

AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE EM SEDIMENTOS DO RIO JUQUERI (SP) COM *VIBRIO FISCHERI* E *HYALELLA AZTECA*

Helen Hwang¹; Gabriel Fonseca Alegre²; Sueli Ivone Borrely²; Maurea Nicoletti Flynn¹

RESUMO: Dados os riscos ambientais, é fundamental estudar as interferências que atividades industriais causam aos corpos d'água receptores de efluentes. Com esse propósito, o presente trabalho buscou avaliar a toxicidade do sedimento do rio Juqueri à jusante e à montante do ponto em que recebe o efluente tratado da Indústria e Comércio de Cosméticos Natura Ltda, situada no Km 30,5 da Rodovia Anhangüera, no município de Cajamar (SP). Ensaios ecotoxicológicos vêm sendo feitos utilizando-se para sedimento a bactéria fotoluminescente *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phophereum*) e o anfípodo de água doce *Hyalella azteca*, amplamente testados e padronizados nacional e internacionalmente. Os ensaios com *Hyalella azteca* indicaram significativa mortalidade de indivíduos nas amostras testadas. Ocorreu indício de toxicidade em ensaios com *V. fischeri*. Desse modo, é prudente assumir que com as respostas obtidas nos testes com *V. fischeri* e *H. azteca*, o indício de toxicidade apontado pela fotobactéria alerta para uma possível toxicidade nos trechos do Rio Juqueri à montante e à jusante da Indústria e Comércio de Cosméticos Natura Ltda.

Palavras chaves: toxicidade aguda, sedimentos, Rio Juqueri, *Hyalella azteca*, *Vibrio fischeri*.

ABSTRACT: It is of fundamental importance the study of the interferences that industrial activities cause to water bodies receptor of its discharge effluents. The aim of the present study was to evaluate the toxicity of the sediment of the Juqueri River up and downstream of the point where it receives the treated effluent of the Industry and the Natura Ltda – Cosmetic and Commerce, situated at km 30,5 of the Anhangüera Highway, in Cajamar (SP). To test sediment toxicity it is commonly used the fotoluminescent *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phophereum*) and *Hyalella azteca*, a fresh water amphipode, both widely tested nationally and internationally as standard technique. The tests with *Hyalella azteca* had indicated significant mortality of individuals in the river samples. There was an Indication of toxicity in two tests

¹ Universidade Presbiteriana Mackenzie. email:maureaflynn@mackenzie.br

² Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

with *V. fischeri*. In this manner, there is a clear alert of toxicity concerning the water quality of the Juqueri River at the proximity of the Natura Ltda installation.

Keywords: acute toxicity, sediments, Rio Juqueri, *Hyalella azteca*, *Vibrio fischeri*.

INTRODUÇÃO

Efluentes industriais representam uma das principais fontes de compostos químicos diversificados lançados no meio ambiente pelo homem (NIETO, 1998; JUNGCLAUS *et al.*, 1978), e que frequentemente são indevidamente despejados em corpos hídricos. Essa interferência humana tem agravado o estado de degradação dos ecossistemas naturais por conta da enorme demanda de produtos manufaturados e do nível de elaboração destes compostos artificiais que muitas vezes não são assimilados adequadamente pela natureza. Estes problemas são reflexos de uma demografia em expansão e do maior desenvolvimento tecnológico.

Muitas dessas substâncias emitidas são tóxicas por natureza e/ou pelas concentrações inadequadas em que são introduzidas ao meio, provocando efeitos crônicos e até letais para a biota. Os efeitos deletérios podem compreender alteração de comportamento, enfermidades que impedem a reprodução, anomalias nos descendentes, alta mortalidade em algumas espécies e aumento populacional em outras. Uma investigação minuciosa do ecossistema pode prever quando uma comunidade inteira será perturbada ainda que apenas uma parcela dos seus organismos seja sensível à toxicidade dos elementos lançados, já que os demais serão afetados de forma indireta, seja por mudanças na teia alimentar ou em certas relações mutualísticas. Esse fenômeno é denominado propagação de distúrbio (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006).

O monitoramento ambiental foi durante anos baseado em análises químicas, que quantificam concentrações de poluentes. Todavia, apesar de importantes, é preciso reconhecer a limitação de tais metodologias, pois podem ser insuficientes para a real compreensão das interações dessas substâncias com o sistema biológico (ESPÍNDOLA *et al.*, 2003). Segundo ARAÚJO *et al.* (2006), tal preocupação se baseia no fato de que, desde a gênese até a deposição no leito do rio, reservatório ou lago, “os contaminantes podem se associar a certas partículas tornando-se prontamente disponíveis para o ecossistema, sofrer transformações originando formas mais ou menos tóxicas, ou migrar, via rede trófica, do sedimento para os organismos bentônicos ou para a coluna d’água. Portanto níveis elevados de contaminantes

persistentes no sedimento podem ou não acarretar efeitos para a biota aquática, dependendo de uma série de fatores que alteram a biodisponibilidade e a toxicidade dos mesmos” (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Uma alternativa que é importante e complementar são os ensaios ecotoxicológicos, os quais consideram interações bióticas e abióticas e medem as frações biodisponíveis dos contaminantes para o ambiente através da simulação, em campo ou em laboratório, de alguns eventos biológicos que ocorreriam nos ecossistemas examinados. Nesse caso as amostras cujos ensaios se realizem em laboratório terão uma resposta para os organismos aquáticos selecionados para os ensaios com fenômenos possivelmente similares àqueles correspondentes em meio natural. Isto é, haverá mudanças fisiológicas e/ou comportamentais, reações a serem pesquisadas pelo profissional. Sob essa perspectiva, o resultado do teste de toxicidade auxilia tanto no diagnóstico como no estabelecimento de limites permissíveis de substâncias químicas que podem estar presentes no ecossistema, ou seja, concentrações em que a biota não é afetada (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Diversos estudos são realizados hoje para avaliar toxicidade em atividades industriais e para o monitoramento das águas. Porém em grandes corpos d'água nem sempre é possível identificar efeitos agudos e mesmo crônico embora muitas vezes esse ambiente já esteja muito comprometido, com elevada depreciação do oxigênio dissolvido, que é fator limitante para a vida aquática, entre outros problemas associados aos contaminantes em si (BORRELY *et al.*, 2002; CETESB, 2007).

Com isso, a investigação da contaminação do sedimento em estudos ecotoxicológicos é de suma importância já que este se caracteriza pela capacidade de acumular poluente, tornando-se um verdadeiro testemunho dos impactos sofridos ao longo do tempo pelo corpo receptor (ARAÚJO *et al.*, 2006; ESTEVES, 1988). Dados os riscos ambientais, é fundamental estudar as interferências que atividades industriais causam ao entorno, incluindo corpos d'água receptores de seus efluentes. Com esse propósito, o presente trabalho buscou avaliar a toxicidade do sedimento do rio Juqueri à jusante e à montante da Indústria e Comércio de Cosméticos Natura Ltda, situada no km 30,5 da Rodovia Anhangüera, no município de Cajamar (SP).

METODOLOGIA

O rio Juqueri é o manancial mais representativo da sub-bacia Juqueri-Cantareira, que engloba os municípios paulistas de Cajamar, Caieiras, Franco da Rocha, Francisco Morato, Mairiporã e São Paulo. Este extenso corpo hídrico é responsável pelo abastecimento das principais indústrias da região, incluindo a Indústria e Comércio de Cosméticos Natura Ltda, localizada no município de Cajamar (SP) e, pela formação do reservatório Paiva Castro e parcialmente pelo reservatório Pirapora. O rio também vem sendo utilizado como receptáculo de esgoto doméstico do entorno urbano, o que tem prejudicado a qualidade de suas águas (<http://www.ambiente.cajamar.sp.gov.br>)



Figura 1 – Localização do município de Cajamar (SP).

Imagem extraída de: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Imagem>.

O trabalho de campo consistiu na realização de duas campanhas para coleta de sedimentos em dois pontos na calha do rio Juqueri, sendo eles “B” (S23°56.6"/W046°50'03.8'') à montante do lançamento do efluente da Indústria e Comércio de Cosméticos Natura Ltda e “A” (23°29'07.9"/W046°50'07.1''), à jusante do lançamento do efluente. O rio é altamente turvo, de cor marrom e ao seu redor se estabelece uma mata ciliar aparentemente bem estruturada. Os pontos, de pouca profundidade e com boa incidência de luz solar, foram propositadamente escolhidos por serem de fácil acesso apesar do solo muito lodoso.

Foram realizadas duas campanhas de amostragem, sendo a primeira em fevereiro de 2008 e a segunda em abril do mesmo ano. As coletas foram realizadas utilizando-se uma pá, com a qual foi retirada cuidadosamente uma camada de sedimento com aproximadamente de

10 cm de profundidade. Esse sedimento foi armazenado em quatro sacos plásticos de capacidade de 500 mL, devidamente lacrados e identificados, para cada ponto de amostragem e campanha e mantidos sob refrigeração em caixas de isopor com gelo até a chegada ao laboratório, a fim de evitar a degradação do material.

As amostras foram encaminhadas ao Centro de Tecnologia de Radiações (CTR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), onde foram armazenadas em freezer, com temperatura inferior a -10°C até a execução dos ensaios.

Os organismos-teste selecionados para este trabalho foram a fotobactéria marinha *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*) utilizada para avaliar a toxicidade da água intersticial e o anfípoda de água doce *Hyalella azteca* utilizado para avaliar a toxicidade de amostras de sedimento integral. Na figura 2 foram apresentadas fotografias dos dois organismo-teste utilizados na avaliação de efeitos biológicos.

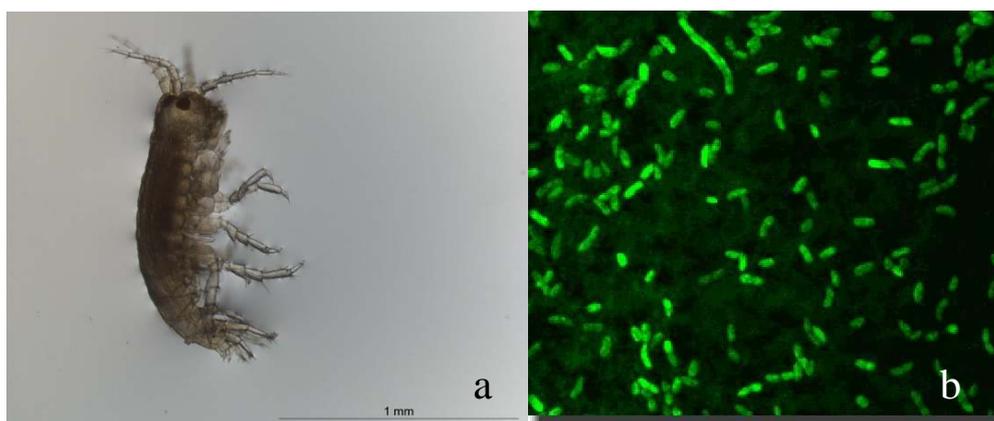


Figura 2 – Fotografia dos organismos-teste: a) *Hyalella azteca* e b) *Vibrio fischeri*

A bactéria marinha *V. fischeri* foi adquirida da empresa Umwelt©, na forma congelada e o organismo *H. azteca* foi cultivado no Laboratório de Ensaios Biológicos Ambientais (LEBA) do CTR/IPEN. Os cultivos foram mantidos em água natural com dureza corrigida, originalmente entre 9 a 11 mg/L de CaCO_3 e ajustada para 44 ± 2 (mg/L CaCO_3). A água para cultivos de organismos-teste desse laboratório é procedente do Reservatório Paiva Castro, Mairiporã, SP.

Todos os ensaios de toxicidade foram realizados no LEBA-IPEN e acolheram as normas ABNT NBR 15470 (2007) para o *H. azteca* e, ABNT NBR 15411-2 (2006) para a bactéria *V. fischeri*. Realizaram-se dois conjuntos de ensaios com *Vibrio fischeri*, referentes às amostras das duas campanhas e dois ensaios com *Hyalella azteca*, ambos correspondentes às amostras da primeira campanha.

Para a realização do ensaio com sedimento integral (*Hyalella azteca*), 75 mL de sedimento bruto foram introduzidos em béqueres de 400 mL e adição 300 mL de água de diluição (a mesma utilizada no cultivo), cuidadosamente, para evitar a ressuspensão do sedimento. Esse sistema foi mantido em repouso por 24h. Posteriormente, 10 organismos jovens, com idade entre 7 e 14 dias, foram adicionados a cada uma das 3 replicatas, totalizando 30 organismos para o primeiro ensaio. No segundo ensaio, foram montadas 4 replicatas, totalizando e 40 organismos. Controles negativos fazem parte de todos os ensaios e neste caso os organismos são expostos somente à água de cultivo e permanecem no conjunto do ensaio de modo que os organismos do controle não devem sofrer efeitos nocivos e esse resultado é útil para validar o ensaio com as amostras ambientais, bem como aqueles ensaios realizados com substância referência.

Para o controle adicionou-se 300 mL de água de cultivo e um pedaço de malha de nylon de 1,5cm² para os organismos se fixarem a este, dado o comportamento epibentônico da espécie

Os valores iniciais do pH da solução (sedimento + água de diluição) foram monitorados antes e após os ensaios de toxicidade, bem como o oxigênio dissolvido na água.

Estes ensaios duraram 10 dias, sendo realizada a troca de 2/3 da água sobrejacente, a cada 2 dias e adicionado 1500 µL de RL (ração de peixe e leveduras). Ao final do ensaio, o efeito avaliado foi a mortalidade dos organismos.

Para extração da água intersticial, as amostras de sedimento bruto foram homogeneizadas centrifugadas a 4000rpm, por 15 min a 6°C. Com auxílio de pipetas Pasteur, cada amostra foi retirada, os sobrenadantes foram colocados em dois recipientes inertes e armazenados sob refrigeração até a execução dos ensaios.

O ensaio com a bactéria *V. fischeri* consistiu em expor as bactérias bioluminescentes às amostras por 15 minutos, sendo registrada a quantidade de luminescência inicial e aquela obtida após a exposição. O equipamento utilizado foi Toxicity Analyser M500 (Microbics®).

As concentrações utilizadas nos ensaios com água intersticial foram 81,9%, 40,95%, 20,47% e 10,23%, além do controle. A sensibilidade do organismo ao fenol (100 ppm) foi utilizada para a validação dos ensaios e para compor a carta de referência.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos ensaios em sedimento integral utilizando *Hyalella azteca* foram tratados utilizando-se o Teste “t” por bioequivalência e constante de bioequivalência (B=0,89)

calculada por BERTOLETTI *et al*, (2007). Os testes estatísticos foram realizados com o programa TOXSTAT, Versão 3.5 (1995). Após a análise estatística, as amostras foram classificadas como “tóxicas” ou “não tóxicas” em relação ao controle.

Os resultados obtidos com amostras de água intersticial para *V. fischeri* foram expressos por CE(I) 50, representando a concentração que reduziu 50% da luminescência produzida pela bactéria, durante uma exposição de 15 minutos, a 15°C. A partir de dados brutos foi gerada uma curva de regressão linear com valores de gama (relação entre luz perdida e luz remanescente) e concentrações da diluição serial, utilizando-se o programa estatístico específico da Microbics®.

RESULTADOS

As características físicas e químicas da água do rio no momento das coletas foram apresentadas na tabela 1, enquanto que os resultados pertinentes à toxicidade aguda foram apresentados na figura 2 e na tabela 2.

Tabela 1 – Características físicas e químicas da água do rio.

	1ª Campanha		2ª Campanha	
	Ponto A	Ponto B	Ponto A	Ponto B
pH	7,04	6,93	6,62	6,75
OD	1,82	1,49	NR	NR
Temp. °C	22,6	22	22,8	22,8

NR: Não Realizado

Na figura 3 encontra-se a porcentagem de sobrevivência dos organismos *H. azteca* expostas às amostras de sedimento integral do Rio Juqueri, para os dois ensaios realizados.

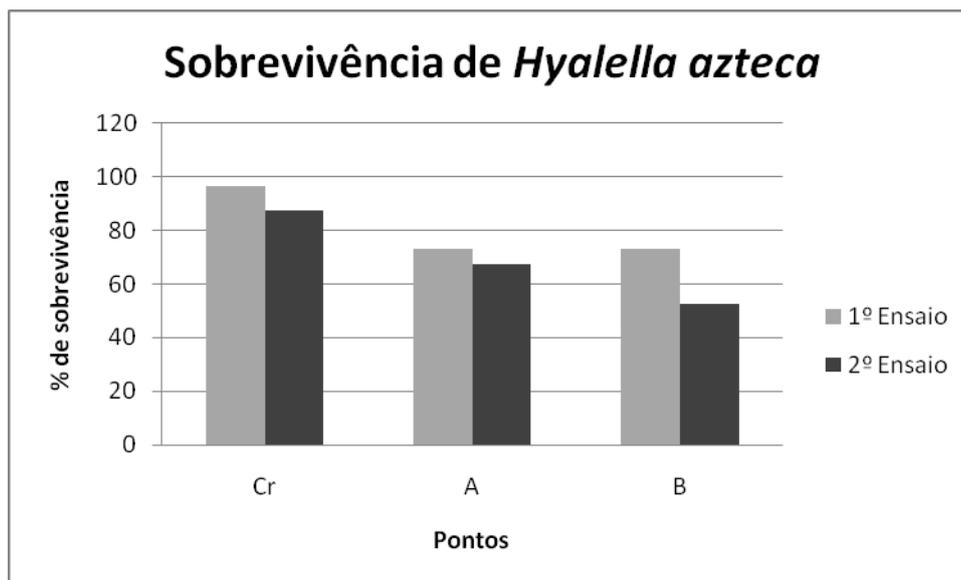


Figura 3 – Sobrevivência de *Hyalella azteca* durante a exposição ao sedimento de rio

A seguir, a tabela 2 apresenta os resultados obtidos após o tratamento estatístico dos resultados obtidos.

Tabela 2 – Resultados obtidos após tratamento estatístico

	<i>Hyalella azteca</i>		<i>Vibrio fischeri</i> CE(I)50%	
	1ª Campanha	1ª Campanha	1ª Campanha	2ª Campanha
Ponto A	NT	NT	63, 95% (57,95 - 70,57)	> 81,9%
Ponto B	NT	NT	> 81,9%	> 81,9%

NT – Não tóxico

DISCUSSÃO

Os ambientes lóticos são coletores naturais da paisagem e refletem o uso e ocupação de suas margens. O sedimento pode ser considerado como o resultado da integração de todos os processos que ocorrem em um ecossistema aquático (ESTEVES, 1988). Tudo o que esteve em algum momento no corpo hídrico migra para o sedimento e aí fica acumulado, atuando este como um testemunho do que ocorreu na coluna de água. Sua contaminação gera consequências negativas não apenas à biota aquática, mas também à saúde humana, daí a grande importância de sua análise. Os principais processos de degradação ocorrem devido à atividade antrópica, onde ocorre o assoreamento e homogeneização dos leitos e a eutrofização artificial, através do enriquecimento do sedimento por aumento de fósforo e nitrogênio

(GOULART e CALLISTO, 2003). Segundo Brigante e Espíndola (2003), diversos contaminantes podem ocasionar a morte de organismos devido ao seu acúmulo ao longo da cadeia trófica, prejudicando inclusive os seres vivos do topo da cadeia, como o homem.

A realização de estudos ecotoxicológicos é fundamental para monitorar, avaliar e compreender a extensão dos impactos ocasionados pela contaminação da água, além de possibilitar a criação de legislações e gerar informações para os setores responsáveis pela saúde pública e pelo ambiente, auxiliando estes na criação de políticas ambientais (BARROS e DAVINO, 2003; BRIGANTE e ESPÍNDOLA, 2003). Quando se estuda a toxicidade de um meio através da Ecotoxicologia, é recomendado que se utilize mais de um organismo-teste adequado para as amostras coletadas, pois a resposta de um único tipo de organismo pode diferir de outro, sobretudo quando a natureza da substância-teste é desconhecida (ARAGÃO & ARAÚJO, 2006). Testes ecotoxicológicos vêm sendo desenvolvidos a fim de disponibilizar metodologias mais adequadas aos mais diversos meios, como é o caso de *Hyalella azteca* e *Vibrio fischeri* para sedimentos, se aprofundando no entendimento dos efeitos diretos ou indiretos de substâncias químicas para organismos-teste.

Os resultados da variável oxigênio dissolvido (OD) da água do rio no momento das coletas mostraram valores muito baixos, entretanto esse parâmetro não afetou os organismos expostos, uma vez que no ensaio com sedimento integral, a água utilizada é a mesma dos cultivos. Evidentemente essa baixa concentração de OD no rio não permitiria a sobrevivência desses organismos naquele sedimento.

A sobrevivência dos organismos expostos às amostras dos pontos à jusante e à montante do efluente da empresa esteve sempre muito próxima da porcentagem do controle, o que aponta uma possível ausência de toxicidade no sedimento integral para este organismo. Isso pôde ser comprovado após a aplicação do teste “t” utilizando a Bioequivalência, onde a sobrevivência em ambos os pontos não se apresentaram significativamente diferentes àquela encontrada no controle, pois este tratamento estatístico leva em consideração uma constante de proporcionalidade específica para cada organismo-teste.

Nos ensaios com água intersticial utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* apenas a amostra proveniente do ponto à jusante do lançamento de efluente da Natura da primeira coleta apresentou-se como moderadamente tóxica, enquanto que os outros pontos apresentaram segundo a mesma classificação, apenas indícios de toxicidade.

CONCLUSÃO

Embora as amostras de sedimento e água intersticial avaliadas neste estudo não tenham apresentado níveis de toxicidade críticos para nenhum dos organismos utilizados, foram detectados indícios de toxicidade que possivelmente seriam confirmados se ensaios que busquem efeitos crônicos fossem realizados.

Aparentemente a bactéria *V. fischeri* foi mais sensível que a *H. azteca* para esse conjunto de amostras de sedimentos.

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) nas águas do rio mantém-se baixa, no trecho estudado, o que demonstra que o rio sofre impactos com excesso de matéria orgânica, sugerindo um acompanhamento mais rigoroso para matéria orgânica, OD e ensaios de toxicidade crônica. Dentre as ações mais efetivas para garantir a melhora dessas águas são o tratamento de esgotos e de efluentes industriais antes de atingirem o Rio Juqueri, garantindo melhores condições tanto para a biota quanto para a população que direta ou indiretamente se abastecem dessas águas.

Agradecimentos: Ao programa de bolsas PIBIC da Universidade Presbiteriana Mackenzie, que forneceu bolsa ao primeiro autor, à Rebeca Cantinha pela fotografia de *H. azteca* e à Empresa de Cosméticos Natura pela participação nos projetos de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ARAGÃO, M. A., ARAÚJO, R. P. A. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. In: *Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 117-147.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT/CEET 00:001.44 – Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Hyalella* spp. – 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 15411-2. Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). Parte 2: Método utilizando bactérias desidratadas. 2006.

ARAÚJO, R. P. A. *et al.* Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. In: *Avaliação da Qualidade de Sedimentos*. ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 269-286.

BARROS, S.B.M. & DAVINO, S.C. In: *Fundamentos de toxicologia. Avaliação da toxicidade*. São Paulo, 2003. v.2, p.57-68.

BRIGANTE, J. & ESPÍNDOLA, E.L.G. In: *Limnologia fluvial. O estudo no rio Mogi-Guaçu: a abordagem metodológica*. São Paulo, 2003. v.1, p.15-22.

BORRELY, S. I., TORNIERI, P. H. & SAMPA, M. H. O. Avaliação da toxicidade aguda em efluentes industriais, afluentes e efluentes de estação de tratamento de esgotos. 395-406 p. In: E. L. G. Espíndola, C. M. R. Botta-Paschoal, O. Rocha, M. B. C. Bohrer & A. L. Oliveira-Neto (eds.) *Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI*. RiMa, São Carlos, São Paulo. 2002.

CETESB, 2007. Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo (2006).

DOMINGUES, D. F., BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. In: *Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos*. ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 153-183.

ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta *et al.* *Ecotoxicologia – Perspectivas para o Século XXI*. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2000. 564 p.

ESTEVES, F. *Fundamentos de Limnologia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP. 1988. 575 p.

GOULART, M. & CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, ano 2, n^o 1. 2003.

JUNGCLAUS, G.A., LOPEZ-ÁVILA, V., HITES, R.A. Organic compounds in an industrial wastewater: a case study of their environmental impact. *Environmental Science & Technology*. p.12-88. 1978.

NIETO, R. *Caracterização ecotoxicológica de efluentes industriais – ferramenta para ações de controle da poluição das águas*. 1998. Tese (Doutorado em Saneamento Ambiental) – Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 1998.

ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 478 p.