

## **Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de corpos d'água utilizados na irrigação de hortaliças em uma região da Grande São Paulo.**

Priscila M. de Maio Lacerda  
CEETEPS – São Paulo – Brasil  
pri\_maio@hotmail.com

Ligia Miyuki Nagao Asano  
FATEC - SO – São Paulo – Brasil  
ligia\_miyuki@hotmail.com

Alice Gomes Morita  
FATEC - SO – São Paulo – Brasil  
aliceg.morita@hotmail.com.

Sílvia Pierre Irazusta  
CEETEPS –São Paulo – Brasil  
FATEC - SO – São Paulo – Brasil  
silvia.pierre@hotmail.com

**Resumo** – Diversos estudos apontam as hortaliças como veículos de disseminação de várias doenças. As águas superficiais utilizadas para a irrigação de hortaliças, principalmente nos cinturões verdes dos centros urbanos, estão, em geral, severamente contaminadas por esgotos domésticos e/ou industriais não tratados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a genotoxicidade e a mutagenicidade das águas e sedimento de corpos hídricos utilizados na irrigação de hortaliças, numa região de mananciais da Grande São Paulo. Para este propósito foram realizados bioensaios utilizando raízes de *Allium cepa* para avaliar os índices de aberrações cromossômicas (IAC) e o índice de Micronúcleos (IMN) em células do meristema e da porção de F1 das raízes. Os resultados das análises química, físicas e microbiológicas desqualificaram estes corpos d'água como classe I, portanto inadequados para irrigação de hortaliças de consumo *in natura*. Embora os resultados dos bioensaios realizados com água superficial e intersticial difiram um pouco, já que as águas superficiais não apresentaram mutagenicidade, os resultados obtidos no sedimento, local onde há maior acumulação de substâncias poluentes, implicam também, em maiores riscos de contaminação devido à possibilidade das substâncias tóxicas contidas no sedimento migrarem e reentrarem na coluna d'água.

Palavras-chave: mutagenicidade, água de irrigação, sedimento, genotoxicidade, *Allium cepa*

## Introdução

As hortaliças são parte integrante da dieta da população mundial. A preocupação com a saúde e o conhecimento de que muitas espécies são excelentes fontes de vitaminas, sais minerais e substâncias antioxidantes e hipocalóricas, fez com que nos últimos dez anos, houvesse uma crescente demanda pelos vegetais verdes folhosos (TABAN e HALKMAN, 2011).

Apesar dos vários benefícios à saúde proporcionados por estes vegetais, diversos estudos realizados em vários países ao redor do mundo, inclusive no Brasil, apontam as hortaliças como veículos de disseminação de várias doenças, fato atribuído principalmente ao uso de águas de irrigação contaminadas.

Marouelli e Silva (1998), afirmam que a quase totalidade das águas superficiais nos cinturões verdes dos grandes centros urbanos, estão severamente contaminadas por efluentes municipais não tratados e que, apesar do risco de transmissão de uma série de doenças ao homem, estas águas contaminadas têm sido utilizadas indiscriminadamente na irrigação. A contaminação de hortaliças não pode ser subestimada já que estes vegetais são vitais para a dieta humana por conterem componentes essenciais necessários ao corpo humano, tais como carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais e também oligoelementos (ITANNA, 2002).

Riscos para a saúde pública decorrentes da utilização de águas residuais estão relacionados com a presença de microrganismos potencialmente patogênicos, substâncias químicas, orgânicas e inorgânicas e substâncias tóxicas, que acima de determinadas concentrações podem ser prejudiciais tanto para os seres humanos, como para os ecossistemas (CHOI et al., 2004; CHIOU, 2008; PAPADOPOULOS et al., 2009). Assim sendo, a adoção de medidas que assegurem as características físicas, químicas, microbiológicas e ecotoxicológicas da água, de modo que as condições sanitárias adequadas da água não só de consumo, mas também de irrigação sejam alcançadas, são essenciais.

A utilização de ensaios de caráter ecotoxicológico, que venham a dar informações quanto ao efeito tóxico causado em ecossistemas por substâncias químicas nele presentes, torna-se cada dia mais importante nas avaliações de impacto ambiental (RAYA-RODRIGUEZ, 2000). Deste modo, a realização de ensaios de toxicidade tem sido incluída em programas de monitoramento, constituindo uma das análises indispensáveis no controle de fontes de poluição (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008).

Os vegetais superiores apresentam características que os tornam excelentes modelos genéticos para avaliação de poluente ambientais, por isso têm sido utilizados com muita frequência em estudos de monitoramento. Contudo, este destaque não se deve, apenas, à sensibilidade de detecção de mutágenos em diferentes ambientes, mas também à possibilidade de utilização de diferentes células e órgãos como biomarcadores genéticos, capazes de detectar desde mutações pontuais até as aberrações cromossômicas (GRANT, 1994).

A análise de alterações cromossômicas serve como teste de genotoxicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a mutagênicos ou carcinogênicos potenciais (SILVA et al., 2003). O índice mitótico e algumas anormalidades nucleares são usados para avaliar a citotoxicidade e a análise do micronúcleo (MN) é usada para verificar a mutagenicidade (LEME e MARIN-MORALES, 2009). O teste do micronúcleo tem

sido muito utilizado para a avaliação de efeitos mutagênicos, tanto em animais como em vegetais (MATSUMOTO et al., 2006; CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008), por ser um teste altamente sensível e eficiente na detecção de efeitos da poluição ambiental.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a genotoxicidade e a mutagenicidade da água e do sedimento de corpos d'água utilizados na irrigação de hortaliças, de três propriedades agrícolas de pequeno porte em uma região de mananciais da grande São Paulo.

## **Metodologia**

No período de abril a setembro de 2011 foram realizadas três coletas de amostras de água e sedimento de três pontos (pequenos cursos d'água) inseridos dentro de propriedades agrícolas particulares, que são utilizados para irrigação de hortaliças folhosas.

No local foram medidos o pH e a temperatura, sendo as demais características físicas e químicas, analisadas no Laboratório de Química e Saneamento da Fatec – SP. Outra porção das mesmas amostras foi enviada para o Laboratório de Ecotoxicologia da Fatec Sorocaba para realização dos bioensaios.

Na avaliação física e química da água, a metodologia utilizada foi a descrita no *Standart Methods For The Examination of Water and Wastewater* e as variáveis de qualidade da água foram analisadas frente aos padrões de qualidade estabelecidos na Resolução CONAMA 357: 2005 (BRASIL, 2005), para águas de Classe 1, que são destinadas à irrigação de hortaliças consumidas cruas. Os parâmetros determinados foram temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido, turbidez, cor, ferro, chumbo, cromo e cobre.

Os ensaios ecotoxicológicos utilizando o organismo *Allium cepa* foram realizados conforme o Protocolo proposto por Ma et al.1995 com modificações. Resumidamente seguem as seguintes etapas:

Foi primeiramente realizada a germinação dos bulbos e exposição das raízes às amostras de água, elutriato ou controles (24hs), seguida por período de recuperação (24hs). A seguir foram coletas as raízes e Fixadas em Carnoy (etanol:ácido acético 3:1).

A preparação das lâminas foi feita pela hidrólise das raízes em HCl 1N, 15'a 60°C, coloração de núcleos em Base de Shiff e nova fixação em Carnoy. A montagem da região meristemática e da região F1 da raiz em lâmina com Carmim e leitura (contagem das AC e MN) das lâminas em Microscópio Óptico.

A metodologia utilizada para análise de coliformes totais e termotolerantes seguiu os padrões estabelecidos na norma técnica da CETESB, L5. 240 abr/91.

## **Resultados e Discussão**

Os dados obtidos nas três campanhas para a água e água intersticial (elutriato) para os três pontos selecionados são mostrados nas figuras 1 e 2.

Os bulbos de *Allium cepa* expostos às amostras de sedimentos coletados nos três pontos estudados exibiram altas frequências de aberrações cromossômicas (AC). O índice de aberrações cromossômicas (IAC) das amostras nas três

campanhas foi estatisticamente diferente do controle negativo, realizado com água destilada. Em relação à atividade mutagênica, representada pela contagem de micronúcleos (MN) na porção F1, também se observou atividade significativamente diferente do controle negativo, porém apenas nas amostras dos pontos 1 e 3, não sendo observado este efeito no ponto 2.

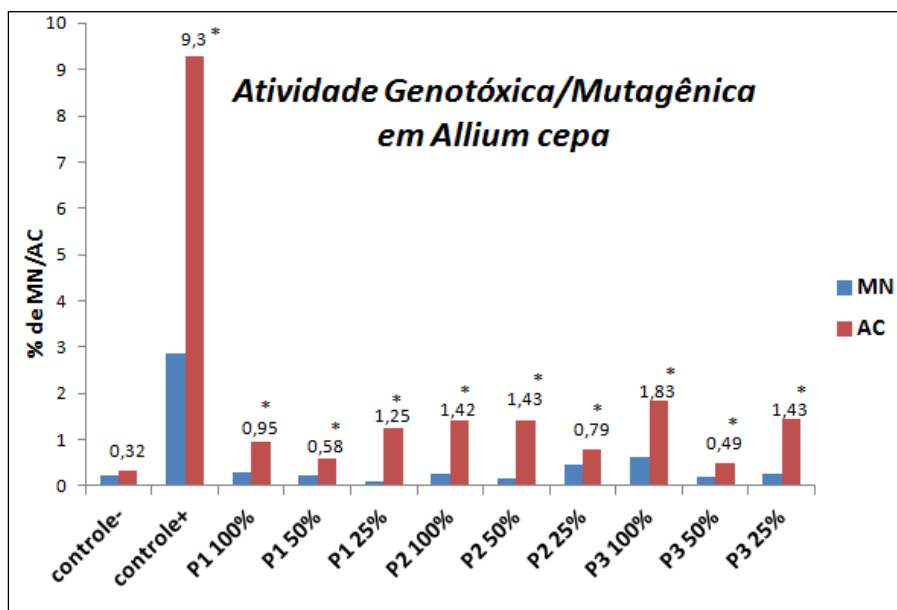


Figura 1 - Porcentagem de micronúcleos (MN) e aberrações cromossômicas (AC) em raízes de *Allium cepa* expostas em água

\* Valores de AC significativamente maiores que o controle negativo

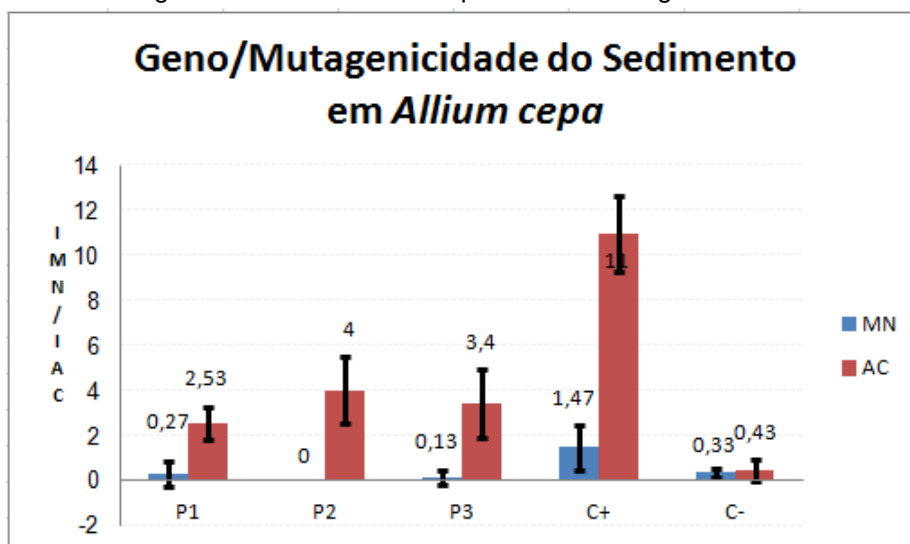


Figura 2 – Índice de Aberrações cromossômicas (AC) e de micronúcleos (MN) em raízes de *Allium cepa* expostas em água intersticial

Os bulbos de *Allium cepa* expostos às águas coletadas nos três pontos estudados exibiram altas frequências de aberrações cromossômicas (AC). A porcentagem de aberrações cromossômicas (AC) das amostras nas três campanhas foi estatisticamente diferente do controle negativo, realizado com água destilada. Em relação à atividade mutagênica, representada pela contagem de micronúcleos (MN) na porção F1, não se verificou diferenças significativas entre estes resultados e o controle negativo, demonstrando, portanto, que não

houve atividade mutagênica nas amostras analisadas. Estes resultados são indicativos de que as AC ocorridas nas células meristemáticas sofreram processo de reparo durante a divisão celular.

De modo geral, os maiores valores de atividade genotóxica foram encontrados nos pontos 2 e 3, sugerindo um maior comprometimento destes pontos pela presença de compostos genotóxicos, resultado que foi igualmente encontrado nas amostras de sedimento. Já quando analisadas as frequências de MN das células meristemáticas expostas às amostras do sedimento, em dois dos três pontos amostrados (P1 e P3), foram observados valores significativamente maiores do que o obtido para o controle negativo, indicando que o sedimento nestes pontos apresenta atividade mutagênica, diferente do que foi observado para as águas superficiais que não apresentaram mutagenicidade.

Esses resultados indicam a provável presença de poluentes de natureza química nestas águas, corroborando com os estudos anteriormente publicados, onde o teste com *Allium cepa* demonstrou-se de grande sensibilidade, capaz de detectar uma grande variedade de poluentes ambientais tais como metais pesados, agrotóxicos, derivados de petróleo, corantes têxteis, misturas complexas, entre outros agentes. As misturas complexas também são responsáveis por apresentar genotoxicidade e mutagenicidade na água e no solo, e se caracterizaram pela maior parte das amostras do ambiente, uma vez que podem sofrer a influência de contaminação por várias fontes (Leme e Marin-Morales, 2009).

Resultados positivos, detectados pela análise de alguns parâmetros em bioensaios com plantas superiores, indicam a presença de substâncias genotóxicas e/ou citotóxicas no meio ambiente, demonstrando um risco potencial direto ou indireto para os seres vivos em contato com o mesmo (FISKESJÖ, 1993).

Utilizando esta mesma metodologia, em um estudo anterior El-Shahaby et.al, (2003), analisaram uma área de Sandub, distrito de Mansoura, Paquistão, amostrando quatro sítios ao longo de 6 quilômetros do rio receptor de efluentes industriais, em sítios a montante e a jusante das descargas. Seus resultados apresentaram provas de que as amostras de água eram altamente mutagênicas, correlacionando-se parcialmente com as determinações de metais pesados nestas amostras. Nossas análises, entretanto, não foram conclusivas quanto à participação de metais pesados no efeito genotóxico/mutagênico observado na tabela 1.

**Tabela 1 - Determinação quantitativa de metais nos pontos de amostragem**

<b>ELEMENTOS (ppm)</b>	<b>Valores de Referência</b> <b>(CONAMA 357:2005)</b>	<b>PONTO 1</b>	<b>PONTO 2</b>	<b>PONTO 3</b>
<b>Cr</b>	0,05 mg/L	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<b>Cu</b>	0,009 mg/L	< 0,002	< 0,002	< 0,002
<b>Pb</b>	0,01 mg/L	< 0,026	< 0,026	< 0,026

A análise individual dos metais nas águas superficiais não apontou níveis de contaminação fora dos padrões da legislação Conama 357: 2005 para cromo e cobre. Embora seja observado valor acima do limite para chumbo, as concentrações encontradas estão próximas ou abaixo do limite de detecção do método (0,02 mg/L). Em complemento a este estudo, organismos-testes foram utilizados para verificar a toxicidade de metais e as amostras não apresentaram efeito tóxico, além disso, não foi possível correlacionar a presença de genotoxicidade em *Allium cepa* com o elemento chumbo.

Sabe-se, ainda, que a toxicidade particularmente para amostras ambientais, não pode ser atribuída a compostos individuais, principalmente por tratar-se de uma amostra complexa e composta pela combinação de vários componentes (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Quanto aos resultados dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos da água [Tabela 2 e 3], estes exibiram valores não conformes com o que a legislação do Conama 357: 2005 determina para águas de irrigação de hortaliças consumidas *in natura*. Os resultados das análises físicas e químicas corroboram com os dados obtidos nos bioensaios com os sedimentos, pois mostraram que os pontos mais afetados são P1 e P3.

**Tabela 2 - Resultados das análises dos parâmetros físicos e químicos**

\* valores em negrito representam valores fora do padrão

Parâmetros	Valores de Referência	Campanha 1			Campanha 2			Campanha 3		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Temp. ambiente °C	----	17	17	17	17	18	18	16	15	17
Temp. da água °C	----	17	16	17	12	13	13	13	13	13
pH	6,0 - 9,0	6,4	6,5	6,6	6,2	6,3	6,3	6,6	6,9	6,8
OD (mg/L)	Mín. 6 mg /L	<b>5,70</b>	6,11	6,60	<b>5,21</b>	<b>5,41</b>	<b>5,80</b>	<b>4,07</b>	<b>4,57</b>	<b>4,32</b>
Ferro (mg/L)	Máx. 0,3 mg/L	<b>0,72</b>	0,08	<b>0,56</b>	<b>0,87</b>	<b>0,35</b>	0,09	<b>2,80</b>	<b>1,52</b>	<b>2,94</b>
Condutividade (µS/cm)	Máx. 100 µS/cm	<b>428</b>	<b>177</b>	<b>204</b>	<b>370</b>	<b>220</b>	<b>250</b>	<b>339</b>	<b>170</b>	<b>205</b>
Turbidez (UNT)	Máx. 40 UNT	7,68	11,46	18,54	10,7	5,04	5,27	12,16	8,88	8,50
Cor mgPt/ L	Máx. 75 mg Pt/L	61	69	68	<b>116</b>	56	50	<b>121</b>	<b>77</b>	<b>386</b>

Baixos valores de oxigênio dissolvido (OD), altos valores de condutividade e cor, permitem inferir a existência de uma alta carga de poluição orgânica muito provavelmente oriunda de despejos domésticos nestas águas, também confirmadas pelas análises de coliformes termotolerantes.

**Tabela 3 - Número de coliformes termotolerantes nas amostras**

<b>Locais de amostragem</b>	<b>Coliformes termotolerantes (UFC/ mL )</b>
P1	> 1000
P2	> 1000
P3	> 1000

As análises microbiológicas quantitativas apontaram valores de coliformes fecais bem acima dos limites propostos pela legislação nacional (Conama 357: 2005) e pela OMS. Estes resultados certamente nos permitem afirmar a existência de contaminantes de origem fecal, provenientes de esgotos domésticos, e que indicam risco potencial da presença de microrganismos patogênicos, permitindo a possibilidade de infecção ao homem e outros animais que estão expostos (CAMARGO et al., 2009).

### **Conclusões**

Os resultados das análises químicas, físicas e microbiológicas desqualificaram estes corpos d'água como classe I, portanto inadequados para irrigação de hortaliças de consumo *in natura*.

Embora os resultados dos bioensaios realizados com água superficial e intersticial difiram um pouco, já que as águas superficiais não apresentaram mutagenicidade, os resultados obtidos no sedimento, local onde há maior acumulação de substâncias poluentes, implicam também, em maiores riscos de contaminação devido à possibilidade das substâncias tóxicas contidas no sedimento migrarem e reentrarem na coluna d'água.

Apesar da legislação brasileira não exigir parâmetros ecotoxicológicos para sedimento/águas de irrigação, os bioensaios com sedimentos também são importantes, pois contribuem para uma avaliação abrangente do ecossistema, uma vez que apontam impactos de origens químicas diversas. Ainda que não se tenha realizado a identificação individual dos componentes químicos, nas amostras ambientais a ação combinada destes componentes é mais significativa e o efeito tóxico nos organismos-testes pode assegurar o estudo.

## Referências

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.

CAMARGO, F. P. et al. **Parâmetros químicos e microbiológicos de dois córregos do Cinturão Verde de Ilha Solteira**. In: XXI Congresso de Iniciação científica da UNESP. São José do Rio Preto, 2009.

CARITA, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v.72: 722-725, 2008.

CHIOU, R.J. Risk assessment and loading capacity of reclaimed wastewater to be reused for agricultural irrigation. **Environ Monit Assess** 142:255–262, 2008.

CHOI, C. et al. Role of irrigation and wastewater reuse: comparison of subsurface irrigation and furrow irrigation. **Water Sci Technol**, 50:61–68, 2004.

EI-SHAHABY, A.O.; ABDEL M.H.M.; SOLIMAN, M.I; MASHALY, I.A. Genotoxicity screenig of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 6, p. 23-28, 2003.

FISKESJO, G. The *Allium* test. In: wastewater monitoring. **Environ Toxicol Water Qual.**, 8: 291-298, 1993.

GRANT, W.F. The present status of higher plant biossays for detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, v. 310, p. 175-185, 1994.

ITANNA, F. Metals in leafy vegetables grown in Addis Ababa an toxicology implementations. **Ethiopia J. Health Develop.**, 16: 295-302, 2002

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* Test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 682, p. 71-81, 2009.

MA, T. H.; XU, Z.; XU, C; MCCONNEL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G.A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleous assay for clastogenicity of enviromental pollutants. **Mutation Research**, v. 334, p. 185-195, 1995.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, 12 (3): 355-381, 2008.

MARQUELLI, W.A; SILVA, H. R. Aspectos **sanitários da água para fins de irrigação**. In: Comunicado Técnico, nº. 5. Brasília - DF: Embrapa, 1998.



MATSUMOTO, S. T. et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.

PAPADOPOULOS, F. et al. Assessment of reclaimed municipal wastewater application on rice cultivation. **J Environ Manage** 43:135–143, 2009.

RAYA-RODRIGUEZ, M. T. O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar de Porto Alegre. In: Zurita, M. L. L.; Tolfo, A. M. (Org.). A qualidade do ar em Porto Alegre. Porto Alegre: Secretaria Municipal de Meio Ambiente, 2000. p. 68-76.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. 2003. **Genética toxicológica**. Porto Alegre, Alcance, 422p.

TABAN, B.M. ; HALKMAN, K.A. Do leafy green vegetables and their ready-to eat [RTE] salads carry a risk of foodborne pathogens? **Anaerobe** 17: 286-287, 2011.