

AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DE ÁGUAS E SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA REPRESA BILLINGS E DE CÓRREGOS ADJACENTES POR MEIO DE BIOENSAIOS COM *Sinapis alba*

Marcio Yukihiro Kohatsu (*), Damáris Cristina Peixoto, Tatiane Araújo de Jesus, Lúcia Helena Gomes Coelho, Colin Hunter

* Laboratório de Caracterização de Matrizes Ambientais, Universidade Federal do ABC, mykohatsu@gmail.com

RESUMO

Devido ao lançamento de esgoto não tratado e/ou tratado ineficientemente diretamente em corpos d'água, como é o caso da Represa Billings, a caracterização da qualidade de água fica mais complexa devido à variedade de composição de tais efluentes. Bem como a do sedimento, que nessas situações acaba atuando como um sumidouro de poluentes. Assim, a Ecotoxicologia se mostra uma ferramenta para avaliação da toxicidade dessas matrizes complexas. Um ramo da Ecotoxicologia são os chamados ensaios fitotoxicológicos, que analisam a toxicidade da substância em relação a algumas espécies de plantas. No presente trabalho foram utilizadas sementes de mostarda (*Sinapis alba*) como indicador de toxicidade em amostras de água e sedimento coletadas em quatro estações (Estação (Referência e Captação, no Braço Rio Grande da Represa Billings) e em dois córregos adjacentes (Ribeirão Pires e Tubarão), ambos situados na Região Metropolitana de São Paulo. As coletas de água foram realizadas em triplicata (n=3) em cada estação de amostragem. As coletas de sedimento foram realizadas em duplicata (n=2) em cada estação de amostragem. Já os ensaios foram realizados em duplicata, para aumentar o grau de confiabilidade das informações obtidas. Foi calculado o Índice de Germinação (IG), que considera a capacidade de germinação e crescimento das raízes das sementes. Foi comparado o IG calculado com valores tabelados de toxicidade para determinação do nível tóxico das amostras para a semente de mostarda. Os bioensaios se basearam na comparação com um cenário ótimo de crescimento (controle positivo com água ISO, que otimiza a germinação e crescimento radicular). Foram mensurados os comprimentos das raízes e calculado o Índice de Germinação (IG). Os resultados mostraram que as raízes das sementes cultivadas com amostras de água tiveram crescimento maiores, quando comparadas com as de sedimentos, o que resulta em maiores IGs, e conseqüentemente apontam menores índices de toxicidade. Por outro lado, aquelas desenvolvidas com o extrato aquoso do sedimento apresentaram menores IGs e por conseqüência indicaram maior fitotoxicidade. Ressalta-se a importância em se avaliar o sedimento, visto que ele concentra os poluentes sedimentados. Portanto, é necessário avaliar a fitotoxicidade da água e do sedimento para evitar resultados falso-negativos. Desta forma, o presente estudo demonstrou o potencial dos bioensaios com a *Sinapis alba* como ferramenta de baixo custo para a avaliação da qualidade da água e do sedimento. O presente estudo fez parte de projeto maior intitulado “WEMSI (*Water Environmental Micropollutants Scientific Initiative*)”, desenvolvido em parceria com a GCU (*Glasgow Caledonian University*) e a PUC-PR (Pontifícia Universidade Católica do Paraná).

Palavras-chave: ensaios fitotoxicológicos, índice de germinação, poluição aquática, poluição sedimentar.

INTRODUÇÃO

O Rio Grande é um braço da Represa Billings e, integra o sistema Produtor de Água Rio Grande, o qual, atualmente, produz cerca de 4,7 mil litros de água por segundo e abastece 1,5 milhão de habitantes nos municípios de Diadema, São Bernardo do Campo e parte de Santo André (SABESP, 2017). Assim, avaliar a qualidade de água neste sistema é essencial para verificar a existência de possíveis agentes patogênicos ou substâncias nocivas para a saúde humana e para o ecossistema (NISHIMURA, MOSCHINI-CARLOS & POMPÊO, 2010).

Efluentes lançados em corpos d'água, na maioria dos casos, inserem uma série de substâncias complexas nos ambientes aquáticos, as quais, muitas vezes têm caráter tóxico e de difícil determinação, o que torna necessário o uso de diversas ferramentas analíticas para caracterizá-los (como, por exemplo, biomarcadores e análises físico-químicas) (ZAGATTO, 2014).

A Ecotoxicologia vem se tornando cada vez mais essencial para a caracterização dos impactos que poluentes causam ao meio ambiente (ZAGATTO, 2014). O uso dos testes ecotoxicológicos integra os conceitos de Toxicologia (efeitos adversos dos poluentes sobre as comunidades biológicas) e da Ecologia (diversidade e representatividade dos organismos nos ecossistemas) (PLAA, 1982; MAGALHÃES, 2008). Um ramo da Ecotoxicologia são os ensaios Fitotoxicológicos,

que avaliam a capacidade de inibição de uma amostra (sólida ou líquida) em relação ao processo de desenvolvimento de uma espécie de planta.

Uma série de estudos utilizando ensaios fitotóxicológicos foi realizada para avaliação do nível de toxicidade de águas residuárias. Dentre eles, destaca-se a avaliação da toxicidade aguda de alguns resíduos químicos produzidos em aulas práticas do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná no campus Curitiba (COPELLI et al., 2011). Para tanto, foram utilizadas sementes de rúcula, repolho e alface para a determinação da fitotoxicidade através do Índice de germinação (IG). Pode-se citar também o trabalho de BURTON JR. (2001), no qual foi avaliada a toxicidade aguda de amostras de sedimentos do lago Orta, na Itália, sendo utilizadas diversas metodologias, incluindo fitotoxicidade com sementes de pepino.

Outro aspecto importante é que, durante os estágios iniciais de desenvolvimento vegetal, as sementes são mais sensíveis ao estresse ambiental, o que contribui para a sua utilização em testes de fitotoxicidade (GUERRA & ANGELIS, 2009). Além disso, o rápido desenvolvimento e crescimento radicular de algumas espécies vegetais sugere seu uso como indicador de toxicidade, como ocorre no caso da semente de mostarda (*Sinapis alba*) (GUERRA & ANGELIS, 2009).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o nível de fitotoxicidade, de águas e sedimentos, utilizando sementes de mostarda (*Sinapis alba*), de amostras de água do Braço Rio Grande da Represa Billings e de um córrego adjacente (Ribeirão Pires), localizados na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) e, assim, subsidiar com informações o projeto maior no qual está inserido, intitulado “WEMSI – Water Environment Micropollutant Science Initiative: A GCU-UFABC-PUCPR Collaborative to explore emergent pollutants in Brazilian watercourses (Newton Fund - Institutional Links)”, o qual é realizado em parceria com a GCU (Glasgow Caledonian University, Escócia) e a PUC-PR (Pontifícia Universidade Católica do Paraná).

OBJETIVOS

Avaliar a fitotoxicidade de águas e sedimentos superficiais do Braço Rio Grande da Represa Billings e de dois córregos adjacentes (Ribeirão Pires e Tubarão) por meio de bioensaios com sementes de mostarda (*Sinapis alba*).

METODOLOGIA

Coleta de amostra

As coletas de amostras de água e sedimento foram realizadas no dia 23 de agosto de 2017 em quatro estações de amostragem na Represa Billings: (1) Região mais preservada do Braço Rio Grande, utilizada como Referência devido à presença de vegetação majoritariamente nativa; (2) local de captação de água para abastecimento público pela Companhia de Saneamento Básico de São Paulo (Sabesp); (3) Córrego Ribeirão Pires, local bastante degradado pelo lançamento inadequado de esgotos brutos e que deságua diretamente neste braço da Represa Billings e (4) Córrego Tubarão, o qual recebe efluentes tratados a nível secundário da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do Parque Andreense e também deságua neste braço da Represa Billings. A Figura 1 ilustra os locais de coleta de água e sedimento.

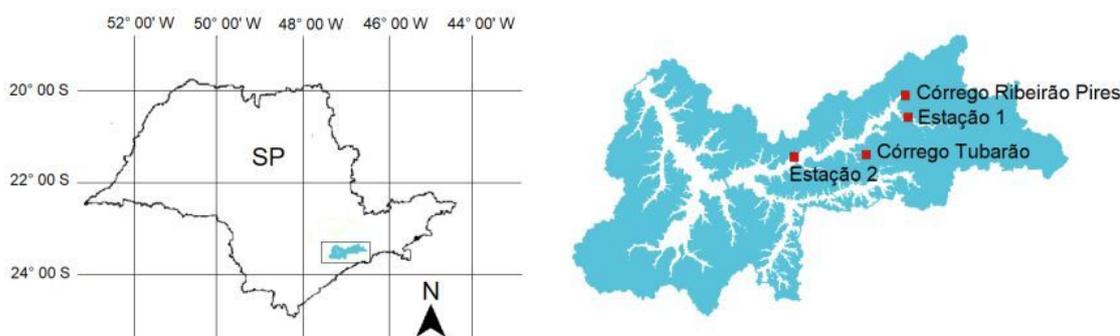


Figura 1: Mapa do Estado de São Paulo com destaque à localização da Represa Billings (à esquerda); Bacia de drenagem da Represa Billings, com destaque para as Estações de amostragem do presente estudo (à direita).

Fonte: Autor do trabalho

As amostras de água foram coletadas na região subsuperficial da coluna d'água (cerca de 10 cm de profundidade) e armazenadas em frascos plásticos. As amostras de sedimento foram coletadas com o auxílio da draga de Ekman e armazenadas em potes de vidro. Todas as amostras foram coletadas em triplicata ($n = 3$). As amostras foram transportadas ao Laboratório de Caracterização de Matrizes Ambientais da Universidade Federal do ABC (UFABC, Santo André, SP), onde foram congeladas ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) para preservação até o dia da análise.

Bioensaios com semente de *Sinapis alba*

O teste de fitotoxicidade baseia-se na inibição do crescimento radicular nos primeiros três dias do período de germinação das plantas em comparação com um cenário ótimo de germinação e crescimento (controle positivo). Os ensaios fitotoxicológicos foram realizados com metodologia adaptada a partir de Belo (2011) e Vieira (2016) para as amostras de água. Para as amostras de sedimento, seguiu-se a metodologia de Belo (2011).

Os bioensaios foram realizados utilizando placas de Petri (90 mm), com papel filtro qualitativo (80 g) no fundo, umedecendo-o com 3 mL da amostra a ser testada, onde foram dispostas 6 sementes de mostarda de maneira centralizada. Além disso, foi preparado o controle positivo utilizando água ISO, seguindo a metodologia da OECD (2004) para o preparo desta. Os bioensaios foram realizados em triplicatas para as amostras de água e em duplicata para as amostras de sedimento.

Para as amostras de água, não foi necessário nenhum tratamento prévio. Já para as amostras de sedimento, foi necessário preparar um extrato aquoso, o qual foi obtido através da agitação de 10 g da amostra de sedimento de cada estação com 100 mL de água ultrapura. Ressalta-se que as amostras de sedimento foram previamente secas em uma estufa de secagem na temperatura de 105°C , durante 24 horas. Os extratos obtidos para cada amostra de sedimento foram acondicionados em frascos de vidro e guardados em geladeira até que o plaqueamento fosse feito.

Em seguida, com as placas preparadas (para as amostras de água e sedimento), estas foram deixadas na horizontal por cerca de 10 minutos para fixação, tampadas e vedadas com filme plástico para evitar perda de água por evaporação. As placas de Petri foram colocadas em uma incubadora na posição vertical, sem exposição à luz e à temperatura de $(21 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ durante o período total de três dias (72 horas).

As variáveis respostas analisadas foram o número de sementes germinadas e o crescimento radicular através da medição do comprimento radicular das sementes, utilizando paquímetro digital (precisão de 0,001 cm).

Para o cálculo da porcentagem relativa de germinação (%RSG) em cada placa, foi utilizada a equação 1:

$$(\%RSG) = \frac{\bar{S}_{\text{germinadas amostras}}}{\bar{S}_{\text{germinadas controle}}} * 100 \quad \text{equação (1)}$$

Onde $\bar{S}_{\text{germinadas amostras}}$ é a média aritmética da quantidade de sementes germinadas nas amostras e $\bar{S}_{\text{germinadas controle}}$ é a média aritmética da quantidade de sementes germinadas no controle.

Para calcular a porcentagem relativa de crescimento radicular (%RRG) em cada placa, foi determinada a razão entre a média aritmética do comprimento das raízes das amostras e a média aritmética do comprimento das raízes do controle apresentada pela equação 2.

$$(\%RRG) = \frac{\bar{S}_{\text{comprimento amostras}}}{\bar{S}_{\text{comprimento controle}}} * 100 \quad \text{equação (2)}$$

Onde $\bar{S}_{\text{comprimento amostras}}$ é o comprimento médio das raízes provenientes das amostras e $\bar{S}_{\text{comprimento controle}}$ é o comprimento médio das raízes provenientes do controle positivo.

Índice de germinação

O Índice de Germinação (IG) foi calculado utilizando a equação 3, onde:

$$IG (\%) = \frac{(\%RSG) * (\%RRG)}{100} \quad \text{equação (3)}$$

O nível de fitotoxicidade das amostras da Represa Billings foi calculado de acordo com a classificação utilizada por Belo (2011), com o auxílio da Tabela 1.

Tabela 1: Classificação qualitativa de fitotoxicidade. Fonte: Belo (2011).

IG	Classificação do material em análise
>100	O material potencializa a germinação e o crescimento das raízes das plantas
80-100	Não Fitotóxico, composto maturado
60-80	Moderadamente Fitotóxico
30-60	Fitotóxico
<30	Muito Fitotóxico

RESULTADOS

A Figura 2 apresenta o crescimento radicular e o IG dos bioensaios realizados. A diferença observada entre os controles positivos se deve à variabilidade das sementes utilizadas nos ensaios, os quais foram realizados com lotes diferentes e em dias diferentes, o que demonstra a importância de preparar um controle positivo a cada bioensaio realizado. Entretanto, isso não interfere nos resultados, uma vez que o cálculo de IG é relativo ao controle positivo.

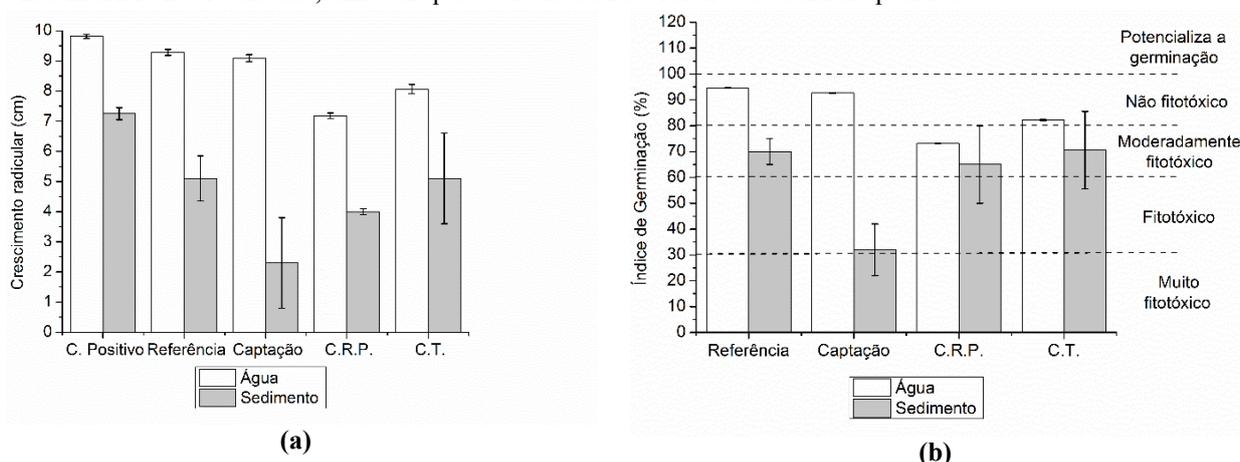


Figura 2. Crescimento radicular (cm) das amostras (a); Índice de germinação (%) das amostras (b). Fonte: Autor do Trabalho.

Nota-se que as sementes cultivadas com amostras de água obtiveram crescimentos radiculares maiores, o que resulta em maiores valores de IG e, conseqüentemente, em menores níveis de fitotoxicidade. Em contrapartida, as que foram desenvolvidas com o extrato do sedimento, tiveram crescimentos radiculares menores em relação aos valores obtidos nos bioensaios para as amostras de água. Desse modo, os valores de IG foram menores, o que classifica o sedimento como sendo mais fitotóxico.

Todas as amostras de água foram classificadas como não fitotóxicas, exceto a do Córrego Ribeirão Pires, a qual foi classificada como moderadamente fitotóxica. Em relação às amostras de sedimento todas foram classificadas como moderadamente fitotóxicas, exceto a da Captação, a qual foi classificada como fitotóxica. Provavelmente isso deve ao fato de o sedimento atuar como um sumidouro de poluentes, o que ressalta a importância de avaliar esse compartimento ambiental.

As amostras classificadas como moderadamente fitotóxicas nesse estudo são comparáveis com os dados obtidos por Dash (2012) ao realizar bioensaios com sementes utilizando amostras de esgoto bruto. Ainda, os valores de IG obtidos para as amostras citadas foram semelhantes aos obtidos para a Estação Ômega no lago Orta, Itália (com alta concentração de metais) (Burton Jr. et al., 2001).

A grande diferença observada para os bioensaios nas duas matrizes avaliadas (água e sedimento) na estação Captação pode estar relacionada ao frequente uso de algicidas. Segundo o Relatório da Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo (CETESB, 2016), para o ponto de monitoramento próximo da Estação Captação, a concentração de clorofila-a e o número de cianobactérias diminuíram a partir de outubro de 2015, o que poderia estar relacionado ao uso de algicidas já que a concentração de cobre dissolvido ultrapassou os limites da Resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005).

Assim, a grande concentração de cobre no sedimento pode ter sido a protagonista fitotóxica da estação. Isso pode ser observado comparando os níveis de fitotoxicidade das amostras de água (não fitotóxico) e sedimento (fitotóxico) da Captação.

CONCLUSÕES

A maioria das amostras de águas e sedimentos avaliadas apresentou algum nível de fitotoxicidade, sendo mais fitotóxico para as amostras de sedimento. Isso demonstra a importância de avaliar esse compartimento ambiental. O sedimento da estação Captação, em particular, foi classificado como fitotóxico e, provavelmente, está relacionado com o constante uso de algicidas diretamente na água.

Desta forma este estudo recomenda a inclusão dos bioensaios com *Sinapis alba* àqueles já existentes para verificar a qualidade das águas e dos sedimentos dos reservatórios, pois, além de ser um ensaio barato e rápido, pode complementar as informações advindas de outras análises convencionais. Ressalta-se que maiores estudos em relação às sementes devem ser realizados para que se encontre a condição de contorno ótima como, por exemplo, a idade apropriada das sementes, na qual elas teriam a sua germinação e crescimento maximizados, pois como não há uma normativa universal, diversos autores utilizam metodologias diferentes. Portanto, as padronizações destes resultados são importantes para se conseguir incluir estes resultados na rotina de monitoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Belo, S. R. 2011. **Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, 79 p.
2. Brasil, 2005. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n. 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, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília, DF. Diário Oficial da União.
3. Burton Jr., A. G.; Baudo, R.; Beltrami, M.; Rowland C.; 2001. **Assessing sediment contamination using six toxicity assays**. Journal of Limnology, 60 (2): 263-267.
4. Burton JR; Allen G.; Baudo, R. B., Monica, B. 2001. **Assessing sediment contamination using six toxicity assays**. Journal of Limnology, 60(2): 263-267.
5. Cetesb, 2016. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Relatório da qualidade das águas interiores no estado de São Paulo em 2016**. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2013/11/Cetesb_QualidadeAguasInteriores_2016_corre%C3%A7%C3%A3o02-11.pdf>. Acesso em: 11 de abril de 2018.
6. Copelli, T. da S.; Oroski Portes, R. C.; Ribeiro Ferreira, R.; Rocha Martins, L.R.; 2011. **Ensaio Preliminar de Fitotoxicidade em Amostras de Resíduos Químicos Produzidos em Aulas Práticas de Graduação em Química**. In: II Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, Londrina – PR, pp. 2-4.
7. Dash, A. K. 2012. **Impact of domestic waste water on seed germination and physiological parameters of rice and wheat**. Department of Environmental Engineering, Institute of Technical Education and Research, Anusandhan University, Bhubaneswar, Odisha, India, 12 (2): 280-286.
8. Magalhães, D. DE P.; Filho, A. DA S. F. A **Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos**. Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental. Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Rio de Janeiro, 2008. Oecologia brasiliensis 12(3): 355-381, 2008.
9. Nishimura P. Y., Moschini-Carlos V. & Pompêo M. **A Represa Billings e as captações de água bruta**. In: II Congresso Estadual de Comitês de Bacias Hidrográficas (2010). Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 19 p., 2010.
10. OECD, 2004. Organisation for Economic Cooperation and Development: **Guideline for testing of chemicals: "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction Test"**. Disponível em: <http://www.oecdilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en>. Acesso em: 21 de novembro, 2017.
11. PLAA, G. L. **Present status: toxic substances in the environment**. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 60(7):1010-1016., 1982.
12. Sabesp, 2017. **Da geração de energia elétrica ao abastecimento público: conheça a história do Sistema Rio Grande**, disponível em:<<http://site.sabesp.com.br/site/imprensa/noticias-detalle.aspx?secaoId=65&id=7465>>. Acesso em 14 de outubro de 2017.
13. Vieira, L.A. 2016. **Compostagem de biossólido de estação de tratamento de efluentes de frigorífico com serragem e cama de aves**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 66 p.



*IX Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental
São Bernardo do Campo/SP – 26 a 29/11/2018*

-
14. Zagatto, P.A. Ecotoxicologia. In: Zagatto, P. A.; Bertoletti, E. (Ed.), 2014. **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa. 2ª ed. cap. 1. p. 1-13.