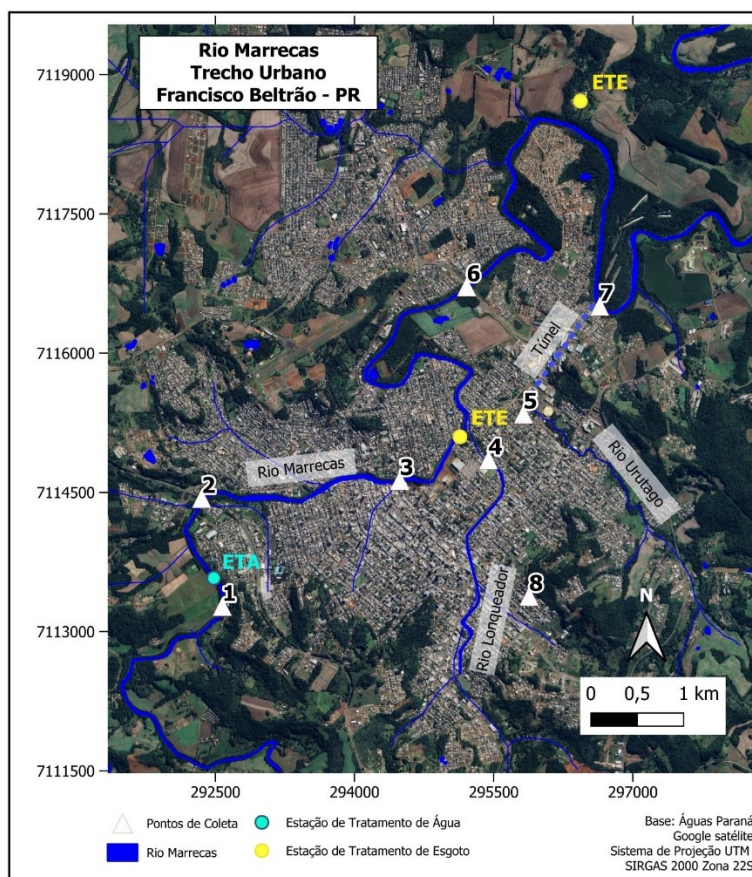
Os testes de toxicidade possuem o benefício de detectarem as ações sinérgicas entre os contaminantes, assegurando a avaliação do potencial efeito sobre as condições de vida dos organismos (Magalhães; Ferão-Filho, 2008). Além disso, os dados de toxicidade podem ser utilizados para comparar diferentes substâncias químicas, além de permitir comparar a sensibilidade de diferentes organismos aquáticos a uma mesma substância (Costa *et al.*, 2008).

4 METODOLOGIA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

A coleta das águas foi realizada em cinco pontos do Rio Marrecas (Figura 2), na foz do Rio Lonqueador (Ponto 4) e na foz do Rio Urutago (Ponto 5), que desaguam no Rio Marrecas, e uma amostra de água de uma residência abastecida com a água do Rio Marrecas tratada pela Estação de Tratamento de Água de Francisco Beltrão-Paraná-Brasil (Ponto 8).

Figura 2 – Pontos de coletas de água do Rio Marrecas, Lonqueador e Urutago no município de Francisco Beltrão-PR com destaque para a localização da Estação de Tratamento de Água (ETA) e Esgoto (ETE) de Francisco Beltrão.



Fonte: Autoria Própria (2024).

O Ponto 1 está localizado próximo ao início da área urbana de Francisco Beltrão, no bairro Marrecas, antes do ponto de captação da Estação de Tratamento de Água do município, em uma área de declive acentuado com vegetação e algumas residências a cerca de 80 metros da margem do rio. O Ponto 2 encontra-se sob a rodovia PR 483,

próximo ao trevo de acesso para a estrada Santa Bárbara. A área tem tráfego intenso de veículos da rodovia, muitas construções, inclusive irregulares, próximas as margens do rio e vegetação nas margens do rio. O Ponto 3 está localizado sob a ponte na Avenida General Osório, no bairro Congo, em uma área urbana central, com fluxo intenso de veículos e deságue de esgotos irregulares as margens do rio. O Ponto 4 foi definido em uma ponte perto do centro da cidade em área urbana localizada próxima ao estádio do Arrudão, próximo a foz do rio Lonqueador. O Ponto 5 localiza-se dentro do Parque de Exposições no bairro Miniguaçu, tratando-se das águas do Rio Urutago que deságua no Rio Marrecas, próximo ao Ponto 7, devido ao desvio realizado pela construção do túnel de canalização. O Ponto 6 fica próximo da Unidade de Pronto Atendimento (UPA) 24 horas do município, na posição da ponte sob o Rio Marrecas da rodovia Olivo Zanella (rodovia PR 180). Nesse trecho observa-se densidade habitacional significativa, uma vegetação considerável, circundada de área agrícola em meio a área urbana, presença de algumas empresas nas proximidades do rio e tráfego intenso de veículos. O Ponto 7 está localizado no bairro Padre Ulrico, após a Foz do Túnel de canalização, em terreno íngreme, circunvizinhado por unidades habitacionais e vegetação. O Ponto 8 foi coletado de uma torneira de uma residência, localizada no bairro Industrial.

Os pontos de coleta foram definidos baseado em estudos anteriores desenvolvidos e publicados pelo grupo de pesquisa (Santos *et al.*, 2021; Hellmann *et al.*, 2022). Nas pesquisas precedentes notou-se que os pontos localizados na região central da cidade apresentavam elevada presença de contaminantes e elevada citotoxicidade e mutagenicidade (atuais Pontos 3 e 6). Como estes pontos tratava-se da região do desague do Rio Lonqueador e Urutago, optou por coletar também amostras da foz destes dois rios (Pontos 4 e 5, respectivamente). Além disso, o Ponto 6 localiza-se após uma das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) do município. Observou também no trabalho de Santos *et al.* (2021) que o Rio Marrecas está possivelmente sendo afetado pela agricultura da região, por isso, optou-se pela coleta da amostra de água do Ponto 1, localizada após a zona rural do município e antes do local de coleta de água pela ETA do município.

4.2 COLETAS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

As coletas das amostras de água foram realizadas no dia 19/08/2022 em alta vazão do Rio Marrecas ($314 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) e dia 08/08/2023 em baixa vazão do Rio Marrecas ($5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). A vazão do Rio Marrecas foi monitorada pelos dados fornecidos pela Agência

Nacional de Águas (ANA, 2024)). A amostragem foi realizada seguindo os procedimentos descritos no “*Standard Methods*” (APHA, AWWA e WEF, 1998) (Figura 3).

Figura 3 – Pontos de coletas dos Rio Marrecas, Lonqueador e Urutago em alta e baixa vazão.



Fonte: Autoria Própria (2024).

4.3 REGISTRO DO ÍNDICE PLUVIOMÉTRICO

Com vistas a entender a influência da dinâmica sazonal média das chuvas ao longo da bacia do Rio Marrecas, caracterizou-se, por meio dos dados das estações pluviométricas contidas no interior e/ou nas proximidades dos limites da bacia, a distribuição temporal e espacial das chuvas. Os dados utilizados estão disponíveis no site da Agência Nacional de Água (Ana, 2024).

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (CE), turbidez e sólidos totais dissolvidos (STD) foram determinados *in loco* no momento da coleta, por meio de uma sonda multipâmetro portátil Horiba U-52.

A determinação das concentrações elementares de metais das amostras de água foi realizada pela técnica de Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total (TXRF), pela Companhia de Saneamento do Paraná, devido à acordo de cooperação técnica estabelecido com a empresa.

4.4.1 Determinação de agroquímicos

A quantificação da presença de multiresíduos de agroquímicos nas amostras de água foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, pela Companhia de Saneamento do Paraná, devido à acordo de cooperação técnica estabelecido com a empresa.

Na Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Francisco Beltrão foi realizada a identificação e quantificação do agroquímico 2,4D, conforme metodologia proposta por Bressiani *et al.* (2022). Para o preparo das amostras de água foram utilizados cartuchos C18 (*Bekerbond Spe Octadecyl* – 500 mg 6 mL⁻¹) em sistema de extração a vácuo. As amostras foram filtradas à vácuo com membrana PVDF de 0,22 µm. As etapas do procedimento da extração em fase sólida (EFS) foram:

- 1) Condicionamento dos cartuchos: os cartuchos foram ativados pela passagem de 10 mL de metanol. Em seguida, o equilíbrio dos cartuchos foi realizado pela passagem de 10 mL de água Mili-Q.
- 2) Adição da amostra: foi realizada a passagem da amostra (500 mL) pelo cartucho, com auxílio de uma bomba de vácuo com vazão entre 2 a 5 mL min⁻¹;

3) Lavagem do cartucho: os cartuchos foram lavados com a passagem de 5 mL de água Mili-Q. O eluato foi descartado e, em seguida, foi realizada a secagem do leito sorvente pela passagem de ar durante 5 minutos;

4) Eluição do analito: o analito foi eluído com 5 mL de metanol.

A análise para detecção e quantificação do agroquímico 2,4D foi realizada pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (*UltiMate 3000 da Thermo Scientific*) e coluna C18 (4,6 x 250mm, 5 µm). A fase móvel foi composta por uma solução de metanol e água acidificada (pH = 2,5) com 0,10% de ácido fosfórico (70:30), com eluição isocrática e no fluxo de 1,2 mL min⁻¹. O volume de injeção da amostra foi de 20 µL e comprimento de onda de 230 nm.

4.4.2 Determinação de hormônios estrogênicos

Na Universidade tecnológica Federal do Paraná-Campus Francisco Beltrão foi realizada a identificação e quantificação dos hormônios estrógenos (E1, E2, EE2 e E3), conforme metodologia proposta por Bohrer *et al.* (2021).

Foram utilizados cartuchos C18 (*Bekerbond Spe Octadecyl – 500 mg 6 mL⁻¹*) em sistema de extração a vácuo. As amostras de água foram filtradas a vácuo com membrana PVDF de 0,22 µm. As etapas do procedimento da EFS foram:

1) Condicionamento dos cartuchos: os cartuchos foram ativados pela passagem de 5 mL de metanol e 7 mL de acetonitrila. Em seguida, o equilíbrio dos cartuchos foi realizado pela passagem de 5 mL de água Mili-Q.

2) Adição da amostra: foi realizada a passagem da amostra (200 mL) pelo cartucho, com auxílio de uma bomba de vácuo com vazão de 2 mL min⁻¹;

3) Lavagem do cartucho: os cartuchos foram lavados com a passagem de 5 mL de água Mili-Q. O eluato foi descartado e, em seguida, foi realizada a secagem do leito sorvente pela passagem de ar durante 5 minutos;

4) Eluição do analito: o analito foi eluído com 6 mL de acetonitrila.

Após realizada a EFS, os hormônios foram quantificados utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV (modelo *UltiMate 3000, Thermo Scientific*), em coluna C18. As análises foram realizadas após a injeção manual da amostra com loop de 20 µL, sob uma vazão de 1 mL min⁻¹. A fase móvel utilizada foi de uma proporção de acetonitrila (ACN) e água ultrapura (Milli-Q) em modo gradiente, começando em 20:80 (ACN:H₂O), alterando-se para 50:50 em 5 min e, posteriormente,

para 54:46 no decorrer dos 10 min subsequentes, sendo esta última proporção mantida até o fim da corrida, com duração total de 20 min. A detecção foi realizada em um comprimento de onda igual a 281 nm.

4.4.3 Curvas de calibração para determinação do agroquímico 2,4D e dos hormônios estrogênios

A concentração do agroquímico 2,4D e dos hormônios estrógenos foram calculadas com base na integração das áreas de pico do cromatograma correspondentes a cada analito, sendo convertida em concentração a partir da equação da curva de calibração. Para o agroquímico 2,4D foi preparada uma solução do 2,4D nas concentrações de 0,04 a 1 mg L⁻¹ e, para os hormônios estrógenos, foram preparadas soluções dos quatro hormônios (E1, E2, EE2 e E3) nas concentrações de 1 a 8 mg L⁻¹. Cada ponto foi injetado em triplicata no HPLC, calculando-se as médias e desvios padrões relativos.

Após, foi construída as curvas de calibração, cálculo da equação da reta e R². A partir da equação da reta obtiveram-se os coeficientes angular e linear. A linearidade do método foi avaliada em função do coeficiente de correlação linear (R²). O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação da reta (r²) pela Anvisa (2003) é de 0,99 e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2016) este deve ser superior a 0,9. A concentração mínima detectável ou limite de detecção (LD) e o limite inferior de quantificação (LQ) do instrumento foram calculados com as Equações 1 e 2:

$$\text{Limite de Detecção} = \frac{3 \times s}{c} \quad (1)$$

$$\text{Limite de Quantificação} = \frac{10 \times s}{c} \quad (2)$$

Onde:

s = Desvio padrão das medições;

c = Coeficiente angular da curva de calibração.

Para realizar a quantificação do agroquímico e dos hormônios estrogênicos, foi realizada a fortificação das amostras (após a extração em fase sólida) dos pontos com os padrões em uma concentração de 4 mg L⁻¹. O cálculo realizado para obtenção das concentrações está descrito na Equação (3):

$$\text{Concentração} = (A_{\text{fortificada}} - A_{\text{padrão}}) * c \quad (3)$$

Onde:

$A_{\text{fortificada}}$ = Área dos resultados analíticos das amostras fortificadas;

$A_{\text{padrão}}$ = Área dos resultados analíticos dos padrões com concentração de 4 mg L⁻¹;

c = Coeficiente angular da curva de calibração.

4.4.4 Validação do método analítico

De acordo com a Anvisa (2003) a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. O Inmetro define validação como a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específico foram atendidos (Inmetro, 2017).

A precisão mede a capacidade dos resultados obtidos se aproximam entre si e apresenta a dispersão de resultados para uma mesma amostra. Ela pode ser analisada por meio da reprodutibilidade, a qual é definida como coeficiente de variação. O coeficiente de variação é calculado de acordo com a Equação 4. A exatidão representa o grau de concordância entre o valor encontrado experimentalmente com concentração teórica (valor esperado) (Equação 5) (Anvisa, 2003; Ribani *et al.*, 2004).

$$\text{Coeficiente de variação} = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Exatidão} = \frac{\bar{C}_{\text{experimental}}}{C_{\text{teórica}}} \times 100 \quad (5)$$

De acordo com a Anvisa (2003), para o método ser preciso, os valores do coeficiente de variação não devem ser superiores a 5% e para ser exato os valores da exatidão devem ficar na faixa (80-120%).

4.5 TESTES DE ECOTOXICIDADE

4.5.1 Teste de imobilidade/mortalidade com *Artemia salina*

O teste de imobilidade/mortalidade com *A. salina* foi realizado de acordo com o método proposto por Guerra (2001), com modificações baseadas na ABNT NBR 13373 (2010). Inicialmente, cistos do microcrustáceo *A. salina* foram incubados em solução de sal marinho sintético (30 g L^{-1}), aerados, com luminosidade e temperatura de 25°C , para induzir sua eclosão. Após a eclosão dos cistos, os náuplios foram transferidos para poços de placas de cultivo de 24 poços, contendo 10 náuplios por poço e 2 mL das amostras. O controle salino foi realizado com 2 mL da solução salina, e o controle doce com 2 mL de água mineral. Após 24 horas de incubação foi feita a contagem do número de náuplios mortos/imóveis.

A análise estatística foi realizada utilizando o *software Action Stat*. Foi realizada a análise de variância ANOVA e teste de normalidade, seguido do teste de comparação de médias de Dunn ($p < 0,05$).

4.5.2 Teste de fuga com *Eisenia fetida*

O ensaio de fuga com a minhoca *E. fetida* foi realizado segundo a norma NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011). As minhocas da espécie *E. fetida* foram utilizadas no experimento com clitelo bem desenvolvido e massa corporal individual de 300 a 600 mg.

Como solo foi utilizada uma adaptação do solo artificial tropical (SAT) proposto pela OECD (1984), sendo constituído por uma mistura de areia fina seca e peneirada (70%), caulim em pó (20%) e fibra de coco (10%). A umidade do solo foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção de água. Foi adicionado água filtrada para o solo controle, as amostras para o solo-teste e uma solução de ácido bórico (H_3BO_3) ($1 \text{ g H}_3\text{BO}_3 \text{ Kg}^{-1}$ de solo) para o controle positivo.

Foram utilizados recipientes frascos retangulares de polipropileno, com altura de 115 mm e dimensões de 175 x 132 mm. A tampa dos recipientes foi perfurada e seu volume interior dividido ao meio pela inserção de um divisor plástico removível. Para o experimento, uma das laterais dos recipientes foi preenchida com 300 g de solo controle (SAT + água) e a outra metade foi preenchida com a mesma quantidade de solo-teste (SAT + amostra) ou solo controle positivo (SAT + ácido bórico). Após, foi retirado o divisor de plástico e colocado 10 minhocas na linha divisória entre os dois solos que se

encontram no mesmo recipiente, lado a lado. Foram realizadas duas repetições biológicas de cada experimento.

Os recipientes foram mantidos no escuro durante 48 h e, passado esse período, foi colocado o divisor plástico em todos os frascos, separando os solos controle e teste. Foi realizada a contagem dos organismos de cada seção dos recipientes e, na eventualidade de algum organismo sofrer corte em seu corpo durante o procedimento de inserção do divisor nos recipientes, considerou-se a presença desse organismo na seção contendo a parte anterior do corpo (Candello, 2014).

Foi realizado também o teste de controle dual, onde o solo controle foi disposto nas duas seções do recipiente. Esse processo verifica o atendimento a um dos critérios de validação do ensaio: a distribuição homogênea dos organismos nos recipientes-teste, na ausência de contaminantes.

A análise dos dados foi realizada em termos de porcentagem de fuga (FG%) por amostra testada, de acordo com a Equação 6.

$$\text{Percentual de fuga} = \left[\frac{(nC - nT)}{N} \right] \times 100 \quad (6)$$

Onde:

nC = número de minhocas encontradas na seção B (solo-controle)

nT = número de minhocas encontradas na seção A (solo-teste)

N = número total de minhocas (soma das replicatas por amostra)

O solo é considerado tóxico quando mais que 80% dos organismos expostos preferem o solo controle (fuga >60%). Respostas negativas (ou seja, as minhocas preferem o solo-teste) são consideradas como 0% de fuga. Para verificar a significância da resposta de fuga foi usado o teste estatístico de Fisher unicaudal ($p < 0,05$), utilizando a média \pm desvio padrão do número de organismos encontrado em cada seção do recipiente e do controle dual, utilizando o *software Action Stat*.

4.5.3 Teste de citotoxicidade e mutagenicidade com girinos de *Lithobates catesbeianus*

O teste do micronúcleo com o sangue de girinos de rã-touro (*L. catesbeianus*) seguiu a metodologia descrita por Gauthier *et al.* (2004) e Gonçalves *et al.* (2019), com

modificações. O projeto tem aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Protocolo 19.473.178-7).

Os girinos foram obtidos de uma fonte comercial, todos provenientes da mesma desova e com mesmo período de desenvolvimento (entre os estágios 26 e 30 de Gosner). Eles foram transportados até o laboratório de Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Francisco Beltrão, em sacos plásticos contendo a água de cultivo dos mesmos, a fim de evitar choques mecânicos, desidratação e stress.

Os girinos foram aclimatados em aquários (40 cm × 20 cm × 32 cm, com capacidade para 20 L) contendo 1 litro de água mineral por animal, por 7 dias. Após, os girinos foram separados em grupos de 5 girinos por aquário, juntamente com 5 litros das amostras (1 litro por girino). O grupo controle negativo foi realizado com 5 litros de água mineral. Os girinos permaneceram por 14 dias nestas soluções controle e tratamento, a temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, com aeração constante e foram alimentados com ração de peixe a cada 3 dias.

A cada 48 horas os parâmetros pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram determinados das soluções controle e tratamento, por meio de uma sonda multipômetro portátil Horiba U-52. Caso preciso, o pH era ajustado de forma a manter o mesmo entre 6,5 e 7,5, adequado ao crescimento e desenvolvimento dos animais.

A sobrevivência dos girinos foi registrada a cada 24 h. Os girinos foram considerados vivos quando apresentaram algum tipo de natação após um leve estímulo com uma haste de vidro. Os dados de mortalidade foram expressos em porcentagem de animais mortos no final do tratamento.

Após o tratamento crônico os girinos foram anestesiados e eutanasiados por aproximadamente 10 minutos em solução de benzocaína a 5%. Após a confirmação da morte, foi feita a retirada do sangue caudal dos girinos. O sangue foi colocado sobre uma lâmina limpa, seca e feito o esfregão do mesmo para a confecção da lâmina. As lâminas preparadas foram fixadas por 1 hora em metanol, secas à temperatura ambiente, fixadas com álcool 96% por 30 minutos, secas à temperatura ambiente por 12 horas, e coradas com Giemsa 20% diluído em tampão fosfato (pH 6,8), durante 20 minutos.

As lâminas foram analisadas determinando a frequência de micronúcleos e outras alterações nucleares (células segmentadas, células binucleadas, células com broto e células reniforme) em 1000 eritrócitos para cada girino, usando o microscópio óptico de luz, com aumento da objetiva de imersão (100 X). Foi feito o cálculo do número médio

de micronúcleos, do percentual de micronúcleos, do número médio de alterações nucleares e do percentual de alterações nucleares de cada grupo controle e tratado.

A análise estatística da média do número de micronúcleos e das alterações nucleares foi realizada pela análise de variância ANOVA e teste de normalidade, seguido do teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) (alta vazão) e Dunn ($p < 0,05$) (baixa vazão), utilizando o *software Action Stat*.

4.5.4 Teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células humana

As células de fígado humano (Huh7.5) foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm² contendo 10 mL de meio de cultura DMEM suplementado com 15% de soro bovino fetal e incubadas em estufa incubadora CO₂ (5%) a 37 °C.

Para realizar o teste da citotoxicidade foram utilizado o ensaio com MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-il)-2,5-diphenil tetrazolium bromide], de acordo com o protocolo de Mosmann (1983). Foram utilizadas placas de cultivo de 96 poços onde, em cada poço, foram semeadas aproximadamente 1×10^4 células. Após 24 horas, o meio de cultura de cada poço foi descartado e adicionado 100 µL de meio completo para os grupos: controle negativo (CO⁻) (meio de cultura), controle positivo (CO⁺) com o agente citotóxico metil metanosulfonato (MMS 500 µM) e as concentrações de 1:10 e 1:100 (v/v, amostra/meio) de cada amostra de água. No momento do uso as amostras foram filtradas utilizando microfiltros com um tamanho de poro de 0,22 µm, para máxima retenção de microrganismos que pudessem estar contidos nessas.

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas e, após esse tempo, o meio de cultura foi substituído por 100 µL de meio de cultura não suplementado, acrescido o reagente MTT (0,167 mg mL⁻¹). A placa foi incubada novamente por mais 4 horas, e na sequência, removido cuidadosamente o meio contendo MTT e aos poços foram adicionados 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) para a solubilização dos cristais de formazan. As leituras das absorbâncias foram realizadas em uma leitora de microplaca a 450 nm. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão das absorbâncias.

Foram calculados a média e o desvio padrão das absorbâncias, com análise de variância (*one way ANOVA*) e teste de normalidade, seguido do teste de comparação de médias de Dunnet ($p < 0,05$), utilizando o *software Action Stat*. Os valores percentuais de viabilidade celular (VC) foram estimados pela razão entre a absorbância do tratamento e a absorbância do controle negativo.

4.5.5 Teste citotoxicidade e mutagenicidade com *Allium cepa*

A citotoxicidade e mutagenicidade das amostras foi realizada com o bioindicador vegetal *A. cepa* (cebola). Foram utilizadas as células meristemáticas da raiz de *A. cepa* preparadas pela reação de Feulgen e coradas com o reativo de Schiff (Fiskesjö, 1985).

Inicialmente, os bulbos de cebola adquiridos de fonte comercial foram limpos. Então, a região da radícula de 5 cebolas (por grupo) foi colocada em contato com as amostras de água coletadas, o controle negativo (água mineral) e o controle positivo (solução de paracetamol 1 g L⁻¹), por 5 dias, sendo que todos os dias foi realizada a troca das soluções em contato com os bulbos.

Após, foi realizada a coleta das raízes, que foram fixadas com metanol e ácido acético na proporção 3:1 (v/v) por 24 h na geladeira, depois, foram lavadas com água destilada e sofreram hidrólise com 5 mL de ácido clorídrico 1 N a 60°C, por 10 min, em estufa a 60°C. Após a lavagem, as raízes foram coradas com 5 mL do reativo de Schiff por 45 min. Para o preparo das lâminas, foi utilizada a região meristemática das raízes, que foi macerada com orceína acética e coberta com lamínula.

As lâminas foram analisadas utilizando o teste “cego” em microscópios de luz (objetiva de 40x). Foram contadas mil células cada bulbo, totalizando 5000 células de cada grupo controle ou amostra, diferenciando-as de acordo com as fases mitóticas (Intérfase, Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase). Também foram avaliadas as células com alterações estruturais, como metáfases colchicínicas ou desorganizadas, anáfases multipolares ou com cromossomos soltos, micronúcleos e outras.

Para a determinação da citotoxicidade foi feito o cálculo do Índice Mitótico (IM%) (Equação 7). Os dados foram avaliados pela análise de variância ANOVA e teste de normalidade. Os dados foram transformados pela Transformação de Box-Cox e foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey (p<0,05), utilizando o *software Action Stat*.

$$IM\% = \left[\frac{(\text{número de células em divisão})}{(\text{número total de células analisadas})} \right] \times 100 \quad (7)$$

Para a determinação da mutagenicidade foi feito o cálculo do Índice de Mutagenicidade (IMG%) (Equação 8). Os dados foram avaliados pela análise de variância ANOVA e teste de normalidade, seguido do teste de comparação de médias de Dunn (p<0,05), utilizando o *software Action Stat*.

$$\text{IMG\%} = \left[\frac{(\text{número de células alteradas})}{(\text{número total de células analisadas})} \right] \times 100 \quad (8)$$

4.6 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A análise dos componentes principais foi realizada utilizando o programa *Past 4.03*. Para análise estatística e montagem da matriz de dados foram plotados os pontos de coleta, os dados de cada teste de ecotoxicidade e os parâmetros físico-químicos, teor de metais, agroquímicos e hormônios. Os valores foram expressos em diagramas de dispersão utilizando os componentes principais 1 e 2 com valores de Eigen e os dados das variáveis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ALTA VAZÃO

5.1.1 Índice Pluviométrico e Vazão

Segundo Czerniaski (2022), a vazão normal do Rio Marrecas-Francisco Beltrão-Paraná é $12 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Entretanto, entre os dias 17 e 18 de agosto de 2022 ocorreu a sétima maior chuva em volume (142 mm), desde 1974, segundo dados da estação meteorológica do Iapar (Pegoraro, 2022). Essa chuva, elevou a vazão do Rio Marrecas, chegando a $314 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Anexo I – Figura 1 e 2) no dia 19 de agosto de 2022 (data da coleta), aproximadamente 26 vezes maior que a vazão normal do rio.

5.1.2 Análises Físico-Químicas

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados dos parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas na alta vazão, obtidos *in loco* no momento da coleta.

Os valores de pH do presente estudo variaram entre 6,01 e 7,77. A Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) e a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011) estipulam valores de pH entre 6 a 9 e 6 a 9,5, respectivamente, para todas as classes de qualidade de água doce e para a potabilidade da água de consumo. Sendo assim, os resultados do presente estudo estão dentro dos limites preconizados pelas legislações vigentes.

Com relação aos valores de oxigênio dissolvido, todas as amostras de água dos rios (valores entre 9,24 e 11,20 mg L^{-1}) apresentavam-se dentro do valor exigido na Resolução ($> 5 \text{ mg L}^{-1}$). Já para a condutividade elétrica, as amostras das águas dos rios também estavam dentro do limite ($\leq 3200 \text{ mS cm}^{-1}$) da legislação proposta pela Resolução do Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Paraná nº 122/2023 (Paraná, 2023).

O parâmetro turbidez foi superior ao valor máximo permitido pela Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) para água doce classe 2 (100 NTU) para os pontos de amostragem 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas), sendo o maior valor observado no Ponto 7 (217,60 NTU), localizado após o desague da canalização do Rio Urutago. O Ponto 8, que é a amostra de água de consumo da população, coletada em uma residência no Bairro Industrial de Francisco Beltrão, também apresentou turbidez superior ($2,53 \pm 0,06 \text{ NTU}$) ao valor estabelecido pela Portaria nº 2914/2011 (Brasil, 2011) ($< 1 \text{ NTU}$).

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas em alta vazão.

| Pontos de amostragem | Ph | CE (mS cm ⁻¹) | Turbidez (NTU) | OD (mg L ⁻¹) | STD (g L ⁻¹) | Hormônios (μ L ⁻¹) | | | | Agroquímico (μ L ⁻¹) 2,4D |
|---|-----------|------------------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------|---------|---------|---|
| | | | | | | E1 | E2 | EE2 | E3 | |
| 1 | 6,20±0,32 | 49,20±5,97 | 200,25±67,93* | 9,62±0,53 | 31,80±3,96* | < 0,005 | 0,17 | 1,34 | < 0,001 | < 0,006 |
| 2 | 6,01±0,16 | 51,20±2,59 | 180,40±20,18* | 9,55±0,82 | 32,80±2,17* | < 0,005 | 0,66 | 1,37 | < 0,001 | < 0,006 |
| 3 | 6,10±0,20 | 46,60±2,61 | 183,20±11,17* | 9,49±0,65 | 30,00±2,24* | < 0,005 | 1,93 | 1,40 | 0,17 | 56,08* |
| 4 | 6,69±0,36 | 90,00±0,00 | 40,72±0,88 | 9,24±0,70 | 58,20±0,45* | < 0,005 | 0,48 | 1,39 | < 0,001 | 43,41* |
| 5 | 7,03±0,21 | 94,00±0,00 | 33,70±1,26 | 9,83±0,40 | 61,00±0,00* | 0,10 | 1,10 | 1,51 | 0,17 | 222,49* |
| 6 | 6,75±0,16 | 38,60±6,66 | 205,80±6,34* | 10,76±0,6 | 24,20±5,17* | < 0,005 | < 0,001 | 1,39 | < 0,001 | 197,17* |
| 7 | 7,77±0,42 | 46,40±0,55 | 217,60±2,70* | 11,20±0,2 | 30,20±0,45* | < 0,005 | < 0,001 | 1,48 | 0,16 | 91,65* |
| 8 | 7,64±0,00 | 0,19±0,00*** | 2,53±0,06*** | 8,73±0,52 | 0,122±0,00 | < 0,005 | < 0,001 | < 0,003 | < 0,001 | 79,29*** |
| CONAMA nº357/2005 | 6,0 a 9,0 | NL | < 100 | > 5 | < 0,5 | NL | NL | NL | NL | ≤30 |
| Resolução CERH nº 122/2023 | 6,0 a 9,0 | ≤ 3200 | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL |
| Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011 | 6,0 a 9,5 | NL | < 1 | NL | < 1 | NL | NL | NL | NL | ≤30 |

CE: Condutividade Elétrica; OD: Oxigênio Dissolvido; STD: Sólidos Totais Dissolvidos.

Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

ND: Não detectado. NL: Não legislado.

Diferente do valor permitido pela legislação vigente: *CONAMA nº357/2005; **Resolução CERH nº 122/2023; ***Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011.

Fonte: Aatoria Própria (2024).

Resultado semelhante foi obtido por Zonta *et al.* (2008), que mostraram que na época das chuvas houve uma queda no índice de qualidade das águas (IQA) do Rio Alegre, Espírito Santo, Brasil, devido ao grande aumento da turbidez e sólidos totais da água. Inclusive, no presente estudo, os sólidos totais dissolvidos também foram superiores ao estabelecido pela Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) para água doce classe 2 ($< 0,5 \text{ g L}^{-1}$), em todos os pontos de amostragem dos rios (Pontos 1 a 7). Este resultado era esperado pelo elevado volume de chuvas na época da coleta, que pode carrear as partículas sólidas pelo escoamento superficial ou ressuspender as partículas depositadas nos sedimentos dos rios. Silva *et al.* (2008), por exemplo, indicaram relação positiva entre precipitação e sólidos suspensos totais e Barreto *et al.* (2014) apontaram que os sólidos totais dissolvidos e a turbidez aumentaram linearmente com o incremento da vazão do rio.

Ainda de acordo com a Tabela 1, o hormônio estrona (E1) foi detectado apenas na foz do Rio Urutago (Ponto 5) na concentração de $0,10 \mu \text{ L}^{-1}$, os demais pontos de amostragem apresentaram valores abaixo do limite de detecção do método (LDM) ($< 0,005 \mu \text{ L}^{-1}$). Já o hormônio 17β -estradiol (E2) foi detectado nos Pontos 1, 2, 3, 4 e 5, com concentrações variando de $0,17$ a $1,10 \mu \text{ L}^{-1}$, sendo que as amostras dos Pontos 6, 7 e 8 ficaram abaixo do LDM ($< 0,001 \mu \text{ L}^{-1}$).

O hormônio 17α -etinilestradiol (EE2), foi o mais detectado nos pontos avaliados (todos com exceção do ponto 8), com concentrações variando entre $1,34$ a $1,51 \mu \text{ L}^{-1}$, sendo os maiores valores obtidos na foz do Rio Urutago (Ponto 5) e foz do Rio Lonqueador (Ponto 7), que deságua no Rio Marrecas. O Ponto 8 (água para consumo da população) ficou abaixo do LDM ($< 0,003 \mu \text{ L}^{-1}$). O hormônio estriol (E3) foi detectado apenas nos Pontos 3, 5 e 7, com valores de $0,17$, $0,17$ e $0,16 \mu \text{ L}^{-1}$, respectivamente. Os demais pontos de amostragem ficaram abaixo do LDM ($< 0,001 \mu \text{ L}^{-1}$).

Segundo Torres *et al.* (2021) os hormônios estrogênicos (E1, E2, EE2, E3) foram detectados em amostras de água superficial, subterrânea, solo e sedimento em concentrações entre ng L^{-1} a mg L^{-1} e, mesmo em baixas concentrações, podem desregular o sistema endócrino de diversos organismos. Essas concentrações de hormônios encontrada nas águas do rio, pode ser devido a sua excreção via urina e fezes, na forma de metabólitos ou substância ativa inalterada.

Na bacia do Rio Dehui, localizado na China, também foi encontrado os hormônios estrogênicos E2, EE2 e E3 com concentrações de $11,20$, $16,71$ e $10,17 \text{ ng L}^{-1}$,

respectivamente (Zhang *et al.*, 2022). Ainda segundo o autor, o hormônio E2 pode ser proveniente de animais, enquanto o EE2 e E3 pode ser derivado de atividades humanas, e esses hormônios podem apresentar elevados riscos ao meio ambiente. Desta forma, observa-se contaminação nas amostras das águas dos Rios Marrecas, Lonqueador e Urutago tanto de origem animal como humana.

Vale destacar, que a técnica utilizada para determinação dos hormônios estrogênicos, do presente trabalho, foram validadas pelos métodos de linearidade, exatidão e precisão (Apêndice A – Tabela 1 e 2).

Além dos hormônios, foi possível detectar o agroquímico 2,4D em valores acima do permitido pela Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) ($\leq 30 \mu \text{L}^{-1}$) e a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011) ($\leq 30 \mu \text{L}^{-1}$) nos pontos de amostragem 3, 4, 5, 6, 7 e 8, variando de 43,41 a 222,49 μL^{-1} , sendo o maior valor novamente na foz do Rio Urutago (Ponto 5). Além disso, a concentração do agroquímico no Ponto 6 também foi elevada (197,17 μL^{-1}), podendo ter influência da localização do ponto, que está próximo a uma região agricultável localizada nesta região da área urbana do município. Somente os Pontos 1 e 2 ficaram abaixo do LDM ($< 0,006 \mu \text{g L}^{-1}$). Vale ressaltar que a técnica utilizada para determinação do agroquímico 2,4D também foi validada pelos métodos de linearidade, exatidão e precisão (Apêndice A – Tabela 3 e 4).

Segundo Brovini *et al.* (2021) faltam informações sobre a concentração do herbicida 2,4D (segundo agroquímico mais vendido no Brasil) em águas doces superficiais no Brasil. As concentrações de 2,4D no Brasil geralmente são semelhantes às encontradas em outros países (Brovini *et al.* 2021), como Canadá (1,68 $\mu \text{g L}^{-1}$) Argentina (0,99 $\mu \text{g L}^{-1}$), França (0,2 $\mu \text{g L}^{-1}$) e Espanha (0,024 $\mu \text{g L}^{-1}$) (Botta *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 2017; Metcalfe *et al.*, 2019). Entretanto, foi encontrada concentração elevada em água superficial no estado de Santa Catarina (74,5 $\mu \text{g L}^{-1}$), sendo que esta concentração foi encontrada perto de pequenas cidades localizadas em áreas rurais (Pinheiro *et al.*, 2010). Vale notar que os dados do presente estudo indicam quantidades ainda maiores deste agroquímico nas amostras de água dos Rios Marrecas e Urutago e na água de consumo da população (Ponto 8).

Estes resultados merecem atenção pois, embora a maior parte das concentrações ambientais registradas do 2,4D no Brasil estivessem abaixo dos limites permitidos pela legislação brasileira, já são suficientes para representar um elevado risco para os ecossistemas aquáticos (Brovini *et al.* 2021). Assim, a utilização crescente e contínua de

agroquímicos na agricultura está elevando a sua concentração, contaminando a água e o solo, além de impactar a saúde humana por meio da cadeia alimentar (Al-Shaalan *et al.*, 2019).

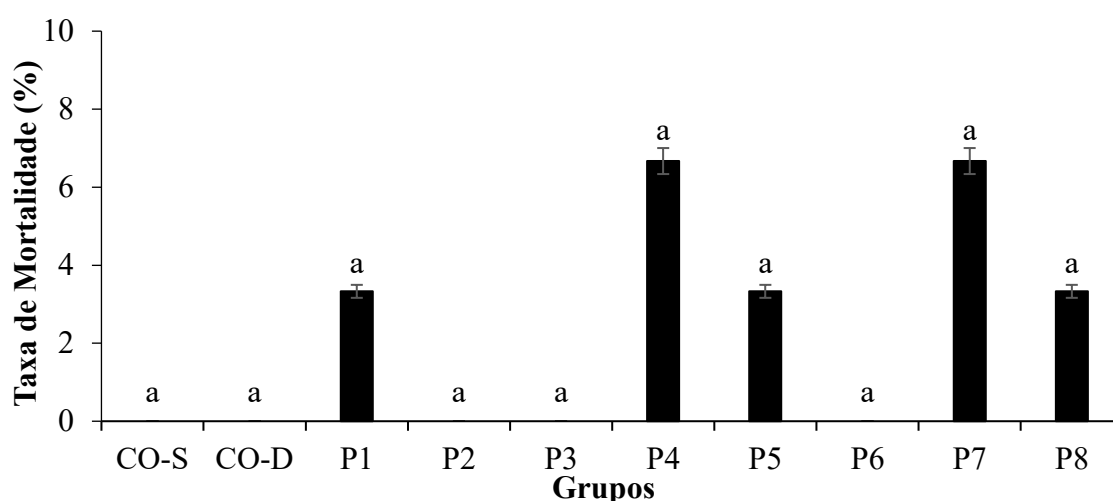
Em ambientes aquáticos, os contaminantes químicos sofrem muitas interações químicas ou biológicas, levando à sua transformação. Entretanto, muito destes poluentes não são degradáveis e possuem uma elevada persistência nos ecossistemas aquáticos (Thushari; Senevirathna, 2020). Os agroquímicos são considerados contaminantes químicos potentes no ambiente aquático. A sua toxicidade afeta adversamente o crescimento, fisiologia, reprodução, imunidade e induz alterações histopatológicas graves de vários tecidos de organismos aquáticos (Rohani, 2023), afetando diretamente a saúde humana e a biodiversidade (Intisar *et al.*, 2022).

5.1.3 Ensaios Ecotoxicológicos

5.1.3.1 *A. salina*

Os resultados do teste de imobilidade/mortalidade utilizando o microcrustáceo *A. salina* (Figura 4) mostram que as amostras coletadas na alta vazão não apresentaram efeito tóxico ao organismo teste, ou seja, não apresentaram número médio de organismos mortos/imóveis estatisticamente diferente do controle negativo.

Figura 4 – Número médio de organismos mortos/imóveis pelo ensaio de toxicidade com *A. salina* das amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO-S: Controle salino; CO-D: Controle doce; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Dunn ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Entretanto, os Pontos 4 (foz do Lonqueador) e 7 (Rio Marrecas após o desague da canalização do Rio Urutago) apresentaram taxas de mortalidade de 6,67%. Estes foram os pontos de amostragem com elevado sólidos totais dissolvidos (P4 e P7), turbidez (P7), teor dos hormônios E2 (P3), EE2 (P3 e P7) e E3 (P7) e teor do agroquímicos 2,4D acima do limite permitido pela legislação (P4 e P7) (Tabela 1). Inclusive, a análise de componentes principais (PCA) indicou correlação positiva da taxa de mortalidade do bioindicador *A. salina* com o agroquímico 2,4D, o hormônio estrogênio E3, pH, sólidos totais dissolvido e condutividade elétrica (Figura 5A).

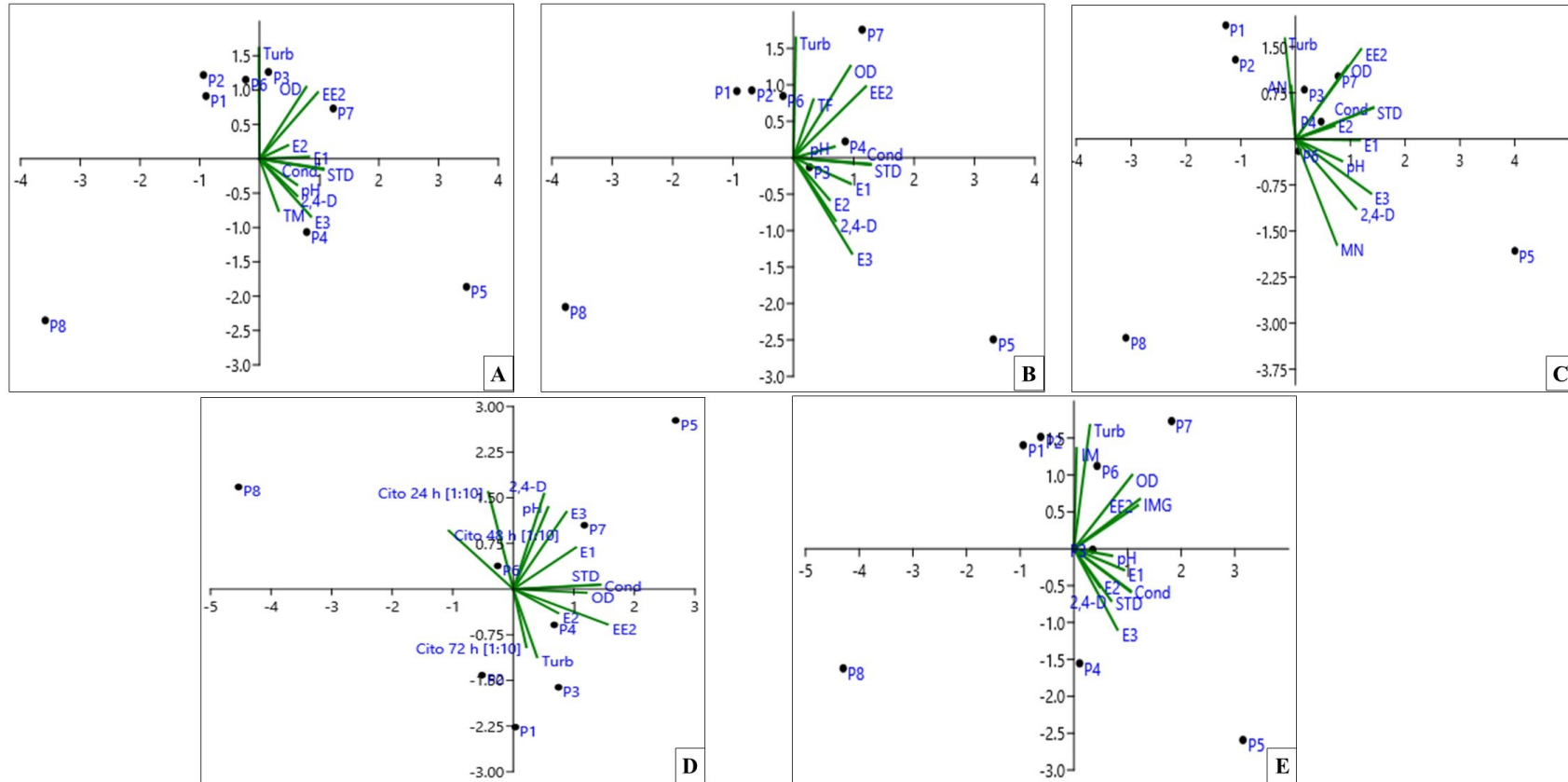
A toxicidade de águas contaminadas por agroquímicos ao bioindicador *A. salina*, foi avaliada por outros estudos (Cruzeiro *et al.*, 2017; Gambardella *et al.*, 2018; Alves *et al.*, 2019; Ivorra *et al.*, 2019). A exposição em longo prazo (72, 96 e 192 h) as concentrações de agroquímicos afetam significativamente a sobrevivência dos náuplios, aumentando assim a taxa de mortalidade da *A. salina* (Gambardella *et al.*, 2018). De acordo com Cruzeiro *et al.* (2017), ao avaliar a concentração máxima de misturas de agroquímicos, identificou-se um potencial de toxicidade a exposição de curto prazo (24 horas) em *A. salina*, afetando a locomoção do náuplios.

Silva e Abessa (2019) avaliaram a toxicidade do hormônio EE2 através da sobrevivência para dois crustáceos marinhos (*A. salina* e *Mysidopsis juniae*) e, segundo aos autores, o EE2 foi o mais tóxico, dentre os contaminantes avaliados. Entretanto, Curvas de calibração para determinação do agroquímico 2,4D e dos hormônios estrogênios ensaios ecotoxicológicos com os hormônios naturais (E1, E2 e E3), ainda são escassos na literatura.

5.1.3.2 *E. fetida*

Os resultados obtidos para o ensaio de toxicidade com o bioindicador *E. fetida* com as amostras de água obtidas em alta vazão estão plotados nas Figuras 6 e 7. Primeiramente, os dados da Figura 6 mostram que o experimento pode ser validado, porque houve distribuição homogênea das minhocas no solo controle negativo. Além disso, verificou-se que apenas o Ponto 4 (foz do Rio Lonqueador) foi tóxico ao bioindicador *E. fetida*, apresentado taxa de fuga de 70% (Figura 7). De acordo com a norma NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011) o solo é considerado tóxico quando a taxa de fuga for maior que 60%. Entretanto, a análise estatística realizada pelo teste de Fisher unicaudal não identificou diferenças estatísticas significativas.

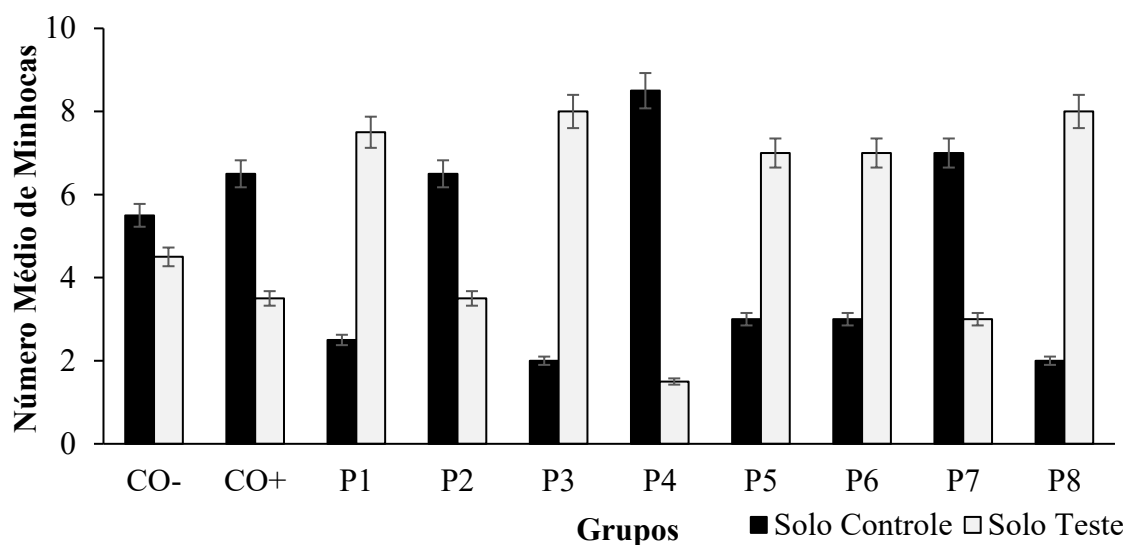
Figura 5 – Análise de componentes principais das amostras de água coletadas na alta vazão.



Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. A: *Artemia salina*; B: *Eisenia fetida*; C: *Lithobates catesbeianus*; D: Cultura celular; E: *Allium cepa*; pH: Potencial Hidrogeniônico; Turb: Turbidez; OD: Oxigênio Dissolvido; STD: Sólidos Totais Dissolvidos. Cond: Condutividade Elétrica; E1: Hormônio Estrona; E2: Hormônio 17 β -estradiol; EE2: Hormônio 17 α -etinilestradiol; E3: Hormônio Estriol; 2,4-D: Agroquímico 2,4D; TM: Taxa de Mortalidade; TF: Taxa de Fuga; AN: Alterações Nucleares; MN: Micronúcleos; Cito: Citotoxicidade; IM: Índice Mitótico; IMG: Índice Mutagênico.

Fonte: Autoria Própria (2024).

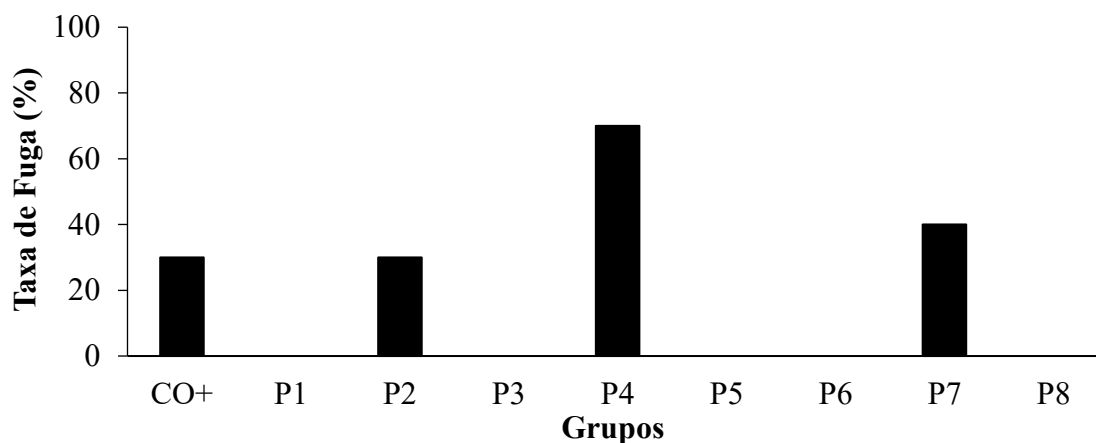
Figura 6 – Números médios dos organismos *E. fetida* distribuídos nos solos controle e teste das amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Figura 7 – Taxa de fuga dos organismos *E. fetida* das amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Como destacado anteriormente, o Ponto 4 também resultou em mortalidade da *A. salina* e elevados sólidos totais dissolvidos, hormônios E2 e EE2 e 2,4D (Tabela 1). A PCA (Figura 5B) indicou correlação positiva da taxa de fuga com a turbidez, oxigênio dissolvido e o hormônio estrogênio EE2. Maranhão *et al.* (2014) também comprovaram a toxicidade, pela taxa de mortalidade, de poliquetas da espécie *Hediste diversicolor* após

exposição as concentrações de 0,01 e 10,0 ng g⁻¹ de EE2. De acordo com Markman *et al.* (2007), as minhocas podem ser usadas como bioindicadores para desreguladores endócrinos, como o E2, pois estes animais acumulam esses compostos em níveis elevados, indicando ainda, uma possível transferência para a cadeia alimentar terrestre.

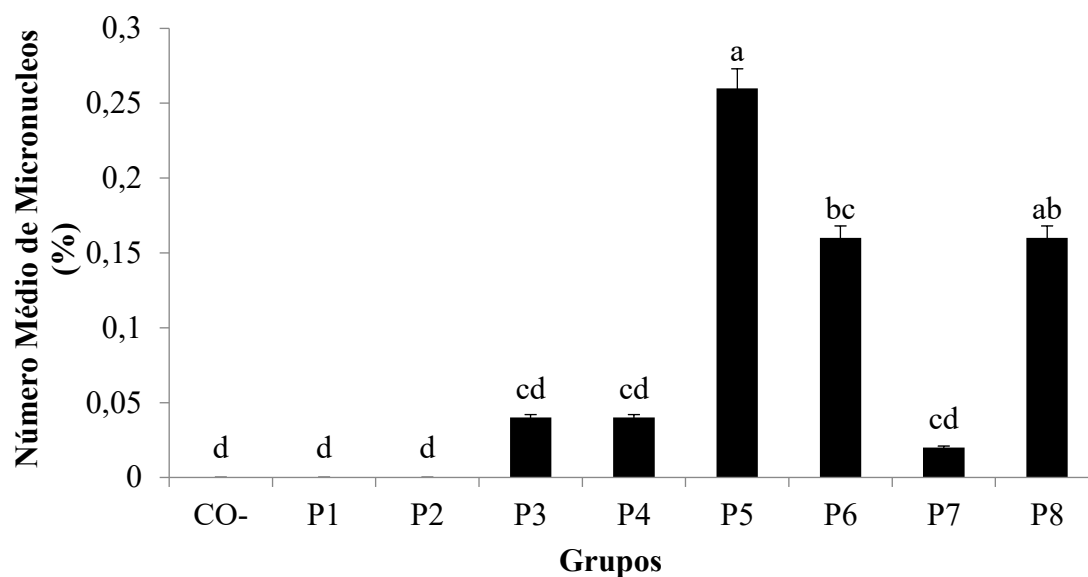
5.1.3.3 *L. catesbeianus*

A análise das lâminas dos eritrócitos de *L. catesbeianus* revelou presença de micronúcleos nos Pontos 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Entretanto, estatisticamente, apenas o Ponto 5 (foz do Rio Urutago), Ponto 6 (região central da cidade) e Ponto 8 (água residencial localizada no Bairro Industrial) apresentaram percentuais médios de micronúcleos superiores aos do controle negativo (água mineral), indicando um efeito mutagênico destas amostras (Figura 8). A presença de micronúcleos em eritrócitos de girinos de *L. catesbeianus* expostos a amostras de água do presente estudo indicam a presença de substâncias capazes de induzindo danos ao material genético desses organismos. Santos *et al.* (2021), avaliando as águas do Rio Marrecas nas quatro estações climáticas do ano também observaram que o Ponto 6 (do presente estudo) apresentou efeito mutagênico para girinos de *L. catesbeianus* no verão, outono e inverno.

Os Pontos 5, 6 e 8 do presente estudo foram os pontos de coleta com elevados sólidos totais dissolvidos, acima do permitido pela legislação (P5 e P6), além de elevado teor dos hormônios E1, E2 e E3 (P5), EE2 (P5 e P6) e os maiores teores do agroquímicos 2,4D dentre todos os Pontos de coleta (P5 e P6), acima do limite permitido pela legislação (P5, P6 e P8) (Tabela 1). Inclusive, a PCA apresentou correlação positiva entre a formação dos micronúcleos em *L. catesbeianus* com o hormônio E3, o agroquímico 2,4D e o pH. Vale destacar que o Ponto 6 situa-se próximo de uma área agricultável e, a elevada quantidade de chuvas na época da coleta das amostras pode ter carregado poluentes para as águas do Rio.

Girinos de *Boana faber* e *Leptodactylus latrans* expostos ao glifosato e ao 2,4D também apresentaram mais micronúcleos e anormalidades nucleares do que os girinos controle (Pavan *et al.*, 2019). De acordo com Mesak *et al.* (2018) o 2,4D têm efeito mutagênico em girinos de rã-touro, mesmo em baixas concentrações. Assim, o resultado do presente estudo merece atenção, pois até mesmo a amostra de água tratada pela ETA continha o agroquímico 2,4D (Tabela 1) e apresentou efeito mutagênico para os anfíbios do presente estudo.

Figura 8 – Porcentagem média de micronúcleos em *L. catesbeianus* expostos as amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo. Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Curi *et al.* (2019) também avaliou a exposição crônica ao herbicida (2,4D) e, segundo os autores, o 2,4D alterou a sobrevivência dos girinos (*Physalaemus albonotatus*) expostos, causou diversas anormalidades morfológicas e alterações histológicas hepáticas, principalmente nas maiores concentrações testadas. No presente estudo, apesar dos efeitos mutagênicos identificados nenhum ponto de coleta resultou em alteração na sobrevivência dos girinos de rã-touro, pois taxa de mortalidade de todos os grupos foi 0%.

Além dos micronúcleos, outras alterações nucleares também foram encontradas nos eritrócitos de girinos de *L. catesbeianus* do presente estudo, sendo que todos os pontos analisados revelaram a presença de uma ou mais alterações nucleares nos eritrócitos (Tabela 2). Entretanto, estatisticamente, somente o Ponto 1, local de captação da água do Rio Marrecas pela ETA do município apresentou efeito citotóxico para os girinos de rã-touro (Figura 9), sendo a cromatina descondensada a alteração nuclear mais frequente ($20,20 \pm 7,60$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Número médios das alterações nucleares observadas nos eritrócitos dos *L. catesbeianus* expostos às amostras de água coletadas na alta vazão.

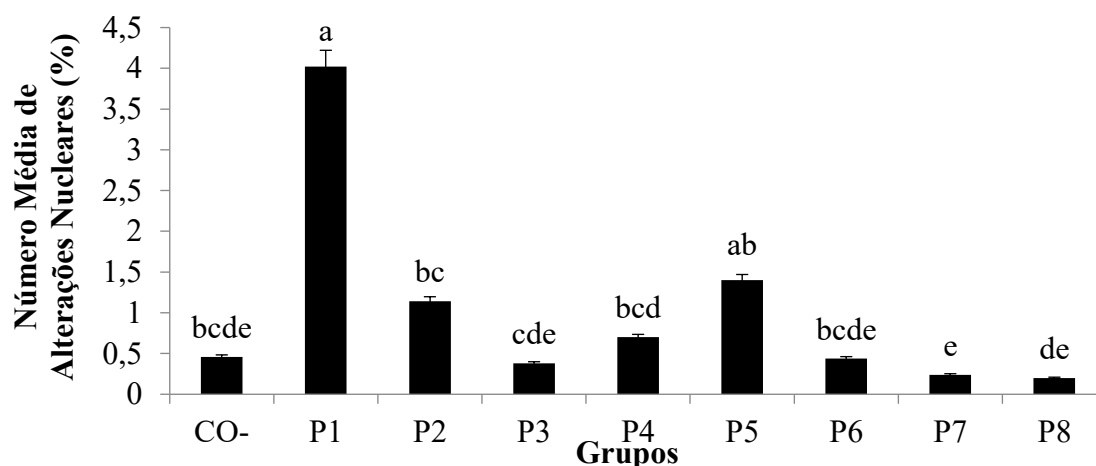
| Pontos de amostragem | Binucleada | Trinucleada | Segmentada | Broto | Cromatina descondensada | Reniforme |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------|--------------------------------|------------------|
| CO- | 4,60±1,62 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P1 | 9,20±2,92 | 5,20±2,49 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 20,20±7,60 | 0,00±0,00 |
| P2 | 4,00±1,10 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 4,00±1,67 | 0,00±0,00 |
| P3 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 3,60±2,33 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P4 | 3,00±3,8 | 0,00±0,00 | 3,80±1,33 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P5 | 3,40±2,15 | 0,00±0,00 | 7,80 ±2,64 | 2,00±1,10 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P6 | 1,40±1,02 | 0,00±0,00 | 2,20±0,98 | 0,80±1,17 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P7 | 1,20±2,40 | 0,00±0,00 | 0,60±0,80 | 0,60±1,20 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| P8 | 1,20± 1,60 | 0,00±0,00 | 0,80±0,98 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |

Grupos: CO-: Controle negativo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

Fonte: Autoria Própria (2024).

O Ponto 1 apresentava elevada turbidez e sólidos totais dissolvidos acima do permitido pela legislação, além de presença dos hormônios E2, EE2 (Tabela 1), sendo que a PCA indicou correlação positiva entre alterações nucleares e a turbidez (Figura 5C). Salla *et al.* (2016) analisaram o efeito da exposição aguda (96h) do hormônio estrogênio sintético (EE2) em girinos (*Lithobates catesbeianus*) e verificaram que o mesmo induziu taquicardia, apontando efeito direto no coração, alterou a função cardíaca, aumentou a força cardíaca, elevou a demanda energética cardíaca, reduzindo a disponibilidade de energia para outros processos morfogênicos.

Figura 9 – Porcentagem média de alterações nucleares de *L. catesbeianus* expostos as amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: Aatoria Própria (2024).

5.1.3.4 Células Huh7.5

Os dados da Tabela 3 apresentam os resultados das absorvâncias médias dos tratamentos das células de fígado humano (Huh7.5) com as amostras de água coletadas na alta vazão.

A análise estatística mostra que a maior concentração [1:10] do Ponto 3 (P3 – localizados na região central da cidade), no maior tempo de avaliação (72 horas), apresentou atividade proliferativa, com absorvâncias médias estatisticamente maiores que a do controle negativo, e com viabilidade celular de 163,16% (Tabela 3). A concentração de [1:100] do Ponto 8 (P8 – água tratada pela ETA), no tempo de 24 horas, também

apresentou atividade proliferativa, com absorvância média estatisticamente maior que a do controle negativo, e com viabilidade celular de 131,66% (Tabela 3). Estes resultados indicam um aumento na divisão celular ou na atividade mitocondrial das células expostas à estas amostras de água, possivelmente, devido ao estresse celular causado pela exposição a algum poluente presente nas mesmas.

Tabela 3 – Percentual de viabilidade celular (VC) de células Huh7.5 tratadas com as concentrações (1:10, 1:100) das amostras de água coletadas em alta vazão, por 24,48 e 72 horas.

| Grupos | Célula Huh7.5 | | |
|------------|---------------|--------|---------|
| | VC [%] | | |
| | 24 h | 48 h | 72 h |
| CO- | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| CO+ | 57,79* | 47,01* | 30,24* |
| P1 [1:10] | 84,94 | 88,64 | 108,22 |
| P1 [1:100] | 80,60 | 86,96 | 96,28 |
| P2 [1:10] | 94,98 | 106,70 | 100,55 |
| P2 [1:100] | 106,08 | 86,42 | 109,72 |
| P3 [1:10] | 97,97 | 101,75 | 163,16* |
| P3 [1:100] | 117,57 | 101,14 | 88,81 |
| P4 [1:10] | 95,27 | 103,03 | 134,88 |
| P4 [1:100] | 104,92 | 103,03 | 93,14 |
| P5 [1:10] | 105,50 | 105,44 | 94,50 |
| P5 [1:100] | 93,05 | 97,77 | 91,07 |
| P6 [1:10] | 108,88 | 94,44 | 133,70 |
| P6 [1:100] | 120,94 | 115,85 | 111,62 |
| P7 [1:10] | 116,60 | 93,48 | 99,43 |
| P7 [1:100] | 121,52 | 111,96 | 94,50 |
| P8 [1:10] | 115,15 | 121,05 | 100,26 |
| P8 [1:100] | 131,66* | 106,40 | 100,73 |

CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. * Resultado estatisticamente diferente do controle negativo (Teste de Dunnet, $p < 0,05$).

Fonte: Aatoria própria (2024).

Estes pontos de coleta continuam com elevada turbidez e elevado teor do agroquímico 2,4D (P3 e P8), condutividade elétrica (P8), sólidos totais dissolvidos e elevados teores dos hormônios E2, EE2 e E3 (P3) (Tabela 1). Vale destacar que o Ponto 8 também apresentou efeito mutagênico para os girinos de *L. catesbeianus*. E, semelhante

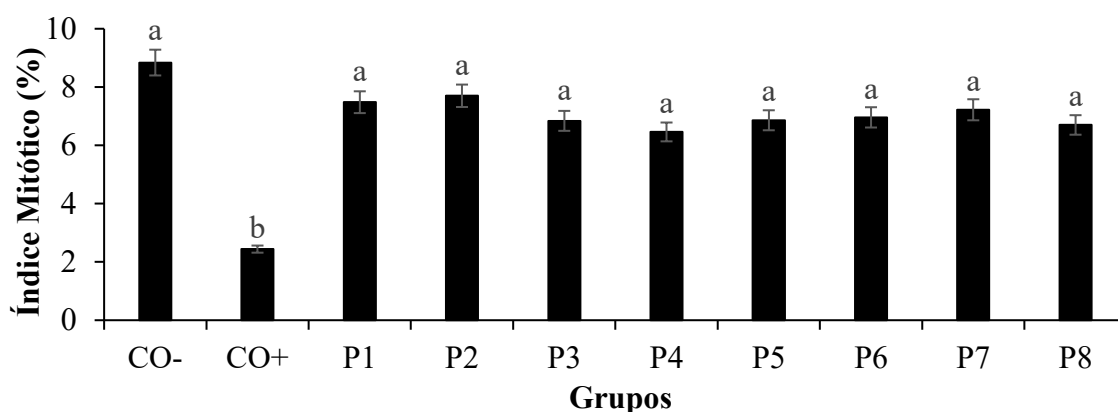
ao observado para a mutagenicidade dos anfíbios, a PCA apresentou correlação positiva das absorvâncias médias do teste de citotoxicidade (para a maior concentração) com o agroquímico 2,4D e o pH (tempo de 48h) e a turbidez (tempo de 72h) (Figura 5D).

O Ponto 3 trata-se do local do Rio Marrecas da região central do município. Foram os Pontos 3 e 8 (água coletada em uma residência abastecida pela ETA do município) que apresentaram estes efeitos para a linhagem celular humana. Segundo Trintinaglia *et al.* (2015), os ensaios de citotoxicidade usando culturas de células são uma forma de analisar a toxicidade biológica de águas superficiais, auxiliando no controle da qualidade da água. E, como observado por Picini *et al.* (2022), as atividades antropogênicas podem resultar em má qualidade da maioria das fontes de água que, por sua vez, exigem sistemas sofisticados e etapas de purificação adicionais para a entrega de água potável à população.

5.1.3.5 *A. cepa*

Os resultados do teste de citotoxicidade (Figura 10) e mutagenicidade (Figura 11) das células meristemáticas de *A. cepa* expostas as amostras de água coletadas em alta vazão mostram que os grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa do controle negativo para os índices mitóticos e índices de mutagenicidade, respectivamente.

Figura 10 – Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) da *A. cepa* exposta as amostras de água coletadas na alta vazão.



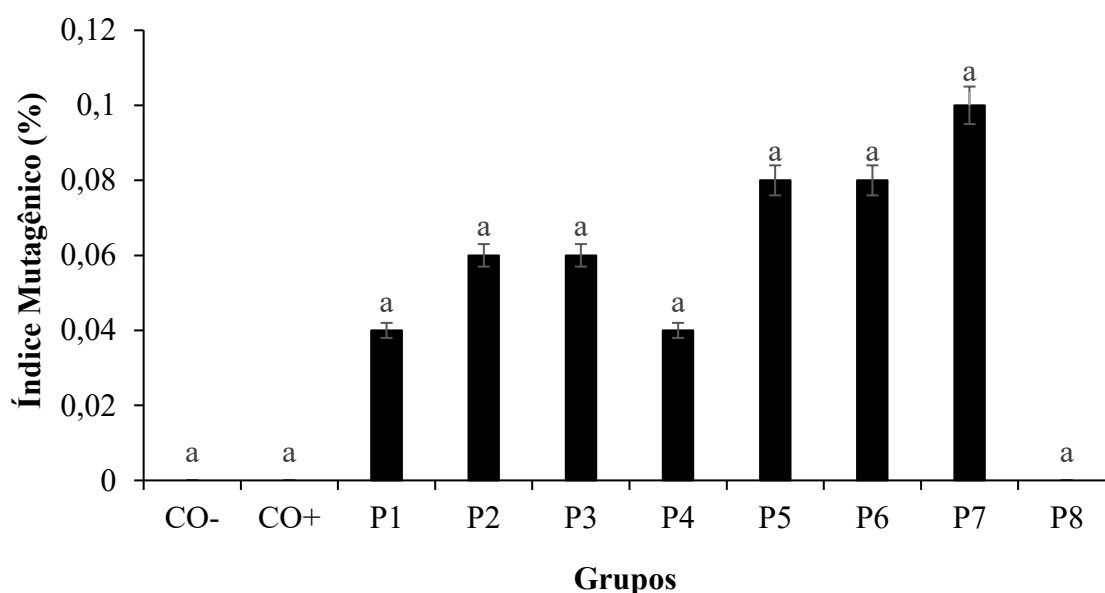
Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Desta forma, apesar de apresentarem efeitos ecotoxicológicos para outros bioindicadores e parâmetros físico-químicos alterados, as amostras não afetaram este bioindicador vegetal.

O índice mitótico (IM%) pode ser usado como biomarcador para verificar o nível de citotoxicidade de compostos em testes de biomonitoramento ambiental. Por outro lado, o índice mutagênico (IMG%) é o potencial genotóxico das amostras avaliado pela ocorrência de aberrações cromossômicas e pela formação de micronúcleos nas células da ponta da raiz de *A. cepa*.

Figura 11 – Percentuais médios dos índices mutagênicos (IMG%) da *A. cepa* exposta as amostras de água coletadas na alta vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

5.2 BAIXA VAZÃO

5.2.1 Índice Pluviométrico e Vazão

O município de Francisco Beltrão-Paraná apresentou um período de estiagem (pouca precipitação), ocasionando uma redução na vazão do Rio Marrecas, sendo que no dia 08 de agosto de 2023 (data da coleta) a vazão era $5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Anexo I – Figura 3 e 4), aproximadamente 2,4 vezes menor que a vazão normal do rio ($12 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) (Czerniaski, 2022).

5.2.2 Análises Físico-Químicas

Os resultados dos parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas na baixa vazão, obtidos *in loco* no momento da coleta estão apresentados na Tabela 4.

A Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) estipula valores de pH entre 6 e 9 para todas as classes de qualidade de água doce e, a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011) estipulam valores de pH entre 6 e 9,5 para a potabilidade da água de consumo. Os valores de pH dos pontos de amostragem da baixa vazão variaram entre 7,12 e 7,67, estando dentro dos limites preconizados pelas legislações vigentes.

Em relação aos valores de oxigênio dissolvido (entre 6,70 e 11,60 mg L⁻¹) e condutividade elétrica (entre 0,05 e 0,12 mS cm⁻¹) todas as amostras de água dos rios apresentavam-se dentro dos valores exigidos pelas resoluções do CONAMA (> 5 mg L⁻¹) (BRASIL, 2005) e do Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Paraná nº 122/2023 (≤ 3200 mS cm⁻¹) (Paraná, 2023), respectivamente.

Os valores de turbidez e de sólidos totais dissolvidos foram superiores aos estipulados pela Resolução do CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) para a água doce classe 2 (turbidez: ≤ 100 NTU, sólidos totais dissolvidos: ≤ 0,5 g L⁻¹) apenas para o ponto de amostragem 7, localizado no último ponto de coleta do Rio Marrecas (a jusante do município), após o desague da canalização do Rio Urutago. Zonta *et al.* (2008) também constataram que a jusante dos distritos a água do Rio Alegre, Espírito Santo, Brasil apresentava pior qualidade que a montante, resultantes do despejo no curso d'água de esgoto doméstico sem prévio tratamento. Frinhani e Carvalho (2010) também mostraram que o Índice de Qualidade de Água (IQA) das águas do Rio do Tigre, Joaçaba, Brasil foram piores nas áreas urbanas, sendo o ponto de coleta mais a jusante o que apresentou os piores índices.

Com relação aos hormônios estrógenos, foi possível detectar a presença dos hormônios E1 e E2 em todos os pontos de amostragem avaliados, com concentrações variando de 0,19 a 0,44 μ L⁻¹ e 0,09 a 5,01 μ L⁻¹, respectivamente (Tabela 4). O hormônio EE2 foi detectado nos pontos de amostragem 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas), 5 (Rio Urutago) e 8 (água residencial de consumo da população), com concentrações variando de 0,16 a 0,39 μ L⁻¹. Vale destacar que a maior concentração (0,39 μ L⁻¹) do EE2 foi identificada no Ponto 8, coletada na residência abastecida pela água do Rio Marrecas tratada pela ETA do município. Além disso, o hormônio E3 foi detectado apenas nos pontos amostragem 6 (0,25 μ L⁻¹) e 8 (0,19 μ L⁻¹).

Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas em baixa vazão.

| Pontos de amostragem | pH | C (mS cm ⁻¹) | Turbidez (NTU) | OD (mg L ⁻¹) | STD (g L ⁻¹) | Hormônios (μ L ⁻¹) | | | | Agroquímico (μ L ⁻¹) 2,4D |
|---|-----------|-----------------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------|---------|---------|---|
| | | | | | | E1 | E2 | EE2 | E3 | |
| 1 | 7,67±0,02 | 0,05±0,02 | 48,40±0,00 | 11,60±1,21 | 0,03±0,01 | 0,24 | 0,16 | 0,22 | < 0,001 | < 0,006 |
| 2 | 7,47±0,06 | 0,06±0,00 | 1,87±0,74 | 9,85±1,09 | 0,04±0,00 | 0,19 | 0,09 | 0,16 | < 0,001 | < 0,006 |
| 3 | 7,30±0,12 | 0,06±0,01 | 8,47±9,47 | 9,17±2,21 | 0,04±0,01 | 0,30 | 0,13 | 0,24 | < 0,001 | < 0,006 |
| 4 | 7,26±0,05 | 0,11±0,03 | 13,20±9,87 | 8,59±1,61 | 0,07±0,02 | 0,30 | 5,01 | < 0,003 | < 0,001 | < 0,006 |
| 5 | 7,12±0,17 | 0,12±0,02 | 10,10±15,67 | 11,01±0,04 | 0,08±0,02 | 0,31 | 2,95 | 0,28 | < 0,001 | < 0,006 |
| 6 | 7,15±0,03 | 0,09±0,00 | 1,33±6,34 | 6,70±0,74 | 0,06±0,00 | 0,44 | 1,12 | 0,39 | 0,25 | < 0,006 |
| 7 | 7,61±0,32 | 0,09±0,00 | 216±2,83* | 11,35±0,2 | 29,33±0,58* | 0,31 | 0,41 | 0,32 | < 0,001 | < 0,006 |
| 8 | 7,21±0,05 | 0,09±0,00 | 0,1±0,1 | 7,56±0,38 | 0,06±0,00 | 0,31 | 0,73 | 0,39 | 0,19 | 8 |
| CONAMA nº357/2005 | 6,0 a 9,0 | NL | ≤ 100 | > 5 | ≤ 0,5 | NL | NL | NL | NL | ≤30 |
| Resolução CERH nº 122/2023 | 6,0 a 9,0 | ≤ 3200 | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL |
| Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011 | 6,0 a 9,5 | NL | ≤1 | NL | ≤ 1 | NL | NL | NL | NL | ≤30 |

Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

ND: Não detectado. NL: Não legislado.

Diferente do valor permitido pela legislação vigente: *CONAMA nº357/2005; ** Resolução CERH nº 122/2023; *** Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Na Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011), para avaliação do padrão de potabilidade da água para consumo humano, os limites da presença dos hormônios estrogênicos ainda não estão legislados, ou seja, não existe um limite máximo padronizado. Entretanto, a presença desses desreguladores endócrinos no ambiente, principalmente no sistema aquático, é considerado um problema significativo, devido ao fato desses compostos induzirem efeitos adversos nas funções hormonais de humanos e outros organismos (França *et al.*, 2020).

Existem pouco estudos sobre os efeitos ecotoxicológicos dos hormônios (E1, E2, EE2 e E3), sua dispersão ambiental e danos em termos quantitativos (Torres *et al.*, 2021). De acordo com França *et al.* (2020), a elevada distribuição dos hormônios estrogênicos no meio ambiente podem ser devido à sua remoção incompleta em estações de tratamento de esgoto (ETE). Dessa forma, é essencial avaliar os riscos potenciais dos hormônios para os ecossistemas aquáticos (Czarny *et al.*, 2019) e sua toxicidade nos organismos.

O presente trabalho também avaliou a presença do agroquímico 2,4D nas águas coletadas. Este foi detectado apenas no ponto de amostragem 8 (água de consumo da população) ($8 \mu \text{L}^{-1}$), mas em valor bem inferior ao limite ($\leq 30 \mu \text{L}^{-1}$) estabelecido pela Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011), para avaliação do padrão de potabilidade da água. Além disso, na baixa vazão, todas as amostras de água apresentaram valores inferiores ao Limite de Quantificação do Método (LQM) ou Limite de Detecção do Método (LDM) para os demais agroquímicos avaliados (Alaclor, Aldicarbe+Aldulfona+Aldulfóxido, Ametrina, Atrazina+S-Clorotriazinas, Carbendazim, Carbofuano, Ciproconazol, Clorpirifós+clorpirifós-oxon, Difenconazol, Dimetoato+ometoato, Diuron, Epoxiconazol, Fipronil, Flutriafol, Hidroxi-Atrazina, Melationa, Metamidofós+Acefato, Metolacoloro, Metribuzim, Molinato, Pentaclorofenol, Profenofós, Propargito, Protioconazol+ProtioconazolDestio, Simazina, Tebuconazol, Terbufós, Tiametoxam e Tiocarbe) em todos os pontos de amostragem.

Segundo Brovini *et al.* (2021) 65% dos estados brasileiros apresentam risco ambiental associado ao agroquímico 2,4D, sendo que os maiores riscos foram na região Sul, principalmente no Paraná, devido apresentar as maiores vendas do princípio ativo. Assim, possivelmente, a baixa detecção dos agroquímicos nas amostras de água avaliadas deve-se a época de coleta das amostras, pois a ausência de chuvas evitou a lixiviação destes compostos para os rios em estudo. De acordo com Masís *et al.* (2008), a

precipitação é um fator influente na remoção de resíduos agroquímicos e sua deposição nos corpos hídricos.

Com relação a presença de metais nas amostras de água da baixa vazão, dos metais avaliados (alumínio dissolvido, alumínio total, antimônio total, arsênio dissolvido, arsênio total, bário dissolvido, bário total, cádmio total, chumbo dissolvido, chumbo total, cobre total, cromo dissolvido, cromo total, ferro dissolvido, ferro total, fósforo total, manganês dissolvido, manganês total, mercúrio total, níquel total, selênio dissolvido, selênio total, sódio total, urânio total e zinco dissolvido) foi detectada a presença de apenas seis deles (Tabela 5), sendo que as concentrações estavam acima do limite permitido pela legislação do CONAMA nº357/2005 (Brasil, 2005) e pela Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011 (Brasil, 2011) somente para o alumínio dissolvido (P7), alumínio total (P8), ferro dissolvido (P7), fósforo total (P4, P6 e P7) e manganês total (P4, P5 e P7).

Merece destaque o Ponto 7, que apresentou concentrações de quatro metais acima do limite da legislação (alumínio dissolvido, ferro dissolvido, fósforo total e manganês total). Ainda, foi o único ponto que apresentou valores acima dos permitidos para metais dissolvidos, que possuem maior possibilidade de efeitos tóxicos (Ribeiro *et al.*, 2012). Novamente, pode-se observar que o Ponto 7 é o ponto localizado mais a jusante do município de Francisco Beltrão, após uma extensa área urbana, motivo pelo qual pode ter apresentado pior qualidade que a montante.

Lima *et al.* (2005), analisando as águas do Rio Formoso, Pernambuco, Brasil, detectaram a presença dos metais alumínio, cromo e ferro acima dos valores máximos permitidos em 28%, 18% e 15% das amostras, respectivamente. Menezes *et al.* (2009) também identificaram inconformidades nos teores de alumínio dissolvido, boro total, ferro dissolvido e manganês total nas águas do Rio São Domingos, Rio de Janeiro, Brasil.

A elevada presença de fósforo nos Pontos 6 e 7 evidenciam uma contaminação de caráter antropogênico e rural, pois tratam-se de locais com áreas de contribuição hidrológica residencial humana, circunvizinhado por unidades habitacionais (Ponto 7) e localizado após o desague do efluente da ETE do município e próximo a uma área rural (Ponto 6). Guedes *et al.* (2005) também observaram a presença de fósforo, nitrogênio, cádmio, chumbo, cromo, vanádio no trecho urbano do Rio Jundiá, Rio Grande do Norte,

Brasil. E, de acordo com Berbardino *et al.* (2013), a presença de fósforo está relacionada ao uso de fertilizantes nas atividades agrícolas.

Tabela 5 – Metais das amostras de água coletadas em baixa vazão.

(continua)

| Pontos de amostragem | Metais | Concentração (mg L ⁻¹) | Legislação (mg L ⁻¹) | LQM | LDM |
|----------------------|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------|------|
| 1 | Alumínio dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | < 0,10 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | 0,10 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,45 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | < 0,020 | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | < 0,050 | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 2 | Alumínio dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | < 0,10 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | 0,15 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,43 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | < 0,020 | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | < 0,050 | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 3 | Alumínio dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | 0,21 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,62 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | 0,039 | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | 0,063 | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 4 | Alumínio dissolvido | < 0,03 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | < 0,10 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | < 0,03 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,61 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | 0,056 | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | 0,15* | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 5 | Alumínio dissolvido | < 0,03 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | < 0,10 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,41 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | 0,027 | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | 0,19* | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 6 | Alumínio dissolvido | < 0,03 | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | < 0,10 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,41 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | 0,128* | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | < 0,050 | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |

Tabela 5 – Metais das amostras de água coletadas em baixa vazão.

| (conclusão) | | | | | |
|----------------------|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------|------|
| Pontos de amostragem | Metais | Concentração (mg L ⁻¹) | Legislação (mg L ⁻¹) | LQM | LDM |
| 7 | Alumínio dissolvido | 0,39* | ≤ 0,10 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | 1,86 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | 0,33* | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 4,21 | NL | 0,10 | 0,03 |
| | Fósforo total | 0,265* | ≤ 0,10 | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | 0,408* | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |
| 8 | Alumínio dissolvido | < 0,10 | ≤ 0,20 | 0,10 | 0,03 |
| | Alumínio total | 0,3** | ≤ 0,20 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro dissolvido | < 0,03 | ≤ 0,30 | 0,10 | 0,03 |
| | Ferro total | 0,13 | ≤ 0,30 | 0,020 | 0,01 |
| | Fósforo total | < 0,006 | NL | 0,020 | 0,01 |
| | Manganês total | < 0,050 | ≤ 0,10 | 0,050 | 0,02 |

Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. NL: Não legislado. LQM: Limite de Quantificação do Método. LDM: Limite de Detecção do Método.

Diferente do valor permitido pela legislação vigente: *CONAMA nº357/2005;

**Portaria do Ministério da Saúde nº2914/2011.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Outro metal com teores acima do limite permitido pela legislação em três pontos de coleta (Pontos 4, 5 e 7) foi o manganês total. De acordo com o observado por outros autores, a elevada concentração do manganês está associada à ausência de cobertura vegetal, o uso e o manejo inadequado do solo e ao revolvimento do sedimento dos corpos de água (Igam, 2010). Assim, é possível que a própria obra de construção da canalização do Rio Urutago esteja influenciando nos resultados do Ponto 7. Inclusive, de acordo com Hellmann *et al.* (2022), que avaliaram as águas do Rio Marrecas mensalmente por um ano, existe forte evidência de contaminação da água deste Rio pelos elementos titânio, vanádio, manganês e ferro naturalmente, pela própria composição do solo da bacia.

Com relação a água de consumo da população (Ponto 8), a elevada presença do alumínio total pode representar riscos à saúde humana. Os metais, quando ingeridos em quantidades acima dos valores máximos permitidos podem causar várias doenças como: câncer, doenças cardiovasculares, problemas renais e neurotóxicos, doenças neurodegenerativas, entre outras (Maleki *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2018; Buha Djordjevic *et al.*, 2021; Erkekoglu *et al.* al., 2021; Sevim; Kara, 2021; Emmanuel *et al.*, 2022). Campos *et al.* (2017), analisando a qualidade da água de uma instituição de ensino

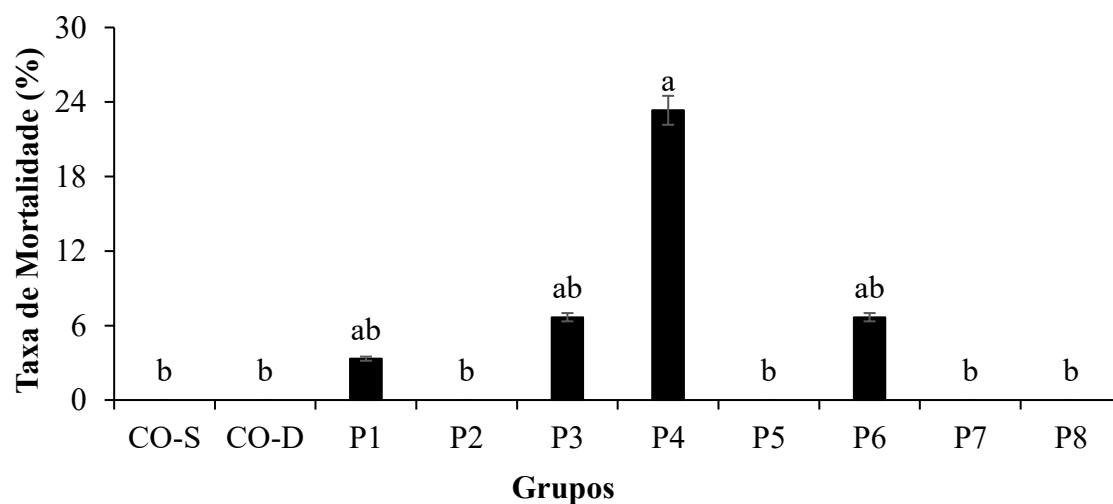
na cidade de Maringá, Paraná, Brasil, identificaram concentrações de ferro, cádmio, chumbo e o alumínio superiores aos valores máximos permitidos recomendados. Lima *et al.* (2001) também detectaram concentrações de alumínio, chumbo, cobre, manganês e prata acima dos valores máximos permitidos pela legislação na água de abastecimento para consumo no município de Rio Formoso, Pernambuco, Brasil.

5.2.3 Ensaios Ecotoxicológicos

5.2.3.1 *A. salina*

A Figura 12 apresenta os resultados do teste de imobilidade/mortalidade utilizando o microcrustáceo *A. salina* com as amostras coletadas na baixa vazão. O Ponto 4 (Foz do Rio Loqueador) apresentou taxa de mortalidade de 23,23%, apresentando efeito tóxico ao organismo teste, com número médio de organismos mortos/imóveis estatisticamente diferente do controle negativo. Os demais pontos de amostragem não apresentaram efeito tóxico para este organismo teste.

Figura 12 – Número médio de organismos mortos/imóveis pelo ensaio de toxicidade com *A. salina* das amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO-S: Controle salino; CO-D: Controle doce; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Dunn ($p < 0,05$).

Fonte: A autoria Própria (2024).

Este ponto de amostragem (P4) apresentou elevada concentração dos hormônios E1 e E2 (Tabela 4) e valores de fósforo total e manganês total (Tabela 5) acima dos valores máximos exigidos pela Resolução do CONAMA nº357/2005. Inclusive, a análise

de componentes principais (PCA) indicou correlação positiva da taxa de mortalidade do bioindicador *A. salina* com os hormônios E1 e E2 e a condutividade (Figura 13A).

A presença desses hormônios no sistema aquático é preocupante pois outros estudos já mostraram que estes podem causar toxicidade aquática, desenvolvimento de resistência em bactérias patogênicas, desregulação endócrina, genotoxicidade, entre outros efeitos (Tambosi *et al.*, 2010; Wee; Aris, 2019; Zhou *et al.*, 2019). Viega *et al.* (2020), por exemplo, avaliando cosméticos com composição hormonal, também confirmaram a toxicidade de elevadas concentrações do 17 β -estradiol (E2) para o bioindicador *A. salina*.

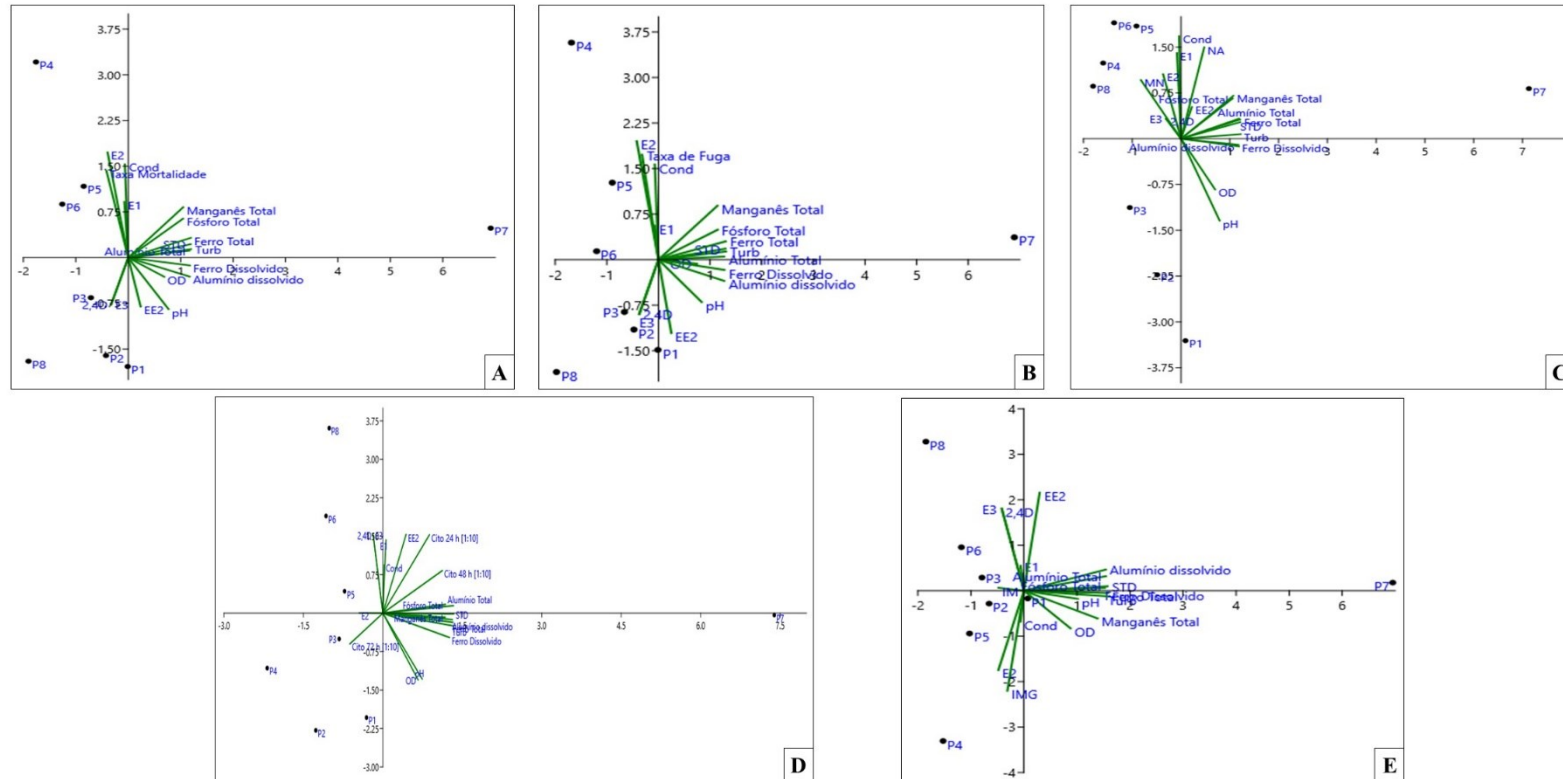
Vale destacar que o Ponto 4 trata-se da foz do Rio Lonqueador, uma bacia extensamente ocupada por área residencial. A presença do hormônio E2 em corpos d'água é um indício de contaminação do corpo hídrico por esgoto doméstico, pois é um dos principais hormônios produzidos pelo corpo humano (Torres *et al.*, 2015).

5.2.3.2 *E. fetida*

Nas Figuras 14 e 15 estão plotados os resultados obtidos para o ensaio de toxicidade com o bioindicador *E. fetida* com as amostras de água obtidas em baixa vazão. O experimento pode ser validado, porque houve distribuição homogênea das minhocas no solo controle negativo (Figura 14). Além disso, verificou-se que apenas o Ponto 4 (foz do Rio Lonqueador) foi tóxico ao bioindicador *E. fetida*, apresentado taxa de fuga de 60% (Figura 15). De acordo com a norma NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011) o solo é considerado tóxico quando a taxa de fuga for maior que 60%.

Como destacado anteriormente, o Ponto 4 também resultou em mortalidade da *A. salina* (Figura 12) e apresentou elevada concentração dos hormônios E1 e E2 (Tabela 4) e valores de fósforo total e manganês total acima do valor máximo exigido pela legislação (Tabela 5). Assim, a PCA indicou correlação positiva da taxa de fuga com os hormônios E1, E2 e condutividade (Figura 13B). De acordo com Markman *et al.* (2007) os hormônios estrogênicos, em especial o E2, podem alterar a função endócrina dos animais expostos e as minhocas podem ser usadas como bioindicadores destes compostos. Kwak e An (2021) comprovaram que o 17 β -estradiol inibiu a oogênese normal e a maturação de oócitos no ovário das minhocas, indicando que este tem um efeito adverso sobre os sistemas reprodutivos femininos de invertebrados do solo.

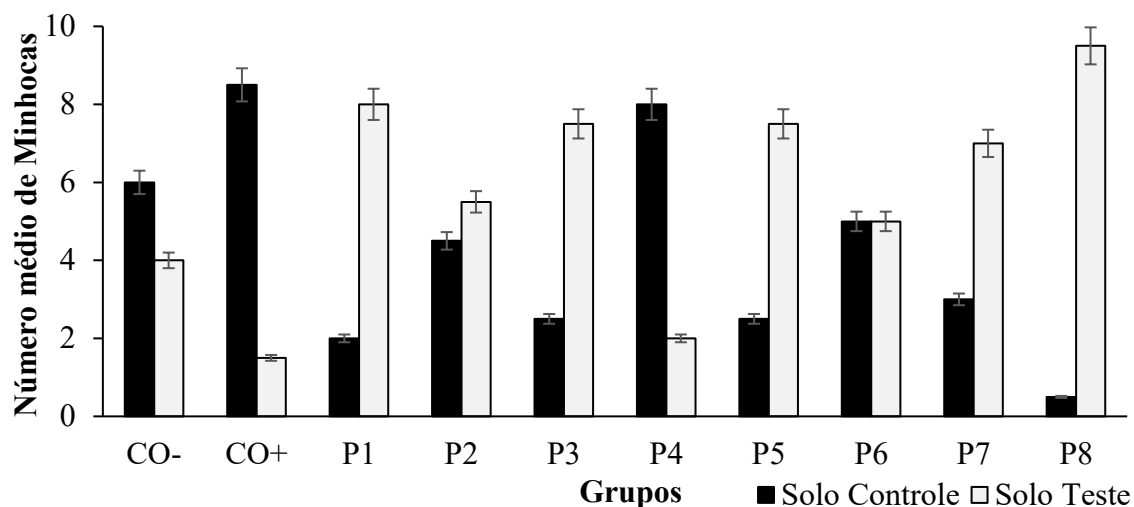
Figura 13 – Análise de componentes principais das amostras de água coletadas na baixa vazão.



Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. A: *Artemia salina*; B: *Eisenia fetida*; C: *Lithobates catesbeianus*; D: Cultura celular; E: *Allium cepa*; pH: Potencial Hidrogeniônico; Turb: Turbidez; OD: Oxigênio Dissolvido; STD: Sólidos Totais Dissolvidos. Cond: Condutividade Elétrica; E1: Hormônio Estrona; E2: Hormônio 17 β -estradiol; EE2: Hormônio 17 α -etinilestradiol; E3: Hormônio Estriol; 2,4-D: Agroquímico 2,4D; TM: Taxa de Mortalidade; TF: Taxa de Fuga; AN: Alterações Nucleares; MN: Micronúcleos; Cito: Citotoxicidade; IM: Índice Mitótico; IMG: Índice Mutagênico.

Fonte: Autoria Própria (2024)

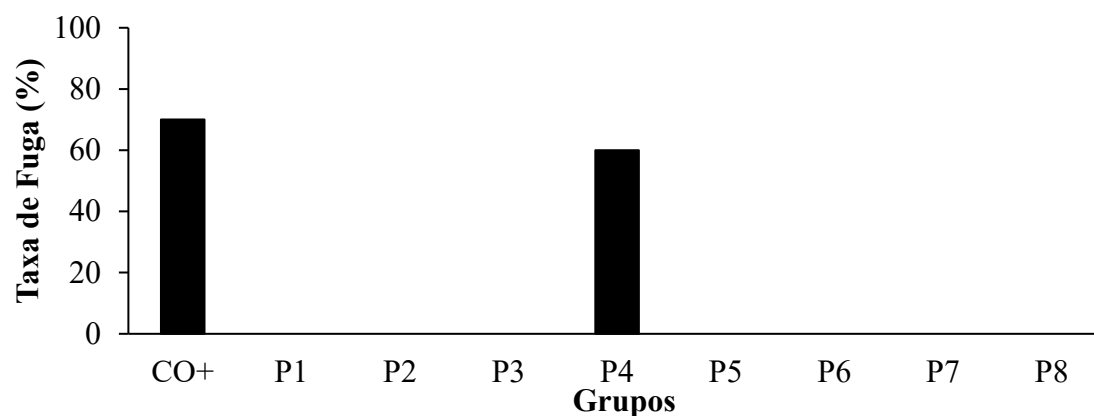
Figura 14 – Números médios dos organismos *E. fetida* distribuídos nos solos controle e teste das amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Figura 15 – Taxa de fuga dos organismos *E. fetida* das amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

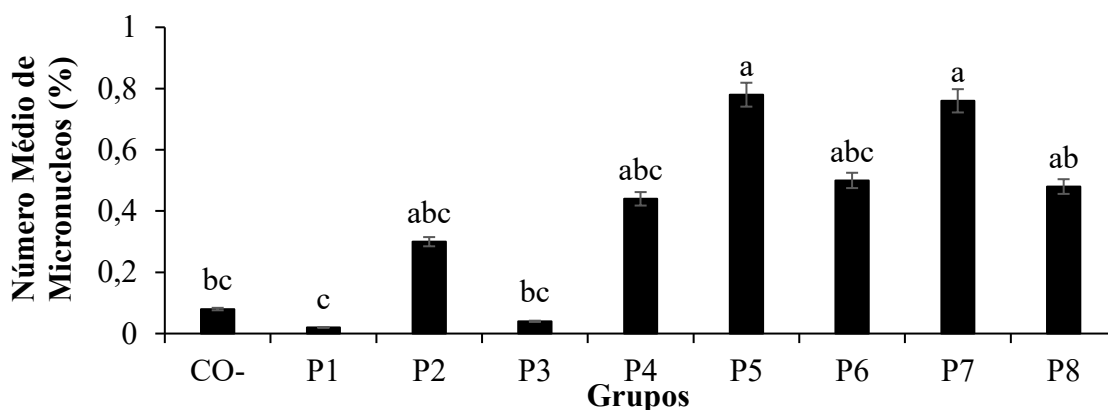
Fonte: Autoria Própria (2024).

Embora os demais pontos de amostragem não terem sido tóxicos ao bioindicador *E. fetida*, apresentando uma taxa de fuga de 0% (Figura 15), segundo Van Gestel *et al.* (2011) e Rich *et al.* (2015) efeitos significativos podem não ser vistos em minhocas a curto prazo, mas estas podem absorver ou ingerir agroquímicos ao longo do tempo causando a biocumulação (Dang *et al.*, 2015) e, assim, podendo ser seriamente afetadas.

5.2.3.3 *L. catesbeianus*

A análise das lâminas dos eritrócitos de *L. catesbeianus* revelou micronúcleos em todos os pontos de amostragem avaliados na baixa vazão (Figura 16). Entretanto, estatisticamente, apenas o P5 (foz do Rio Urutago) e P7 (Rio Marrecas após o desague da canalização do Rio Urutago) apresentaram percentuais médios de micronúcleos superiores aos do controle negativo (água mineral), indicando efeito mutagênico destas amostras. Santos *et al.* (2021), também avaliando a mutagenicidade das águas do Rio Marrecas para girinos de *L. catesbeianus*, igualmente identificaram este efeito para a amostra de água coletada no Rio Marrecas logo após o desague do Rio Urutago no mesmo. Neste sentido, pode-se observar que, possivelmente, a mutagenicidade do Ponto 7 do presente estudo decorra de poluentes que estejam presentes na bacia do Rio Urutago (P5), que também apresentou mutagenicidade no presente estudo.

Figura 16 – Porcentagem média de micronúcleos em *L. catesbeianus* expostos as amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

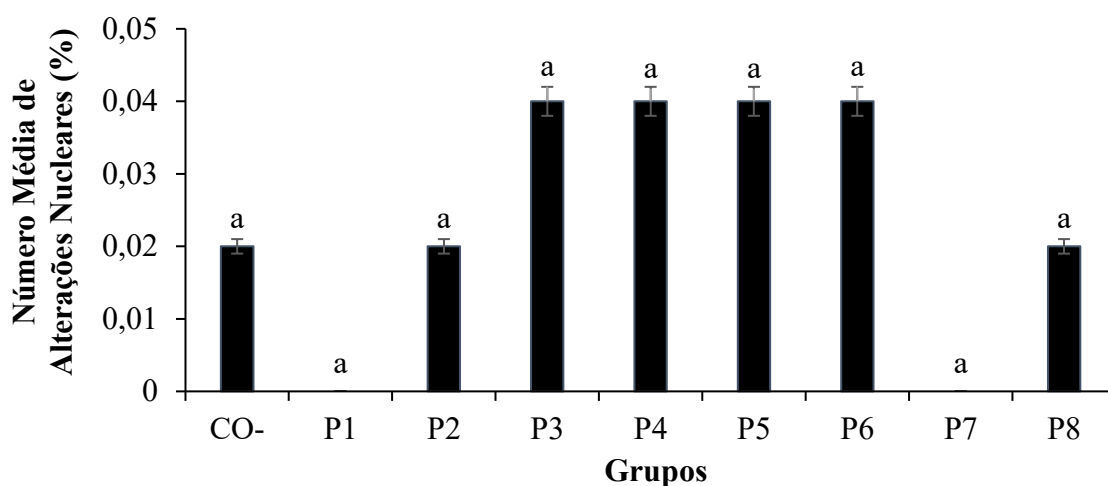
Fonte: Autoria Própria (2024).

Estes pontos de amostragem (P5 e P7) apresentaram valores elevados para os hormônios estrogênicos E1, E2 e EE2 (P5 e P7) (Tabela 4), elevada turbidez e sólidos totais dissolvidos (acima do limite permitido pela legislação) (P7) (Tabela 4), teores acima do limite da legislação dos metais alumínio dissolvido, ferro dissolvido, fósforo total (P7) e manganês total (P5) (Tabela 5). Inclusive, a PCA apresentou correlação positiva entre a formação dos micronúcleos em *L. catesbeianus* com os hormônios E1, EE2 e E3, o agroquímico 2,4D, a condutividade e o fósforo total.

Segundo Veronez *et al.* (2016) os girinos podem acumular metais em todo o corpo após exposição aos mesmos. O acúmulo desses pode induzir estresse oxidativo e consequentemente ocasionar efeitos morfológicos no desenvolvimento, genotóxicos e bioquímicos em girinos de *L. catesbeianus*. Ainda segundo os autores, os girinos expostos aos metais (ferro e manganês) apresentaram um aumento significativo nos danos ao DNA dos eritrócitos e na frequência de micronúcleos. Portanto, esses metais, presentes nas amostras testadas, podem ter contribuído para a formação de micronúcleos e alterações celulares. Além disso, a presença de outros poluentes pode ter influenciado na mutagenicidade destas amostras para os anfíbios, outros estudos comprovaram, por exemplo, que o hormônio E2 é capaz induzir estresse oxidativo, danos ao DNA e alterações no desenvolvimento de *Cyprinus carpio* (Orozco-Hernández *et al.*, 2018; Gutiérrez-Gómez *et al.*, 2016).

Além dos micronúcleos, outras alterações nucleares também foram encontradas nos eritrócitos de girinos de *L. catesbeianus* (Figura 17), sendo que todos os pontos analisados revelaram uma ou mais alterações nucleares nos eritrócitos (Tabela 6). Entretanto, nenhum ponto foi estatisticamente diferente do controle negativo, indicando ausência de efeito citotóxico para *L. catesbeianus* das amostras coletadas em baixa vazão.

Figura 17 – Porcentagem média de alterações nucleares de *L. catesbeianus* expostos as amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 6 – Número médios das alterações nucleares observadas nos eritrócitos dos *L. catesbeianus* expostos às amostras de água coletadas na baixa vazão.

| Pontos de amostragem | Binucleada | Trinucleada | Segmentada | Broto | Cromatina descondensada | Reniforme |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------|--------------------------------|------------------|
| CO- | 0,40±0,89 | 0,00±0,00 | 0,20±0,45 | 0,00±0,00 | 0,20±0,45 | 0,00±0,00 |
| P1 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,20±0,45 |
| P2 | 2,00±2,45 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,00±1,41 | 0,00±0,00 |
| P3 | 0,20±0,45 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,20±0,45 | 0,00±0,00 |
| P4 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,80±1,30 | 1,00±1,41 | 2,60±2,19 |
| P5 | 0,80±1,79 | 0,00±0,00 | 0,40 ±0,55 | 0,40±0,89 | 3,20±1,79 | 3,00±2,34 |
| P6 | 0,60±0,89 | 0,00±0,00 | 0,60±0,55 | 0,20±0,45 | 0,40±0,89 | 3,20±3,03 |
| P7 | 0,80±1,10 | 0,00±0,00 | 0,60±1,34 | 3,20±2,39 | 1,20±1,79 | 1,80±2,05 |
| P8 | 0,00± 0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 1,20±1,30 | 1,80±2,68 | 1,80±2,05 |

Grupos: CO-: Controle negativo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população.

Fonte: Autoria Própria (2024).

5.2.3.4 Células Huh7.5

Os resultados das absorvâncias médias dos tratamentos das células de fígado humano (Huh7.5) com as amostras de água coletadas na baixa vazão, estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Percentual de viabilidade celular (VC) de células Huh7.5 tratadas com as concentrações (1:10, 1:100) das amostras de água coletadas na baixa vazão, por 24,48 e 72 horas.

| Grupos | Célula Huh7.5 | | |
|-------------------|---------------|---------|---------|
| | VC [%] | | |
| | 24 h | 48 h | 72 h |
| CO- | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| CO+ | 39,03* | 27,52* | 15,40* |
| P1 [1:10] | 94,06 | 160,12* | 119,75 |
| P1 [1:100] | 103,88 | 136,76* | 114,30 |
| P2 [1:10] | 90,26 | 148,34* | 142,68* |
| P2 [1:100] | 127,63 | 153,42* | 148,16* |
| P3 [1:10] | 104,83 | 157,77* | 129,10 |
| P3 [1:100] | 98,50 | 175,93* | 122,69 |
| P4 [1:10] | 97,00 | 139,84* | 146,05* |
| P4 [1:100] | 111,56 | 155,50* | 148,81* |
| P5 [1:10] | 109,50 | 159,66* | 116,68 |
| P5 [1:100] | 115,44 | 179,22* | 130,34* |
| P6 [1:10] | 126,29 | 150,29* | 135,45* |
| P6 [1:100] | 162,87* | 183,39* | 124,67 |
| P7 [1:10] | 138,24* | 197,28* | 120,24 |
| P7 [1:100] | 136,18* | 192,97* | 128,04 |
| P8 [1:10] | 125,02 | 180,42* | 123,20 |
| P8 [1:100] | 131,83 | 158,75* | 128,64 |

CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. * Resultado estatisticamente diferente do controle negativo (Teste de Dunnet, $p < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2024).

A análise estatística mostra que a concentração [1:10] do P1 (antes do ponto de captação da Estação de Tratamento de Água do município) e as concentrações [1:10; 1:100] do P7 (localizado após o desague da canalização do Rio Urutago), no tempo de 24 horas, apresentaram absorvâncias médias estatisticamente maiores que a do controle

negativo, com viabilidades celulares de 162,87%, 138,24% e 136,18%, respectivamente (Tabela 7). As concentrações de [1:10] e [1:100] de todos os pontos de amostragem, no tempo de 48 horas, também apresentaram atividade proliferativa, com absorvâncias médias estatisticamente maiores que a do controle negativo, e com viabilidades celulares variando de 136,76% à 197,28% (Tabela 7).

No tempo de 72 horas, a concentração de [1:10] do P2 (Rio Marrecas), P4 (Foz Rio Lonqueador) e P6 (Rio Marrecas) também apresentaram atividade proliferativa, com viabilidades celulares de 142,68%, 146,05% e 135,45%, respectivamente (Tabela 7). E a concentração de [1:100] do P2, P4 e P5 (Foz Rio Urutago) também apresentaram efeito proliferativo, com viabilidades celulares de 148,16%, 148,81% e 130,34%, respectivamente (Tabela 7). Estes resultados indicam que todas as amostras coletadas em baixa vazão causaram um evidente estresse nas células HuH7.5, resultando em aumento da atividade mitocondrial ou no estímulo da proliferação celular.

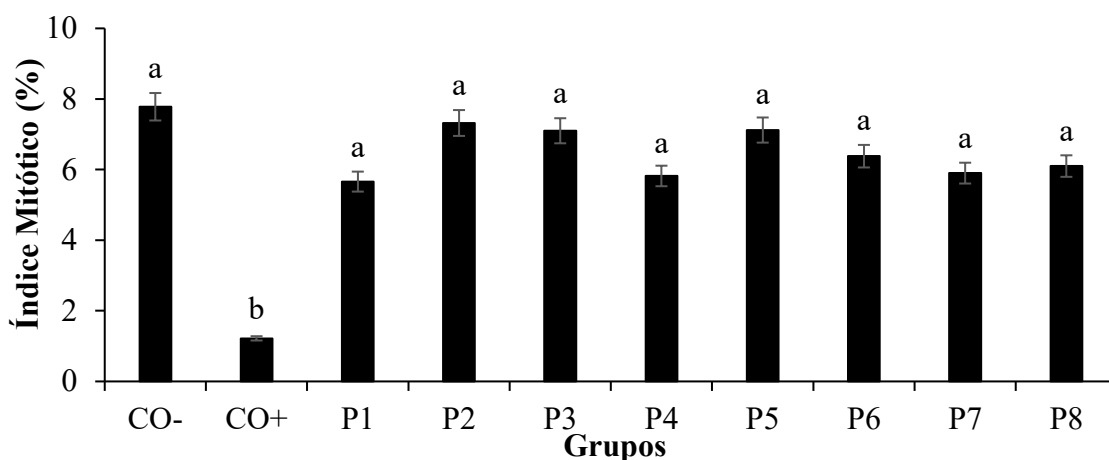
Todos os pontos de coleta apresentaram elevada concentração dos hormônios estrogênios E1 e E2 e do metal ferro total. Além disso, apresentaram elevados teores de EE2 (P1, P2, P3, P5, P6, P7 e P8) e E3 (P6 e P8), e valores acima do limite da legislação dos metais alumínio dissolvido, ferro dissolvido (P7), alumínio total (P8), fósforo total (P4, P6 e P7) e manganês total (P4, P5 e P7) (Tabelas 4 e 5). Para o teste de citotoxicidade com cultura celular, a PCA apresentou correlação positiva das absorvâncias médias da maior concentração [1:10] com os hormônios E1, EE2, E3 e condutividade (24 h), com o hormônio EE2, alumínio total, alumínio dissolvido, fósforo total, ferro total, ferro dissolvido, manganês total e sólidos totais dissolvido (48 h) e com o hormônio E2 (72 h) (Figura 13D).

A toxicidade das amostras de água coletadas no Rio Ilha, localizado na cidade de Taquara-Rio Grande do Sul-Brasil também foram avaliadas por meio no ensaio do MTT, com células de fibroblastos de hamster chinês (V79) (Moreira *et al.*, 2022). Segundo os autores, foi possível observar um aumento na divisão celular em todos os pontos e tempos avaliados (24 e 96 horas), assim como no presente estudo.

5.2.3.5 *A. cepa*

Os resultados com o bioindicador vegetal *A. cepa* exposto as amostras coletadas em baixa vazão mostram ausência de efeito citotóxico de todos os pontos de coleta, pois os índices mitóticos foram estatisticamente semelhantes aos do controle negativo (Figura 18).

Figura 18 – Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) da *A. cepa* exposta as amostras de água coletadas na baixa vazão.



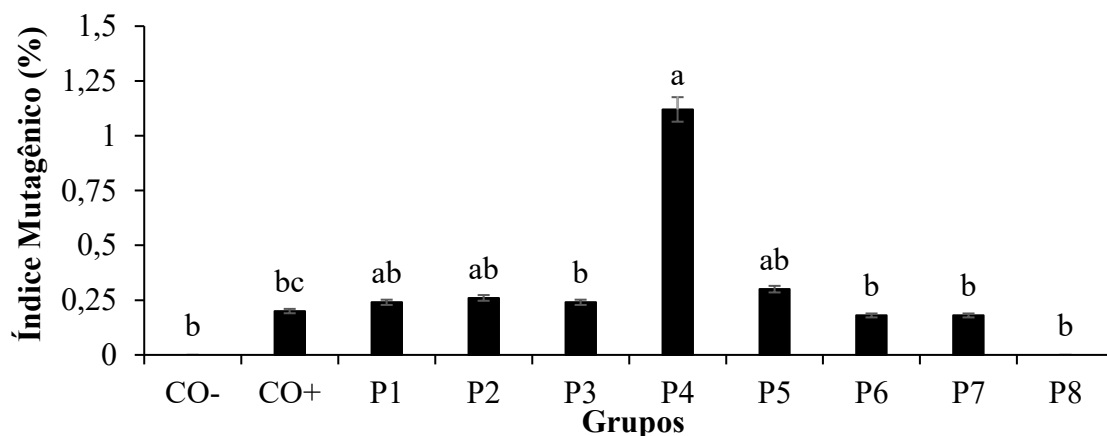
Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Entretanto, é possível observar que o P4 (Foz do Rio Lonqueador) apresentou índice de mutagenicidade (Figura 19) estatisticamente maior e diferente do controle negativo, indicando efeito mutagênico da água deste ponto. Este ponto (P4) também apresentou toxicidade para os bioindicadores *A. salina*, *E. fetida* e as células humanas HuH7.5. Além disso, o ponto apresentava elevada concentração dos hormônios E1 e E2 (Tabela 4), presença de ferro total e valores de fósforo total e manganês total acima dos valores máximos permitidos pela legislação (Tabela 5). A PCA (Figura 13E) apresentou correlação positiva entre o índice de mutagenicidade e o hormônio E2 e a condutividade.

O efeito genotóxico das águas do Rio Nilo Azul para as células meristemáticas das raízes da *A. cepa* foi associado as propriedades físico-químicas das amostras (Kassa *et al.*, 2021). De acordo com os autores, as águas de rios são misturas complexas com diversos compostos que afetam os parâmetros físico-químicos dos corpos d'água e levam à contaminação ambiental, resultando em efeitos negativos nos sistemas vivos, incluindo os seres humanos. Portanto, novamente, observa-se que a presença de poluentes, mesmo em concentrações muito baixas, caso dos hormônios, pode apresentar risco aos organismos que dela dependem (Galindo-Miranda *et al.*, 2019; França *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2020).

Figura 19 – Percentuais médios dos índices mutagênicos (IMG%) da *A. cepa* exposta as amostras de água coletadas na baixa vazão.



Grupos: CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; Pontos de amostragem: 1, 2, 3, 6 e 7 (Rio Marrecas); 4 (Foz Rio Lonqueador); 5 (Foz Rio Urutago) e 8: Água para consumo da população. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria Própria (2024).

6 CONCLUSÃO

A análise do presente estudo permite observar que todas as amostras coletadas (Rio Marrecas, foz dos Rios Lonqueador e Urutago e água residencial) apresentaram algum parâmetro físico-químico ou ecotoxicológico alterado. Assim, o uso e ocupação destas bacias hidrográficas está interferindo na qualidade destas águas.

Além disso, os eventos extremos (enchentes e estiagem) podem comprometer ainda mais o meio ambiente e afetar a qualidade de vida dos animais e a saúde humana. Os dados do presente estudo identificaram que os valores de condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos, turbidez, agrotóxico 2,4D e hormônios EE2 e E3 de praticamente todos os pontos de coleta foram mais elevados na alta vazão quando comparados com a baixa vazão. Somente os hormônios estrogênicos E1 e E2 apresentaram valores mais elevados (para quase todos os pontos de coleta) na baixa vazão.

Com relação a ecotoxicidade, a baixa vazão afetou todos os bioindicadores do presente estudo (*A. salina*, *E. fetida*, *L. catesbeianus*, células Huh7.5 e *A. cepa*) para pelo menos um ponto de coleta. Na alta vazão, nenhum efeito ecotoxicológico foi observado para *A. salina* e *A. cepa*.

Entretanto, pode-se observar respostas diferentes para cada bioindicador utilizado. O P4 na baixa vazão apresentou taxa de mortalidade para *A. salina*. Para a *E. fetida* também apenas o P4 apresentou toxicidade, com taxas de fuga de 70% (alta vazão) e 60% (baixa vazão). Os pontos 5 (alta e baixa vazão), 7 (baixa vazão) e 6 e 8 (alta vazão) elevaram a formação de micronúcleos dos girinos de *L. catesbeianus* e, o P1 (alta vazão) também afetou a formação de alterações nucleares, sendo citotóxico para este bioindicador. Para a cultura de célula humana (Huh7.5) os pontos 3, 5 e 8 (alta vazão) e todos os pontos (baixa vazão) alteraram a proliferação celular. Para *A. cepa* nenhuma amostra apresentou efeito citotóxico e somente o P4 (baixa vazão) foi mutagênico.

Na baixa vazão destaca-se a ecotoxicidade do P4 (foz do Rio Lonqueador) para quatro dos bioindicadores avaliados (*A. salina*, *E. fetida*, células Huh7.5 e *A. cepa*). E na alta vazão a ecotoxicidade do P5 (foz do Rio Urutago) e P8 (água residencial) para dois bioindicadores (*L. catesbeianus* e células Huh7.5). Assim, as bacias dos Rios Lonqueador e Urutago, afluentes do Rio Marrecas, podem estar afetando a qualidade das águas do Rio Marrecas.

Desta forma, observa-se a necessidade de monitoramento e acompanhamento físico-químico e ecotoxicológico das águas dos Rios e alertam para a execução de medidas de proteção destas águas.

REFERÊNCIAS

ALI, I.; HUSSAIN, I.; SALEEM, K.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Development of efficient SPE–TLC method and evaluation of biological interactions of contraceptives with progesterone receptors. **Arabian Journal Of Chemistry**, 5, 2, 235-240, 2012.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.010>.

ALI, I.; ALOTHMAN, Z.A.; ALWARTHAN, A. Supra molecular mechanism of the removal of 17- β -estradiol endocrine disturbing pollutant from water on functionalized iron nano particles. **Journal Of Molecular Liquids**, 241, 123-129, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2017.06.005>.

ALI, H.; KHAN, E.; ILAHI, I. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. **Journal Of Chemistry**, 2019, 1-14, 2019a. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/6730305>.

ALI, I.; BASHEER, A.A.; MBIANDA, X.; BURAKOV, A.; GALUNIN, E.; BURAKOVA, I.; MKRTCHYAN, E.; TKACHEV, A.; GRACHEV, V. Graphene based adsorbents for remediation of noxious pollutants from wastewater. **Environment International**, 127, 160-180, 2019b. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.029>.

ALI, I.; ALHARBI, O.M.L.; ALOTHMAN, Z.A.; AL-MOHAI MEED, A.M.; ALWARTHAN, A. Modeling of fenuron pesticide adsorption on CNTs for mechanistic insight and removal in water. **Environmental Research**, 170, 389-397, 2019c.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.066>.

ALI, I.; ALHARBI, O.M.L.; ALOTHMAN, Z.A.; ALWARTHAN, A.; AL-MOHAI MEED, A.M. Preparation of a carboxymethylcellulose-iron composite for uptake of atorvastatin in water. **International Journal Of Biological Macromolecules**, 132, 244-253, 2019d.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.211>.

ALI, I.; HUSSAIN, I.; SALEEM, K.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Development of efficient SPE–TLC method and evaluation of biological interactions of contraceptives with progesterone receptors. **Arabian Journal Of Chemistry**, 5, 2, 235-240, 2012.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.010>.

AL-SHAALAN, N.H.; ALI, I.; ALOTHMAN, Z.A.; AL-WAHAIBI, L.H.;

ALABDULMONEM, H. High performance removal and simulation studies of diuron pesticide in water on MWCNTs. **Journal Of Molecular Liquids**, 289, 111039.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111039>.

ALVES, P.S.; OLIVEIRA, M.D.A.; ALMEIDA, P.M.; MARTINS, F.A.; CAVALCANTE, A.A.C.M.; ANDRADE, T.J.A.S.; FEITOSA, C.M.; RAI, M.; REIS, A.C.; COSTA JÚNIOR, J.S. Determination by chromatography and cytotoxic and oxidative effects of pyriproxyfen and pyridalyl. **Chemosphere**, 224, 398-406, 2019.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.037>.

AMBOSI, J.L.; YAMANAKA, L.Y.; JOSÉ, H.J.; MOREIRA, R.F.P.M.; SCHRÖDER, H.F. Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants (STP). **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 411-420, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010000200032>.

AMEEN, R.F.M.; MOURSHED, M. Urban environmental challenges in developing countries—A stakeholder perspective. **Habitat International**, v. 64, p. 1-10, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.habitatint.2017.04.002>.

Agência Nacional de Águas - ANA - Sistema HIDRO - Telemetria. Disponível em:

<https://www.snirh.gov.br/hidrotelemetria/ultimosDados.aspx>. Acesso em: 10 jan 2024.

ANH, N.T.; CAN, L.D.; NHAN, N.T.; SCHMALZ, B.; LUU, T.L. Influences of key factors on river water quality in urban and rural areas: a review. **Case Studies In Chemical And Environmental Engineering**, v. 8, p. 100424, 2023.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.csee.2023.100424>.

ANVISA. **RESOLUÇÃO-RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003**. Disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html. Acesso em: 15 jul 2023.

APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION) AND WEF (WATER ENVIRONMENT FEDERATION).

Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia ssp* (Crustacea, Cladocera). 3a ed., 18 p., 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **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.

BARRETO, L.V.; FRAGA, M.S.; BARROS, F.M.; ROCHA, F.A.; AMORIM, J.S.; CARVALHO, S.R.; BONOMO, P.; SILVA, D.P.; Relação entre vazão e qualidade da água em uma seção de rio. **Revista Ambiente e Água**, v. 9, n. 1, p. 118 a 129, 2014.

BENOTTI, M.J.; TRENHOLM, R.A.; VANDERFORD, B.J.; HOLADY, J.C.; STANFORD, B.D.; SNYDER, S.A. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water. **Environmental Science & Technology**, 43(3), 597-603, 2008.
<http://dx.doi.org/10.1021/es801845a>.

BEVACQUA, A.G.; CHAFFE, P.L.B.; CHAGAS, V.B.P.; AGHAKOUCHAK, A. Spatial and temporal patterns of propagation from meteorological to hydrological droughts in Brazil. **Journal Of Hydrology**, v. 603, p. 126902, 2021.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126902>.

BOHRER, J.K. **Quantificação de hormônios estrógenos em esgoto sanitário por HPLC-UV e avaliação da degradação por processos oxidativos avançados**. Dissertação em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2021.

BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, 30(3), 651-666, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000300027>.

BOMBARDI, L.M. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia, 2017. São Paulo: FFLCH-USP, 296.

BOFF, S.; FRIEDEL, A.; MUSSURY, R.M.; LENIS, P.R.; RAIZER, J. Changes in social behavior are induced by pesticide ingestion in a Neotropical stingless bee. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 164, 548-553, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.061>.

BOIARSKI, D.R.; TOIGO, C.M.; SOBJAK, T.M.; SANTOS, A.F.P.; ROMÃO, S.; GUIMARÃES, A.T.B. Assessment of antioxidant system, cholinesterase activity and histopathology in *Lithobates catesbeianus* tadpoles exposed to water from an urban stream. **Ecotoxicology**, 29(3), 314-326, 2020. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-020-02176-6>.

BORGA, M.; STOFFEL, M.; MARCHI, L.; MARRA, F.; JAKOB, M. Hydrogeomorphic response to extreme rainfall in headwater systems: flash floods and debris flows. **Journal Of Hydrology**, 518, 194-205, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2014.05.022>.

BOTTA, F.; FAUCHON, N.; BLANCHOU, H.; CHEVREUIL, M.; GUERY, B. Phyt'Eaux Cités: application and validation of a programme to reduce surface water contamination with urban pesticides. **Chemosphere**, v. 86, n. 2, p. 166-176, 2012.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.10.005>.

BRASIL. CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Resolução número 430, de 13 de maio de 2011. Dispões sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. 2005. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> Acesso em: 02 de set. 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Boletim 2019. Disponível em:

<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#historicodecomercializacao>.

BRASIL. Ministério da Economia (ME). Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA). Diretoria de Estudos e Políticas Sociais (Disoc). Nota Técnica nº 65. O crescimento do uso de agrotóxicos: Uma análise descritiva dos resultados do Censo Agropecuário 2017. Online, p. 7-14, abr. 2020. Disponível em:

https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/nota_tecnica/200429_nt_disoc_n65.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Anvisa aprova novo marco regulatório para agrotóxicos. Online, jul. 2019. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/anvisaaprova-novo-marco-regulatorio-para-agrotoxicos>.

BRASIL (2021). Portaria DAS no 448, de 17 de novembro de 2021. Retrieved from:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pncrc-vegetal/arquivos/23-portaria-sda-mapa-448-2021-resultados2019e2020.pdf>.

BRASIL (2022). SISÁGUA. Quantitativo de análises nos anos de 2014 a 2020.

<https://dados.gov.br/dataset/sisagua-amostras-de-vigilancia-demaisparametros/resource/f5aec87b-5f52-48a6-8ebb-d8ce9849f416>.

BRESSIANI, P.A.; ALVES, G.L.; MARCO, I.G.; BIFFI, M.T.; ISHIKAWA, S.;

MANOSSO, F.C.; GOMES, E.M.V.; POKRYWIECKI, T.S.; SCHMITZ, A.P.O.; DÜSMAN, E. Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of inhabitants of Vila Rural Água Viva, Brazil,

exposed to agrochemicals using the micronucleus buccal cytome assay. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 96, p. 104002, 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2022.104002>.

BROVINI, E.M.; DEUS, B.C.T.; VILAS-BOAS, J.A.; QUADRA, G.R.; CARVALHO, L.; MENDONÇA, R.F.; PEREIRA, R.O.; CARDOSO, S.J. Three-bestseller pesticides in Brazil: freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science Of The Total Environment**, 771, 144754, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144754>.

BURLIBAŞA, L; GAVRILĂ, L. Amphibians as model organisms for study environmental genotoxicity. **Applied Ecology And Environmental Research**, 9(1), 1-15, 2011.

http://dx.doi.org/10.15666/aecer/0901_001015.

BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F.; NESSIMIAN, J.L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 465-473, 2003.

CANDELLO, F. P. **Comportamento de fuga de minhocas na presença do antimicrobiano sulfadiazina em solo**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – UNICAMP Campinas, 2014.

CAMPOS, D.A.G.; FRANCO, J.M.; ABREU, B.A.F.; BERGAMASCO, R.; YAMAGUCHI, N.U.; Avaliação da qualidade da água destinada ao consumo humano em instituição de ensino. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, n. 1, p. 289-298, 2017.

CHAHOURI, A.; YACOUBI, B.; MOUKRIM, A.; BANAOU, A. Bivalve molluscs as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: recent advances. **Continental Shelf Research**, 264, 105056, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.csr.2023.105056>.

CHANG, H.; SHEN, X.; SHAO, B.; WU, F. Sensitive analysis of steroid estrogens and bisphenol a in small volumes of water using isotope-dilution ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Environmental Pollution**, 235, 881-888, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.003>.

CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - CEMA. **Resolução número 081/2010, de 19 de outubro de 2010. Dispõe sobre Critérios e Padrões de ecotoxicidade para o Controle de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais no Estado do Paraná.**

Disponível em: <

http://www.cema.pr.gov.br/arquivos/File/Resolucao_81_ecotoxicidade.pdf.> Acesso em: 02 de set. 2021.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). **Resolução número 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.** Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em: 02 de set. 2021.

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

CRUZEIRO, C.; AMARAL, S.; ROCHA, E.; ROCHA, M.J. Determination of 54 pesticides in waters of the Iberian Douro River estuary and risk assessment of environmentally relevant mixtures using theoretical approaches and *Artemia salina* and *Daphnia magna* bioassays.

Ecotoxicology And Environmental Safety, 145, 126-134, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.010>.

CURI, L. M.; PELTZER, P. M.; SANDOVAL, M. T.; LAJMANOVICH, R. C. Acute Toxicity and Sublethal Effects Caused by a Commercial Herbicide Formulated with 2,4-D on *Physalaemus albonotatus* Tadpoles. **Water, Air, & Soil Pollution**, 230(1), 22, 2019.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-018-4073-x>.

CZARNY, K.; SZCZUKOCKI, D.; KRAWCZYK, B.; GADZAŁA-KOPCIUCH, R.; SKRZYPEK, S. Toxicity of single steroid hormones and their mixtures toward the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Journal Of Applied Phycology**, 31(6) 3537-3544, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-019-01874-x>.

CZERNIASKI, Leandro. Nível do Rio Marrecas se aproxima dos 10 metros; vazão está 20 vezes acima do normal. **Jornal de Beltrão**, Francisco Beltrão, 11 de outubro de 2022.

Disponível em: <https://jornaldebeltrao.com.br/livre/nivel-do-rio-marrecas-se-aproxima-dos-10-metros-vazao-esta-20-vezes-acima-do-normal/>. Acesso em: 20 de novembro de 2023.

DANG, F.; ZHAO, J.; GREENFIELD, B.K.; ZHONG, H.; WANG, Y.; YANG, Z.; ZHOU, D. Soil geochemistry and digestive solubilization control mercury bioaccumulation in the earthworm *Pheretima guillemi*. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 292, p. 44-51, 2015.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.012>.

DANTAS, J.C.; SILVA, R.M.; SANTOS, C.A.G. Drought impacts, social organization, and public policies in northeastern Brazil: a case study of the upper Paraíba river

- basin. **Environmental Monitoring And Assessment**, v. 192, n. 5, p. 1-21, 2020.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10661-020-8219-0>.
- DANZEI, A.P.; VERCELLINO, I.S. Uso de Bioindicadores no monitoramento da qualidade da água. **Revinter**, v. 11, n. 1, p. 100-115, 2018.
- DEKNOCK, A.; TROYER, N.; HOUBRAKEN, M.; DOMINGUEZ-GRANDA, L.; NOLIVOS, I.; VAN ECHELPOEL, W.; FORIO, M.A.E.; SPANOGHE, P.; GOETHALS, P. Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador). **Science Of The Total Environment**, 646, 996-1008, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.185>.
- DIBARTOLOMEIS, M.; KEGLEY, S.; MINEAU, P.; RADFORD, R.; KLEIN, K. An assessment of acute insecticide toxicity loading (AITL) of chemical pesticides used on agricultural land in the United States. **Plos One**, 14, 8, e0220029, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0220029>.
- DJAHED, B.; TAGHAVI, M.; FARZADKIA, M.; NORZAEI, S.; MIRI, M. Stochastic exposure and health risk assessment of rice contamination to the heavy metals in the market of Iranshahr, Iran. **Food And Chemical Toxicology**, 115, 405-412, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.040>.
- DJORDJEVIC, A.B.; ANĐELKOVIĆ, M.; KAČAVENDA E.; JAVORAC, D.; ANTONIJEVIĆ-MILJAKOVIĆ E.; MARIĆ, D.; BARALIC K.; ĐUKIĆ-ĆOSIĆ D.; ĆURČIĆ M.; ANTONIJEVIĆ, B.; BULAT, Z. Cadmium levels in human breast tissue and estradiol serum levels: Is there a connection? **Archiv der Pharmazie**, 71, 581–595, 2021.
<https://doi.org/10.1530/endoabs.73.aep404>.
- DONG, Z.; HU, J. Development of Lead Source-specific Exposure Standards Based on Aggregate Exposure Assessment: bayesian inversion from biomonitoring information to multipathway exposure. **Environmental Science & Technology**, 46(2), 1144-1152, 2011.
<http://dx.doi.org/10.1021/es202800z>.
- DUFOUR, V.; WIEST, L.; SLABY, S.; COR, F.L.; AUGER, L.; CARDOSO, O.; CURTET, L.; PASQUINI, L.; DAUCHY, X.; VULLIET, E. Miniaturization of an extraction protocol for the monitoring of pesticides and polar transformation products in biotic matrices. **Chemosphere**, 284, 131292, 2021.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131292>.

- EGGLETON, J.; THOMAS, K.V. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. **Environment International**, 30(7), 973-980, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001>.
- ELLISTON, T.; OLIVER, I.W. Ecotoxicological assessments of biochar additions to soil employing earthworm species *Eisenia fetida* and *Lumbricus terrestris*. **Environmental Science And Pollution Research**, 27, 27, 33410-33418, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-04542-2>.
- EL-NAHHAL, Y.; EL-NAHHAL, I. Cardiotoxicity of some pesticides and their amelioration. **Environmental Science And Pollution Research**, 28, 33, 44726-44754, 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-021-14999-9>.
- EMMANUEL, U.C.; CHUKWUDI, M.I.; MONDAY, S.S.; ANTHONY, A.I. Human health risk assessment of heavy metals in drinking water sources in three senatorial districts of Anambra State, Nigeria. **Toxicology Reports**, 9, 869-875, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.04.011>.
- ERKEKOGLU, P.; ÖZYURT A.C.; YIRÜN, A.; ÇAKIR, D.A. Testicular dysgenesis syndrome and phthalate exposure: A review of literature. **Archiv der Pharmazie**, 71, 508–543, 2021.
- FANTKE, P.; JOLLIET, O. Life cycle human health impacts of 875 pesticides. **The International Journal Of Life Cycle Assessment**, 21(5), 722-733, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s11367-015-0910-y>.
- FANTKE, P.; CHIU, W.A.; AYLWARD, L.; JUDSON, R.; HUANG, L.; JANG, S.; GOUIN, T.; RHOMBERG, L.; AURISANO, N.; MCKONE, T. Exposure and toxicity characterization of chemical emissions and chemicals in products: global recommendations and implementation in usetox. **The International Journal Of Life Cycle Assessment**, 26(5), 899-915, 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s11367-021-01889-y>.
- FAO. Food and agriculture Organisation of the United Nations. Pesticides Use datasheet. 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>.
- FENG, P.; LIU, D.L.; WANG, B.; WATERS, C.; ZHANG, M.; YU, Q. Projected changes in drought across the wheat belt of southeastern Australia using a downscaled climate ensemble. **International Journal Of Climatology**, v. 39, n. 2, p. 1041-1053, 2018. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.5861>.

- FERREIRA, M.L.P.C. A pulverização aérea de agrotóxicos no Brasil: cenário atual e desafios. **Revista de Direito Sanitário**, 15(3), 18, 2015. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9044.v15i3p18-45>.
- FEVERY, D.; HOUBRAKEN, M.; SPANOGHE, P. Pressure of non-professional use of pesticides on operators, aquatic organisms and bees in Belgium. **Science Of The Total Environment**, 550, 514-521, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.123>.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, 102(1), 99-112, 1985.
- FRANÇA, J.F.; PICKLER, T.B.; JOZALA, A.F.; SANTOS, C.A.; BATISTA, B.L.; PEDRON, T.; VIEIRA, R.A.L.; GROTO, D. Determination of 17 α -ethinylestradiol and toxic metals in surface waters, and estimation of daily intake. **Environmental Monitoring And Assessment**, 192(1), 1-10, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-019-7990-2>.
- FRINHANI, E.; CARVALHO, E. Monitoramento da qualidade das águas do rio do Tigre, Joaçaba, SC. **Unoesc&Ciência**, 1, 47-55, 2010.
- FORIO, M.A.E.; GOETHALS, P.L.M. An Integrated Approach of Multi-Community Monitoring and Assessment of Aquatic Ecosystems to Support Sustainable Development. **Sustainability**, 12(14), 5603, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/su12145603>.
- GALINDO-MIRANDA, J.M.; GUÍZAR-GONZÁLEZ, C.; BECERRIL-BRAVO, E.J.; MOELLER-CHÁVEZ, G.; LEÓN-BECERRIL, E.; VALLEJO-RODRÍGUEZ, R. Occurrence of emerging contaminants in environmental surface waters and their analytical methodology – a review. **Water Supply**, 19(7), 1871-1884, 2019. <http://dx.doi.org/10.2166/ws.2019.087>.
- GAMBARDELLA, C.; NICHINO, D.; IACOMETTI, C.; FERRANDO, S.; FALUGI, C.; FAIMALI, M. Long term exposure to low dose neurotoxic pesticides affects hatching, viability and cholinesterase activity of *Artemia sp.* **Aquatic Toxicology**, 196, 79-89, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.01.006>.
- GAUTHIER, L.; TARDY, E.; MOUCHET, F.; MARTY, J. Biomonitoring of the genotoxic potential (micronucleus assay) and detoxifying activity (EROD induction) in the River Dadou (France), using the amphibian *Xenopus laevis*. **Science of the Total Environment**, v. 323, p. 47- 61, 2004.
- GEISSEN, V.; MOL, H.; KLUMPP, E.; UMLAUF, G.; NADAL, M.; PLOEG, M.D.; ZEE, S.E.A.T.M.; RITSEMA, C.J. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water

resource management. **International Soil And Water Conservation Research**, 3(1), 57-65, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002>.

GENTIL, C. FANTKE, P.; MOTTES, C.; BASSET-MENS, C. Challenges and ways forward in pesticide emission and toxicity characterization modeling for tropical conditions. **The International Journal Of Life Cycle Assessment**, 25(7), 1290-1306, 2019.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11367-019-01685-9>.

GINEBREDÁ, A.; KUZMANOVIC, M.; GUASCH, H.; ALDA, M.L.; LÓPEZ-DOVAL, J.C.; MUÑOZ, I.; RICART, M.; ROMANÍ, A.M.; SABATER, S.; BARCELÓ, D.

Assessment of multi-chemical pollution in aquatic ecosystems using toxic units: compound prioritization, mixture characterization and relationships with biological descriptors. **Science Of The Total Environment**, 468-469, 715-723, 2014.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.086>.

GONÇALVES, C.; MARINS, A.T.; AMARAL, A.M.B.; NUNES, M.E.M.; MÜLLER, T.E.; SEVERO, E.; FEIJÓ, A.; RODRIGUES, C.C.R.; ZANELLA, R.; PRESTES, O.D. Ecological impacts of pesticides on *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: characidae) from the uruguay river, brazil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 205, 111314, 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111314>.

GONÇALVES, M.W.; CAMPOS, C.B.M.; GODOY, F.R.; GAMBALE, P.G.; NUNES, H.F.; NOMURA, F. BASTOS, R.P. CRUZ, A.D.; SILVA, D.M. Assessing Genotoxicity and Mutagenicity of Three Common Amphibian Species Inhabiting Agroecosystem Environment. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, p.1-12, 2019.

GREWAL, A.S.; SINGLA, A.; KAMBOJ, P.; DUA, J.S. Pesticide Residues in Food Grains, Vegetables and Fruits: a hazard to human health. **Journal Of Medicinal Chemistry And Toxicology**, 2(1), 40-46, 2017. <http://dx.doi.org/10.15436/2575-808x.17.1355>.

GU, H.; YUAN, Y.; CAI, M.; WANG, D.; LV, W. Toxicity of isoprocarb to earthworms (*Eisenia fetida*): oxidative stress, neurotoxicity, biochemical responses and detoxification mechanisms. **Environmental Pollution**, 290, 118038. 2021.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118038>.

GU, C.; HU, L.; ZHANG, X.; WANG, X.; GUO, J. Climate change and urbanization in the Yangtze River Delta. **Habitat International**, v. 35, n. 4, p. 544-552, 2011.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.habitatint.2011.03.002>.

- GUEDES, J.A.; LIMA, R.F.S.; SOUZA, L.C. Metais pesados em água do rio Jundiá - Macaíba/RN. **Revista de Geologia**, 18(2), 131-142, 2005.
- GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**. v. 44, n. 8, p. 1737-1747, 2001.
- GUTIÉRREZ-GÓMEZ, A.A.; JUAN-REYES, N.S.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; ISLAS-FLORES, H.; PÉREZ-ALVÁREZ, I.; GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. 17 β -estradiol induced oxidative stress in gill, brain, liver, kidney and blood of common carp (*Cyprinus carpio*). **Electronic Journal of Biology**, v.12, p. 53-63, 2016.
- GYAWALI, K. Pesticide Uses and its Effects on Public Health and Environment. **Journal Of Health Promotion**, 6, 28-36, 2018. <http://dx.doi.org/10.3126/jhp.v6i0.21801>.
- HALLEGATTE, S.; GREEN, C.; NICHOLLS, R.J.; CORFEE-MORLOT, J. Future flood losses in major coastal cities. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 9, p. 802-806, 2013. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate1979>.
- HE, X.; AKER, W.G.; LESZCZYNSKI, J.; HWANG, H.M. Using a holistic approach to assess the impact of engineered nanomaterials inducing toxicity in aquatic systems. **Journal Of Food And Drug Analysis**, 22(1), 128-146, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.011>.
- HELLMANN, L.; MÓDENES, A.N.; SCHMITZ, A.P.O.; ESPINOZA-QUIÑONES, F.R.; TRIGUEROS, D.E.G.; POKRYWIECKI, T.S.; BOHRER, J.K.; OGLIO, I.C.D.; TONES, A.R.M. Effect of elemental composition assigned to antropoc pollution on the quality of the water and sediment of the Marrecas river (PR, Brazil) as highlighted by multivariate statistical analyses. **Journal Of Environmental Science And Health, Part A**, 57(2), p. 139-153, 2022. <http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2022.2039551>.
- HOFF, R.; ECHEVERRIA, A.D.; HOFF, G.D.; KNEIP, R.C.; JANK, L.; ARSAND, J.; GONÇALVES, F.F. Efficiency of a low-cost pyramid-shaped solar still for pesticide removal from highly contaminated water. **Chemosphere**, 234, 427-437, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.062>.
- HOHENBLUM, P.; GANS, O.; MOCHE, W.; SCHARF, S.; LORBEER, G. Monitoring of selected estrogenic hormones and industrial chemicals in groundwaters and surface waters in Austria. **Science Of The Total Environment**, 333(1-3), 185-193, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.05.009>.

- HOUBRAKEN, M.; SPRANGHERS, T.; CLERCQ, P.; COOREMAN-ALGOED, M.; COUCHEMENT, T.; CLERCQ, G.; VERBEKE, S.; SPANOGHE, P. Pesticide contamination of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: tenebrionidae) for human consumption. **Food Chemistry**, 201, 264-269, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.097>.
- HOUBRAKEN, M.; NGOC, K.D.; BERG, F.D.; SPANOGHE, P. Modelling pesticides volatilisation in greenhouses: sensitivity analysis of a modified pearl model. **Science Of The Total Environment**, 599-600,1408-1416, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.027>.
- HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M.T.; VENTURA, F. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. **Water Research**, 45(3), 1432-1442, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.036>.
- INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ - IAP. **PORTARIA IAP Nº 019, DE 10 DE FEVEREIRO DE 2006. Aprova e determina o cumprimento da Instrução Normativa DIRAM nº 002/2006, que estabelece o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras no Paraná.** Disponível em: [http://www.senaipr.org.br/para-empresas/servicos-laboratoriais/uploadAddress/Portaria_IAP_019_2006\[18507\].pdf](http://www.senaipr.org.br/para-empresas/servicos-laboratoriais/uploadAddress/Portaria_IAP_019_2006[18507].pdf). Acesso em: 02 de set. 2021.
- IBAMA, 2019. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>.
- IGAM - Instituto Mineiro de Gestão das Águas. 2010. Monitoramento da qualidade das águas superficiais na Bacia do Rio Grande em 2009. Belo Horizonte: Instituto Mineiro de Gestão das Águas. 312p.
- INCA. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa de casos novos, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/estado-capital/parana-curitiba>.
- INMETRO. **Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos.** 2017. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_05.pdf. Acesso em: 15 jul 2023.
- INTISAR, A.; RAMZAN, A.; SAWAIRA, T.; KAREEM, A.T.; HUSSAIN, N.; DIN, M.I.; BILAL, M.; IQBAL, H.M.N. Occurrence, toxic effects, and mitigation of pesticides as emerging environmental pollutants using robust nanomaterials – A review. **Chemosphere**, 293, 133538, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133538>.

- ISLAM, M.S.; AHMED, M.K.; HABIBULLAH-AL-MAMUN, M.; HOQUE, M.F. Preliminary assessment of heavy metal contamination in surface sediments from a river in Bangladesh. **Environmental Earth Sciences**, 73, 4, 1837-1848, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-014-3538-5>.
- IVORRA, L.; CARDOSO, P.G.; CHAN, S.K.; TAGULAO, K.; CRUZEIRO, C. Environmental characterization of 4,4'-dichlorobenzophenone in surface waters from Macao and Hong Kong coastal areas (Pearl River Delta) and its toxicity on two biological models: *artemia salina* and *daphnia magna*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 171, 1-11, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.054>.
- JÄRUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin**, 68(1), 167-182, 2003. <http://dx.doi.org/10.1093/bmb/ldg032>.
- KANG, M.J.; KWON, Y.K.; YU, S.; LEE, P.K.; PARK, H.S.; SONG, N. Assessment of Zn pollution sources and apportionment in agricultural soils impacted by a Zn smelter in South Korea. **Journal Of Hazardous Materials**, 364, 475-487, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.046>.
- KASONGA, T.K.; COETZEE, M.A.A.; KAMIKA, I.; NGOLE-JEME, V.M.; MOMBA, M.N.B. Endocrine-disruptive chemicals as contaminants of emerging concern in wastewater and surface water: a review. **Journal Of Environmental Management**, 277, 111485, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111485>.
- KHAN, I.S.; ALI, M.N.; HAMID, R.; GANIE, Showkat Ahmad. Genotoxic effect of two commonly used food dyes metanil yellow and carmoisine using *Allium cepa* L. as indicator. **Toxicology Reports**, 7, 370-375, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.02.009>.
- KUANG, L.; HOU, Y.; HUANG, F.; GUO, A.; DENG, W.; SUN, H.; SHEN, L.; LIN, H.; HONG, H. Pesticides in human milk collected from Jinhua, China: levels, influencing factors and health risk assessment. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 205, 111331, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111331>.
- KWAK, J.I.; NAM, S.H.; KIM, S.W.; BAJAGAIN, R.; JEONG, S.W.; AN, Y.J. Changes in soil properties after remediation influence the performance and survival of soil algae and earthworm. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 174, 189-196, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.079>.
- KWAK, J.I.; AN, Y.J. Assessing potential indicator of endocrine-disrupting property of chemicals using soil invertebrates. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C**:

Toxicology & Pharmacology, v. 245, p. 109036, 2021.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109036>.

KWOK, K.W. H.; BATLEY, G.E.; WENNING, R.J.; ZHU, L.; VANGHELUWE, M.; LEE, S. Sediment quality guidelines: challenges and opportunities for improving sediment management. **Environmental Science And Pollution Research**, 21(1), 17-27, 2013.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11356-013-1778-7>.

LAFARRÉ, M.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELÓ, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, 27(11), 991-1007, 2008.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>.

LANGENBACH, T. Persistence and Bioaccumulation of Persistent Organic Pollutants (POPs). **Applied Bioremediation - Active And Passive Approaches**, 307-331, 2013.

<http://dx.doi.org/10.5772/56418>.

LEE, P.K.; KANG, M.J.; YU, S.; KO, K.S.; HA, K.; SHIN, S.C.; PARK, J.H. Enrichment and geochemical mobility of heavy metals in bottom sediment of the Hoedong reservoir, Korea and their source apportionment. **Chemosphere**, 184, 74-85, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.124>.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, 682(1), 71-81, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.

LI, Y.; WANG, X.; SUN, Z. Ecotoxicological effects of petroleum-contaminated soil on the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal Of Hazardous Materials**, 393, 122384, 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122384>.

LIMA, E.B.; PAIVA, S.C.; RÊGO, R.C.P.; GAZINEU, M.H.P.; SALGUEIRO, A.A. Investigação de metais em água de abastecimento no município do Rio Formoso – PE, **Higiene Alimentar**, v. 15, p. 68-72, 2001.

LIMA, E.B.; PAIVA, S.C.; GAZINEU, M.H.P.; REGO, R.C.P.; SALGUEIRO, A.A. Presença de metais na água do Rio Formoso, PE, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 19, p. 49-53, 2005.

LINKE, A.M.; WITMER, F.D.W.; O'LOUGHLIN, J.; MCCABE, J.T.; TIR, J. Drought, Local Institutional Contexts, and Support for Violence in Kenya. **Journal Of Conflict Resolution**, v. 62, n. 7, p. 1544-1578, 2017. <http://dx.doi.org/10.1177/0022002717698018>.

LISH, R.A.D.; JOHARI, S.A.; SARKHEIL, M.; YU, I.J. On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): a case of silver nanoparticles toxicity. **Environmental Pollution**, 255, 113358, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113358>.

LIZ, M.V.; AMARAL, B.; STETS, S.; NAGATA, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Sensitive Estrogens Determination in Wastewater Samples by HPLC and Fluorescence Detection. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, 1453-1460, 2016. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20160324>.

LÓPEZ-SERNA, R.; PÉREZ, S.; GINEBREDA, A.; PETROVIĆ, M.; BARCELÓ, D. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. **Talanta**, 83(2), 410-424, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.046>.

LUÍZ, A.M.E.; PINTO, M.L.C.; SCHEFFER, E.W.O. Parâmetros de cor e turbidez relacionados aos usos do solo e à morfometria da bacia hidrográfica do rio Taquaral, São Mateus do Sul-PR. **Revista Caminhos da Geografia**, v. 24, p. 290-310, 2012.

LUO, Y.; ZHANG, M. Multimedia transport and risk assessment of organophosphate pesticides and a case study in the northern San Joaquin Valley of California. **Chemosphere**, 75(7), 969-978, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.005>.

LYUBIMOVA, T.; LEPIKHIN, A.; PARSHAKOVA, Y.; TIUNOV, A. The risk of river pollution due to washout from contaminated floodplain water bodies during periods of high magnitude floods. **Journal Of Hydrology**, v. 534, p. 579-589, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2016.01.030>.

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

MAHMOOD, I.; IMADI, S.R.; SHAZADI, K.; GUL, A.; HAKEEM, K.R. Effects of Pesticides on Environment. **Plant, Soil And Microbes**, 253-269, 2016. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3_13.

MALEKI, A.; AMINI, H.; NAZMARA, S.; ZANDI, S.; MAHVI, A.H. Spatial distribution of heavy metals in soil, water, and vegetables of farms in Sanandaj, Kurdistan, Iran. **Journal Of Environmental Health Science And Engineering**, 12(1), 1-10, 2014. <http://dx.doi.org/10.1186/s40201-014-0136-0>.

- MARKMAN, S.; GUSCHINA, I.A.; BARNSELY, S.; BUCHANAN, K.L.; PASCOE, D.; MÜLLER, C.T. Endocrine disrupting chemicals accumulate in earthworms exposed to sewage effluent. **Chemosphere**, v. 70, n. 1, p. 119-125, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.06.045>.
- MARANHO, L.A.; BAENA-NOGUERAS, R.M.; LARA-MARTÍN, P.A.; DELVALLS, T.A.; MARTÍN-DÍAZ, M.L. Bioavailability, oxidative stress, neurotoxicity and genotoxicity of pharmaceuticals bound to marine sediments. The use of the polychaete *Hediste diversicolor* as bioindicator species. **Environmental Research**, v. 134, p. 353-365, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2014.08.014>.
- MARENGO, J.A.; TORRES, R.R.; ALVES, L.M. Drought in Northeast Brazil—past, present, and future. **Theoretical And Applied Climatology**, v. 129, n. 3-4, p. 1189-1200, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s00704-016-1840-8>.
- MASÍS, F.; VALDEZ, J.; COTO, T.; LEÓN, S. Residuos de agroquímicos en sedimentos de ríos, poás, Costa Rica. **Agronomía Costarricense**, v. 32, n. 1, p. 113-123, 2008.
- MATAMOROS, V.; SALVADÓ, V. Evaluation of a coagulation/flocculation-lamellar clarifier and filtration-UV-chlorination reactor for removing emerging contaminants at full-scale wastewater treatment plants in Spain. **Journal Of Environmental Management**, 117, 96-102, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.12.021>.
- MEKONEN, S.; ARGAW, R.; SIMANESEW, A.; HOUBRAKEN, M.; SENAEEVE, D.; AMBELU, A.; SPANOGHE, P. Pesticide residues in drinking water and associated risk to consumers in Ethiopia. **Chemosphere**, 162, 252-260, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.096>.
- MERCADO, S.A.S.; CALEÑO, J.D.Q. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator. **Science Of The Total Environment**, 700, 134452, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134452>.
- MELO, D.C.D.; SCANLON, B.R.; ZHANG, Z.; WENDLAND, E.; YIN, L. Reservoir storage and hydrologic responses to droughts in the Paraná River basin, south-eastern Brazil. **Hydrology And Earth System Sciences**, v. 20, n. 11, p. 4673-4688, 2016. <http://dx.doi.org/10.5194/hess-20-4673-2016>.
- MENEZES, J.M.; PRADO, R.B.; SILVA, G.C.J.; MANSUR, K.L.; OLIVEIRA, E.D.S. Qualidade da água e sua relação espacial com as fontes de contaminação antrópicas e naturais:

bacia hidrográfica do Rio São Domingos-RJ. **Engenharia Agrícola**, v.29, n.4, p.687-698, 2009.

MESAK, C.; MENDES, B.O.; FERREIRA, R.O.; MALAFAIA, G. Mutagenic assessment of *Lithobates catesbeianus* tadpoles exposed to the 2,4-D herbicide in a simulated realistic scenario. **Environmental Science And Pollution Research**, 25(15), 15235-15244, 2018.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11356-018-1979-1>.

METCALFE, C.D.; HELM, P.; PATERSON, G.; KALTENECKER, G.; MURRAY, C.; NOWIERSKI, M.; SULTANA, T. Pesticides related to land use in watersheds of the Great Lakes basin. **Science Of The Total Environment**, v. 648, p. 681-692, 2019.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.169>.

MINGO-HO, Y. *Environmental Toxicology: Biological and Health effects of pollutants*. 2nd ed. CRC Press LLC, Boca Raton, USA. 2005. ISBN 1-56670-670-2.

MIRANDA-CONTRERAS, L.; GÓMEZ-PÉREZ, R.; ROJAS, G.; CRUZ, I.; BERRUETA, L.; SALMEN, S.; COLMENARES, M.; BARRETO, S.; BALZA, A.; ZAVALA, L.

Occupational Exposure to Organophosphate and Carbamate Pesticides Affects Sperm Chromatin Integrity and Reproductive Hormone Levels among Venezuelan Farm Workers. **Journal Of Occupational Health**, 55(3), 195-203, 2013.

<http://dx.doi.org/10.1539/joh.12-0144-fs>.

MOREIRA, M.G.; RODRIGUES, G.Z.P.; GARCIA, A.L.H.; BORBA, D.J.; SCHEFFER, M.G.B.; SILVA, L.C.; PETEFFI, G.P.; LINDEN, R.; CHARÃO, M.F.; GEHLEN, G.

Association of different biomarkers in vivo and in vitro to assess water quality in Ilha River, Southern Brazil. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 22, n. 4, p. 578-588, 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecohyd.2022.07.005>.

MONTAGNER, C.; SODRÉ, F.; ACAYABA, R.; VIDAL, C.; CAMPESTRINI, I.; LOCATELLI, M.; PESCARA, I.; ALBUQUERQUE, A.; UMBUZEIRO, G.; JARDIM, W.

Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, 614-632, 2018. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>.

MOSMANN, T. **Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays**. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.

- MOTTA, A.G.C.; AMARAL, D.F.; BENVINDO-SOUZA, M.; ROCHA, T.S.; SILVA, D.M. Genotoxic and mutagenic effects of zinc oxide nanoparticles and zinc chloride on tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Anura: ranidae). **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 14, 100356, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100356>.
- NASCIMENTO, S.; GÖETHEL, G.; GAUER, B.; SAUER, E.; NARDI, J.; CESTONARO, L.; CORREIA, D.; PERUZZI, C.; MOTA, L.; MACHRY, R.V. Exposure to environment chemicals and its possible role in endocrine disruption of children from a rural area. **Environmental Research**, 167, 488-498, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2018.07.039>.
- NGOC, K.D.; BERG, F.D.; HOUBRAKEN, M.; SPANOGHE, P. Volatilisation of pesticides after application in vegetable greenhouses. **Science Of The Total Environment**, 505, 670-679, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.036>.
- NGAN, D.K.; XIA, M.; SIMEONOV, A.; HUANG, R. In vitro profiling of pesticides within the Tox2110K compound library for bioactivity and potential toxicity. **Toxicology And Applied Pharmacology**, 473, 116600, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2023.116600>.
- NOUR, H.E.; EL-SOROBY, A.S.; ABDEL-WAHAB, M.; ALMADANI, S.; ALFAIFI, H.; YOUSSEF, M. Assessment of sediment quality using different pollution indicators and statistical analyses, Hurghada area, Red Sea coast, Egypt. **Marine Pollution Bulletin**, 133, 808-813, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.046>.
- NUNES, C.N.; PAULUK, L.E.; FELSNER, M.L.; ANJOS, V.E.; QUINÁIA, S.P. Rapid Screening Method for Detecting Ethinyl Estradiol in Natural Water Employing Voltammetry. **Journal Of Analytical Methods In Chemistry**, 2016, 1-7, 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3217080>.
- OJEMAYE, C.Y.; PETRIK, L. Occurrences, levels and risk assessment studies of emerging pollutants (pharmaceuticals, perfluoroalkyl and endocrine disrupting compounds) in fish samples from Kalk Bay harbour, South Africa. **Environmental Pollution**, 252, 562-572, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.091>.
- OOST, R.V.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, 13(2), 57-149, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s1382-6689\(02\)00126-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6).

OROZCO-HERNÁNDEZ, L.; GUTIÉRREZ-GÓMEZ, A.A.; SANJUAN-REYES, N.; ISLAS-FLORES, H.; GARCÍA-MEDINA, S.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; NATIVIDAD, R.; GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. 17 β -Estradiol induces cyto-genotoxicity on blood cells of common carp (*Cyprinus carpio*). **Chemosphere**, v. 191, p. 118-127, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.030>.

PAN, D.; HE, M.; KONG, F. Risk attitude, risk perception, and farmers pesticide application behavior in China: a moderation and mediation model. **Journal Of Cleaner Production**, 276, 124241, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124241>.

PAN, Y.; REN, Y.; LUNING, P.A. Factors influencing Chinese farmers' proper pesticide application in agricultural products – A review. **Food Control**, 122, 107788, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107788>.

(a) PANIS, C.; CANDIOTTO, L.Z.P.; GABOARDI, S.C. Permissiveness of Brazilian Legislation, Widespread Contamination by Pesticides in Food and Water, and Risks to the Population's Health. **Frontiers In Environmental Science**, 10, 1-4, 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fenvs.2022.926434>.

(b) PANIS, C.; KAWASSAKI, A.C.B.; CRESTANI, A.P.J.; PASCOTTO, C.R.; BORTOLOTTI, D.S.; VICENTINI, G.E.; LUCIO, L.C.; FERREIRA, M.O.; PRATES, R.T.C.; VIEIRA, V.K. Evidence on Human Exposure to Pesticides and the Occurrence of Health Hazards in the Brazilian Population: a systematic review. **Frontiers In Public Health**, 9, 787438, 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2021.787438>.

PARANÁ. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB). Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). Sistema de Monitoramento do Comércio e Uso de Agrotóxicos do Estado do Paraná (SIAGRO) 2020. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/Pagina/Pesquisa-Agrotoxicos>.

PARANÁ. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB). Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). Pesquisa Agrotóxicos. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/Pagina/Pesquisa-Agrotoxicos>.

PARANÁ (2023). [O CONSELHO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS - CERH/PR]. Estabelece diretrizes e critérios gerais para reuso de água no Estado do Paraná. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=449325>. Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

PARDO, L.A.; FREEMAN, L.E.B.; LERRO, C.C.; ANDREOTTI, G.; HOFMANN, J.N.; PARKS, C.G.; SANDLER, D.P.; LUBIN, J.H.; BLAIR, A.; KOUTROS, S. Pesticide

- exposure and risk of aggressive prostate cancer among private pesticide applicators. **Environmental Health**, 19(1), 30, 2020. <http://dx.doi.org/10.1186/s12940-020-00583-0>.
- PARKER, N.; KELLER, A.A. Screening ecological risk of pesticides and emerging contaminants under data limited conditions – Case study modeling urban and agricultural watersheds with OrganoFate. **Environmental Pollution**, 288, 117662, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117662>.
- PAVAN, F.A.; SAMOJEDEN, C.G.; RUTKOSKI, C.F.; FOLADOR, A.; FRÉ, S.P.; MÜLLER, C.; HARTMANN, P.A.; HARTMANN, M.T.. Morphological, behavioral and genotoxic effects of glyphosate and 2,4-D mixture in tadpoles of two native species of South American amphibians. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, 85, 103637, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2021.103637>.
- PEGORARO, Ivo. Vazão do canal para o túnel funcionou só 20%. **Jornal de Beltrão**, Francisco Beltrão, 20 de agosto de 2022. Disponível em: <https://jornaldebeltrao.com.br/livre/vazao-do-canal-para-o-tunel-funcionou-so-20/>. Acesso em: 20 de novembro de 2023.
- PEÑA-GUZMÁN, C.; ULLOA-SÁNCHEZ, S.; MORA, K.; HELENA-BUSTOS, R.; LOPEZ-BARRERA, E.; ALVAREZ, J.; RODRIGUEZ-PINZÓN, M. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: a review of the current literature. **Journal Of Environmental Management**, 237, 408-423, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>.
- PÉREZ, D.J.; OKADA, E.; GERÓNIMO, E.; MENONE, M.L.; APARICIO, V.C.; COSTA, J.L. Spatial and temporal trends and flow dynamics of glyphosate and other pesticides within an agricultural watershed in Argentina. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 36, n. 12, p. 3206-3216, 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.3897>.
- PICININI, J.; OLIVEIRA, R.F.; GARCIA, A.L.H.; SILVA, G.N.; SEBEN, V.C.; SOUZA, G.M.S.; DIAS, J.F.; CORRÊA, D.S.; SILVA, J. In vitro genotoxic and mutagenic effects of water samples from Sapucaia and Esteio streams (Brazil) under the influence of different anthropogenic activities. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 878, p. 503484, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2022.503484>.
- PIETRZAK, D.; WAȚOR, K.; PĘKAŁA, D.; WÓJCIK, J.; CHOCHOREK, A.; KMIECIK, E.; KANIA, J. LC-MS/MS method validation for determination of selected neonicotinoids in

- groundwater for the purpose of a column experiment. **Journal Of Environmental Science And Health, Part B**, 54(5), 424-431. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2019.1574173>.
- PINHEIRO, A.; SILVA, M.R.S. KRAISCH, R. Presença de pesticidas em águas superficiais e subterrâneas na bacia do Itajaí, SC. **Rega**, v. 7, n. 2, p. 17-26, 2010.
- POUCHIEU, C.; PIEL, C.; CARLES, C.; GRUBER, A.; HELMER, C.; TUAL, S.; MARCOTULLIO, E.; LEBAILLY, P.; BALDI, I. Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. **International Journal Of Epidemiology**, 47(1), 299-310, 2017. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyx225>.
- QU, L.; HUANG, H.; XIA, F.; LIU, Y.; DAHLGREN, R.A.; ZHANG, M.; MEI, K. Risk analysis of heavy metal concentration in surface waters across the rural-urban interface of the Wen-Rui Tang River, China. **Environmental Pollution**, 237, 639-649, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.020>.
- RAHMAN, Z.; SINGH, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental Monitoring And Assessment**, 191, 7, 1-21, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-019-7528-7>.
- RAI, P.K.; LEE, S.S.; ZHANG, M.; TSANG, Y.F.; KIM, K.H. Heavy metals in food crops: health risks, fate, mechanisms, and management. **Environment International**, 125, 365-385, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>.
- RAMOS, L.P.N.; LEITE, D.M.; MACEDO, W.A.; FARIAS, C.B.M.; OLIVEIRA, A.S.; DAHMER, N.; KARSBURG, I.V. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effect of *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae) root cells after exposure in water samples of five lakes of Alta Floresta, State of Mato Grosso. **An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, 15(1), 1, 17, 2020. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.2463>.
- RIBEIRO, E.V.; MAGALHÃES, A.P.J.; HORN, A.H.; TRINDADE, W.M. Metais pesados e qualidade da água do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora-MG: índice de contaminação. **Geonomos**, v. 20, n. 1, p. 49-63, 2012. <http://dx.doi.org/10.18285/geonomos.v20i1.27>.
- RICH, C.D.; BLAINE, A.C.; HUNDAL, L.; HIGGINS, C.P. Bioaccumulation of Perfluoroalkyl Acids by Earthworms (*Eisenia fetida*) Exposed to Contaminated Soils. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 881-888, 2015. <http://dx.doi.org/10.1021/es504152d>.

RONCO, A.; BÁEZ, M.C.D.; GRANADOS, Y.P. **Monitoreo Ambiental**. In: MORALES, G.C., Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas - Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. Ottawa: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 172p., 2004.

ROHANI, M.F. Pesticides toxicity in fish: histopathological and hemato-biochemical aspects: a review. **Emerging Contaminants**, 9(3), 100234, 2023.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.emcon.2023.100234>.

SALLA, R.F.; GAMERO, F.U.; RISSOLI, R.Z.; DAL-MEDICO, S.E.; CASTANHO, L.M.; CARVALHO, C.S.; SILVA-ZACARIN, E.C.M.; KALININ, A.L.; ABDALLA, F.C.; COSTA, M.J. Impact of an environmental relevant concentration of 17 α -ethinylestradiol on the cardiac function of bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, 144, 1862-1868, 2016.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.042>.

SANCHEZ, W.; EGEA, E. Health and environmental risks associated with emerging pollutants and novel green processes. **Environmental Science And Pollution Research**, 25(7), 6085-6086, 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-018-1372-0>.

SANTIS, D.G.D. IMPACTOS DE INUNDAÇÕES EM ÁREAS URBANAS: o caso de Francisco Beltrão – PR. *O Espaço Geográfico em Análise*, v. 4, 2000.

<http://dx.doi.org/10.5380/raega.v4i0.3346>.

SANTOS, A.V.; COUTO, C.F.; LEBRON, Y.A.R.; MOREIRA, V.R.; FOUREAUX, A.F.S.; REIS, E.O.; SANTOS, L.V.S.; ANDRADE, L.H.; AMARAL, M.C.S.; LANGE, L.C.

Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in water supply systems in Brazil. **Science Of The Total Environment**, 746, 141011, 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141011>.

SANTOS, F.I.; MIZOBATA, A.A.; SUYAMA, G.A.; CENCI, G.B.; FOLLADOR, F.A.C.; ARRUDA, G.; HELLMANN, L.; GOMES, E.M.V.; SCHMITZ, A.P.O.; POKRYWIECKI, J.C.; LINGNAU, R.; MANOSSO, F.C.; POKRYWIECKI, T.S.; DUSMAN, E. Cytotoxicity and mutagenicity of the waters of the Marrecas River (Paraná, Brazil) to bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*). **Environmental Science and Pollution Research**, 28, 21742–21753, 2021.

SAIRA, B.; BEGUM, F.; KHAN, M.Z.; MUMTAZ, S.; SHEDAYI, A.A.; WAFEE, S.; ALI, K.; ALI, H. A human health risk assessment of heavy metals in drinking water systems of Central-Hunza, Gilgit-Paltistan, Pakistan, 28(3), 2269–2277, 2019.

- SATHISHKUMAR, P.; MEENA, R.A.A.; PALANISAMI, T.; ASHOKKUMAR, V.; PALVANNAN, T.; GU, F.L. Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. **Science Of The Total Environment**, 698, 134057, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134057>.
- SCHECHTMAN, H.; VALLE, D.; SOUZA, M.O. From resistance to persistence: insights of a mathematical model on the indiscriminate use of insecticide. **Plos Neglected Tropical Diseases**, 14(11), e0008862. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0008862>.
- SCHWARZENBACH, R.P.; EGLI, T.; HOFSTETTER, T.B.; VON GUNTEN, U.; WEHRLI, B. Global water pollution and human health. **Annual Review of Environment and Resources**, 35, 109–136, 2010.
- SCHWEITZER, L.; NOBLET, J. Water Contamination and Pollution. **Green Chemistry**, 261-290, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809270-5.00011-x>.
- SEVIM, Ç.; KARA, M. Can probiotics win the battle against environmental endocrine disruptors? **Archiv der Pharmazie**. 71(6), 565–580, 2021.
- SILVA, A.E.P.; ANGELIS, C.F.; MACHADO, L.A.T.; WAICHAMAN, A.V. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008.
- SILVA, A.Q.; ABESSA, D.M.S. Toxicity of three emerging contaminants to non-target marine organisms. **Environmental Science And Pollution Research**, 26(18),18354-18364, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-05151-9>.
- SON, D.; ZERBO, F.; BONZI, S.; SCHIFFERS, B.; SOMDA, I.; SCHIFFERS, B.; LEGREVE, A. Assessment of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Producers' Exposure Level to Pesticides, in Kouka and Toussiana (Burkina Faso). **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, 15(2), 204, 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph15020204>.
- SON, N.T.; CHEN, C.F.; CHEN, C.R. Urban expansion and its impacts on local temperature in San Salvador, El Salvador. **Urban Climate**, v. 32, p. 100617, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.uclim.2020.100617>.
- SOUZA, A.S.S.; RIBEIRO, A.N.; SOUZA, L.L. Soil moisture-based index for agricultural drought assessment: smadi application in pernambuco state-brazil. **Remote Sensing Of Environment**, v. 252, p. 112124, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2020.112124>.
- SURU, S.M. Onion and garlic extracts lessen cadmium-induced nephrotoxicity in rats. **Biometals**, 21(6), 623-633, 2008. <http://dx.doi.org/10.1007/s10534-008-9148-5>.

TAVARES, R.D. Avaliação Físico-Química e ecotoxicológica de efluentes provenientes de estações de tratamento de esgoto. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 5, n. 1, 2014.

TEIXEIRA, G.; VIZENTIN, R. Agrotóxicos: Posição na União Europeia dos Ingredientes Ativos liberados no Brasil. Câmara dos Deputados, Brasília, DF, 2019. Disponível em: <https://contraosagrototoxicos.org/wp-content/uploads/2020/02/AGROTOXICOS-BRASIL-UE-JUL-2019.pdf>.

THUSHARI, G.G.N.; SENEVIRATHNA, J.D.M.. Plastic pollution in the marine environment. **Heliyon**, 6(8), e04709, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04709>.

TORRES, N.H.; AGUIAR, M.M.; FERREIRA, L.F.R.; AMÉRICO, J.H.P.; MACHADO, Â.M.; CAVALCANTI, E.B.; TORNISIELO, V.L. Detection of hormones in surface and drinking water in Brazil by LC-ESI-MS/MS and ecotoxicological assessment with *Daphnia magna*. **Environmental Monitoring And Assessment**, 187(6), 1-13, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-015-4626-z>.

TORRES, N.H.; PUPO, M.M.S.; FERREIRA, L.F.R.; MARANHO, L.A.; AMÉRICO-PINHEIRO, J.H.P.; VILCA, F.Z.; HOLLANDA, L.M.; TORNISIELO, V.L. Spatial and seasonal analysis of antimicrobials and toxicity tests with *Daphnia magna*, on the sub-basin of Piracicaba river, SP, Brazil. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, 5(6), 6070-6076, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.031>.

TORRES, N.H.; SANTOS, G.O.S.; FERREIRA, L.F.R.; AMÉRICO-PINHEIRO, J.H.P.; EGUILUZ, K.I.B.; SALAZAR-BANDA, G.R. Environmental aspects of hormones estriol, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol: electrochemical processes as next-generation technologies for their removal in water matrices. **Chemosphere**, 267, 128888, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128888>.

TRINTINAGLIA, L.; BIANCHI, E.; SILVA, L.B.; NASCIMENTO, C.A.; SPILKI, F.R.; ZIULKOSKI, A.L. Cytotoxicity assays as tools to assess water quality in the Sinos River basin. **Brazilian Journal Of Biology**, 75 (2), 75-80, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.0113>.

TSATSAKIS, A.M.; DOCEA, A.O.; TSITSIMPIKOU, C. New challenges in risk assessment of chemicals when simulating real exposure scenarios; simultaneous multi-chemicals' low dose exposure. **Food And Chemical Toxicology**, 96, 174-176, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.08.011>.

- VAN LOON, A.F.; STAHL, K.; BALDASSARRE, G.; CLARK, J.; RANGE-CROFT, S.; WANDERS, N.; GLEESON, T.; VAN DIJK, A.I.J.M.; TALLAKSEN, L.M.; HANNAFORD, J. Drought in a human-modified world: reframing drought definitions, understanding, and analysis approaches. **Hydrology And Earth System Sciences**, v. 20, n. 9, p. 3631-3650, 2016. <http://dx.doi.org/10.5194/hess-20-3631-2016>.
- VAN GESTEL, C.A.M.; ORTIZ, M.D.; BORGMAN, E.; VERWEIJ, R.A. The bioaccumulation of Molybdenum in the earthworm *Eisenia andrei*: influence of soil properties and ageing. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1614-1619, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.047>.
- VAREDA, J.P.; VALENTE, A.J.M.; DURÃES, L. Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: a review. **Journal Of Environmental Management**, 246, 101-118, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.126>.
- VARGAS-BERRONES, K.; BERNAL-JÁCOME, L.; LEÓN-MARTÍNEZ, L.D.; FLORES-RAMÍREZ, R. Emerging pollutants (EPs) in Latin América: a critical review of under-studied eps, case of study -nonylphenol-. **Science Of The Total Environment**, 726, 138493, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138493>.
- VERONEZ, A.C.S.; SALLA, R.V.; BARONI, V.D.; BARCAROLLI, I.F.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, C.B.R.; CHIPPARI-GOMES, A.R. Genetic and biochemical effects induced by iron ore, Fe and Mn exposure in tadpoles of the bullfrog *Lithobates catesbeianus*. **Aquatic Toxicology**, 174, 101-108, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.011>.
- VELKI, M.; EČIMOVIĆ, S. Changes in exposure temperature lead to changes in pesticide toxicity to earthworms: a preliminary study. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, 40, 3, 774-784, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.09.009>.
- VIEGA, B.L.; ROCHA, A.M.; DÜSMAN, E. Cosmetics with hormonal composition for bioindicators *Artemia salina* L. and *Allium cepa* L. toxic potential. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 6, p. 6659-6666, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-07392-0>.
- VIEIRA, Y.E.M.; BANDEIRA, R.A.M.; SILVA, O.S.J. Multi-depot vehicle routing problem for large scale disaster relief in drought scenarios: the case of the brazilian northeast region. **International Journal Of Disaster Risk Reduction**, v. 58, p. 102193, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdr.2021.102193>.

- VILELA, C.L.S.; BASSIN, J.P.; PEIXOTO, R.S. Water contamination by endocrine disruptors: impacts, microbiological aspects and trends for environmental protection. **Environmental Pollution**, 235, 546-559, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.098>.
- WANG, S.; SHI, C.; FANG, C.; FENG, K. Examining the spatial variations of determinants of energy-related CO₂ emissions in China at the city level using Geographically Weighted Regression Model. **Applied Energy**, v. 235, p. 95-105, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.10.083>.
- WEE, S.Y.; ARIS, A.Z. Occurrence and public-perceived risk of endocrine disrupting compounds in drinking water. **Npj Clean Water**, 2(1), 4, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41545-018-0029-3>.
- WERF, H.M.G.; KNUDSEN, M.T.; CEDERBERG, C. Towards better representation of organic agriculture in life cycle assessment. **Nature Sustainability**, 3(6), 419-425, 2020.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41893-020-0489-6>.
- WU, J.; REN, Z.; ZHANG, C.; MOTELICA-HEINO, M.; DENG, T.; WANG, H.; DAI, J. Effects of soil acid stress on the survival, growth, reproduction, antioxidant enzyme activities, and protein contents in earthworm (*Eisenia fetida*). **Environmental Science And Pollution Research**, 27, 27, 33419-33428, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-04643-y>.
- YANG, K.J.; LEE, J.; PARK, H.L. Organophosphate Pesticide Exposure and Breast Cancer Risk: a rapid review of human, animal, and cell-based studies. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, 17(14), 5030, 2020.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph17145030>.
- ZACARÍAS, V.H.R.; MACHUCA, M.A.V.; SOTO, J.L.M.; EQUIHUA, J.L.P.; CARDONA, A.A.V.; CALVILLO, M.D.L.; GONZÁLEZ, J.V. Hidroquímica Y Contaminantes Emergentes En Aguas Residuales Urbano Industriales De Morelia, Michoacán, México. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, 33(2), 221-235, 2017.
<http://dx.doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.04>.
- ZEGURA, B.; HEATH, E.; CERNOSA, A.; FILIPIC, M. Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. **Chemosphere**, v. 75, p. 1453 – 1460, 2009.
- ZHANG, F.; ZHANG, L.; WANG, Y.; WANG, H. Sexual hormones in a coastal river adjacent to the Bohai Sea: characteristic pollutants and dominantly influencing

factors. **Environmental Research**, v. 212, p. 113133, 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2022.113133>.

ZHOU, X.; LI, Y.; LI, H.; YANG, Z.; ZUO, C. Responses in the crucian carp (*Carassius auratus*) exposed to environmentally relevant concentration of 17 α -Ethinylestradiol based on metabolomics. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, 183, 109501, 2019.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109501>.

ZONTA, J.H.; ZONTA, J.B.; RODRIGUES, J.I.S.; REIS, E.F. Qualidade das águas do Rio Alegre, Espírito Santo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 01, p. 155-161, p. 155-161, 2008.

ZORZO, C.F.; INTICHER, J.J.; BORBA, F.H.; CABRERA, L.C.; DUGATTO, J.S.; BARONI, S.; KREUTZ, G.K.; SEIBERT, D.; BERGAMASCO, R. Oxidative degradation and mineralization of the endocrine disrupting chemical bisphenol-A by an eco-friendly system based on UV-solar/H₂O₂ with reduction of genotoxicity and cytotoxicity levels. **Science Of The Total Environment**, 770, 145296, 2021.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.14529>.

APÊNDICE A

Tabela 1 – Dados da linearidade, limite de quantificação método (LQM) e limite de detecção do método (LDM) do método cromatográfico de determinação dos hormônios estrogênicos.

| Hormônio | Equação linear da curva de calibração | R ² | LQM (µg L ⁻¹) | LDM (µg L ⁻¹) |
|----------|---------------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|
| E1 | Concentração = 6,2226xÁrea | 0,9991 | 0,018 | 0,005 |
| E2 | Concentração = 6,7593xÁrea | 0,9862 | 0,004 | 0,001 |
| EE2 | Concentração = 6,2780xÁrea | 0,9933 | 0,010 | 0,003 |
| E3 | Concentração = 7,6208xÁrea | 0,9989 | 0,003 | 0,001 |

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 2 – Valores do coeficiente de variação e exatidão do método cromatográfico de determinação dos hormônios estrogênicos.

| Concentração (mg L ⁻¹) | Coeficiente de variação (%) | | | | Exatidão (%) | | | |
|------------------------------------|-----------------------------|------|------|------|--------------|-------|--------|--------|
| | E1 | E2 | EE2 | E3 | E1 | E2 | EE2 | E3 |
| 1 | 1,38 | 2,01 | 0,45 | 0,45 | 110,50 | 95,51 | 97,29 | 98,56 |
| 2 | 1,06 | 0,48 | 1,07 | 0,64 | 109,23 | 95,53 | 102,75 | 91,32 |
| 3 | 0,24 | 0,24 | 0,84 | 0,15 | 119,31 | 97,44 | 104,91 | 96,36 |
| 4 | 0,80 | 0,47 | 0,79 | 0,22 | 118,31 | 102,6 | 105,36 | 98,75 |
| 5 | 0,45 | 0,56 | 1,22 | 0,18 | 87,77 | 99,35 | 119,49 | 95,97 |
| 8 | 3,9 | 0,29 | 1,21 | 0,70 | 104,32 | 99,39 | 101,88 | 102,75 |

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 3 – Dados da linearidade, LQM e LDM do método cromatográfico para determinação do agroquímico 2,4D.

| Agroquímico | Equação linear da curva de calibração | R ² | LQM (µg L ⁻¹) | LDM (µg L ⁻¹) |
|-------------|---------------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|
| 2,4D | Concentração = 1,8089xÁrea | 0,9992 | 0,020 | 0,006 |

Fonte: Autoria Própria (2024).

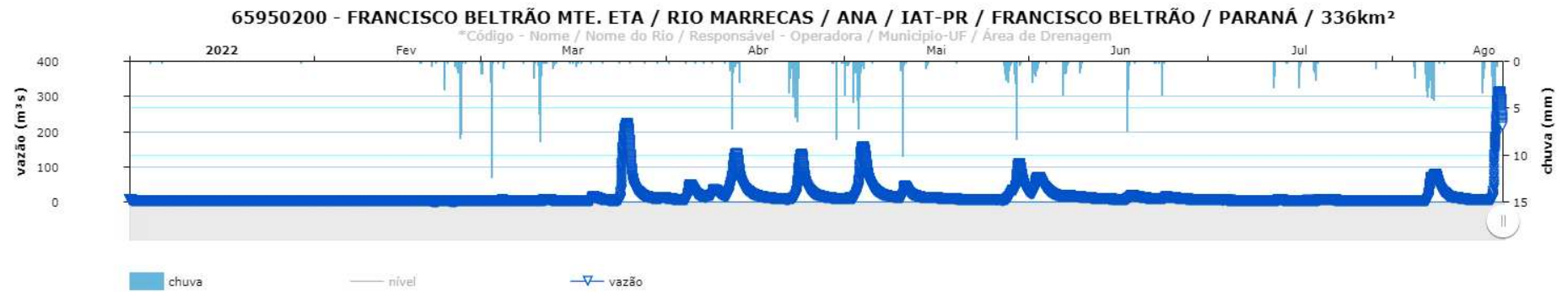
Tabela 4 – Valores do coeficiente de variação e exatidão do método cromatográfico para determinação do agroquímico 2,4D.

| Concentração (mg L ⁻¹) | Coeficiente de variação (%) | Exatidão (%) |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------|
| 0,04 | 3,85 | 117,58 |
| 0,08 | 3,40 | 115,31 |
| 0,1 | 3,27 | 115,16 |
| 0,15 | 3,57 | 116,97 |
| 0,2 | 0,53 | 99,18 |
| 0,3 | 1,82 | 99,49 |
| 0,5 | 2,06 | 98,73 |
| 1 | 2,58 | 99,37 |

Fonte: Autoria Própria (2024).

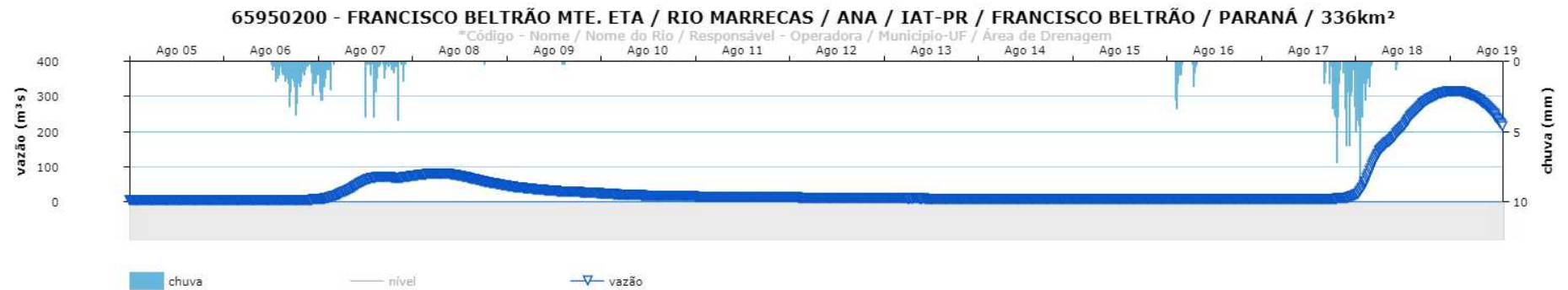
ANEXO I

Figura 1 – Dados da alta vazão coletados do site da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico de janeiro a agosto de 2022.



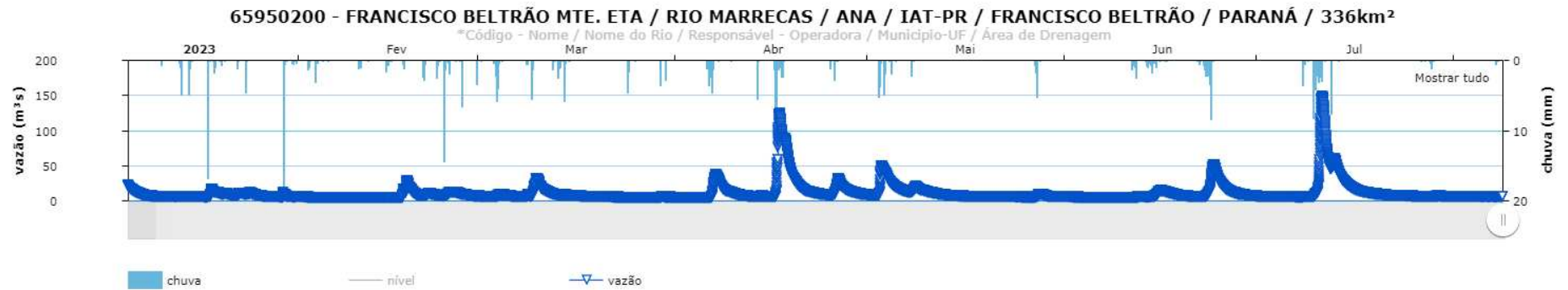
Fonte: Ana (2024).

Figura 2 – Dados da alta vazão coletados do site da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico de agosto de 2022.



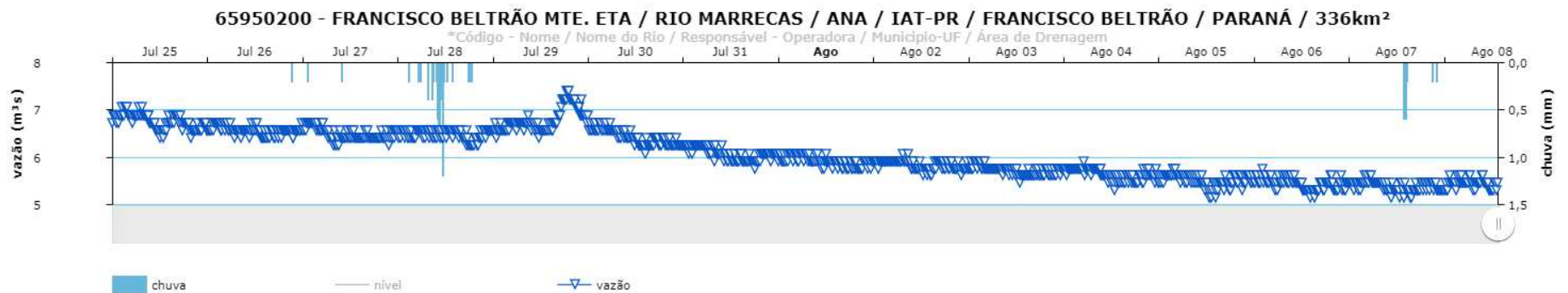
Fonte: Ana (2024).

Figura 3 – Dados da baixa vazão coletados do site da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico de janeiro a agosto de 2023.



Fonte: Ana (2024).

Figura 4 – Dados da alta vazão coletados do site da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico de julho a agosto de 2023.



Fonte: Ana (2024).