

AVALIAÇÃO FITOTOXICOLÓGICA DOS SEDIMENTOS DO RESERVATÓRIO RIO GRANDE PERTENCENTE AO COMPLEXO BILLINGS, SÃO PAULO – SP

Letícia Ribeiro Bernardes Casado¹; Thais de Araujo Goya Peduto²; Roseli Frederigi Benassi³, Tatiane Araújo de Jesus⁴

ABSTRACT – It is known that water is a fundamental resource for all living beings to survive. However, the inappropriate discharge of untreated and/ or inefficiently treated sewage, toxic substances and microorganisms degrades the water quality. In this scenario, several Brazilian water bodies are polluted nowadays. The compartment sediment is considered the memory of the aquatic environment and concentrate the pollutants, which can be released again for the water column. In addition, it is a living compartment, where benthic organisms live. Thus, assessing the quality of sediments is of great importance in the conservation of biodiversity and sanitation. The bioassays aim to determine if there are substances that can inhibit the germination of seeds, besides having the advantages of low cost, simplicity in the test, low maintenance and easy acquisition. Therefore, present study aimed to evaluate the phytotoxicity of sediments collected in three sampling stations of the Rio Grande reservoir, using three plant indicators: cucumber seeds (*Cucumis sativus*), garden watercress (*Lepidium sativum*) and mustard (*Sinapis alba*). Results showed toxicity in some samples, highlighting station 2 (Central body) with more toxic results. Station 3 (Ribeirão Pires) in all analyses performed (seed species and collection) resulted in Germination Index (GI) above 100, possibly due to the availability of nutrients in excess deposited in its bed, since this station is close to a sewage disposal. The species of watercress in the garden presented greater sensitivity to GI. The results contribute to advances in a possible future inclusion of bioassays with seeds in the monitoring of water and sediment quality.

Palavras-Chave – bioensaios; índice de germinação; sementes.

¹) Aluna no Programa de Iniciação Científica Júnior, Universidade Federal do ABC, leticia.r.b.casado@gmail.com

²) Mestranda no Programa de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal do ABC, thais.goya@ufabc.edu.br

³) Docente no Programa de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal do ABC, roseli.benassi@ufabc.edu.br

⁴) Docente no Programa de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal do ABC, tatiane.jesus@ufabc.edu.br

1 - INTRODUÇÃO

A preservação da estrutura dos ecossistemas e da função da água doce é essencial para garantir o crescimento e os benefícios para a população (Palma; Matos; Alvarenga, 2018). As alterações que ocorrem na água por causa de substâncias em elevadas concentrações, como fósforo e nitrogênio, estão diretamente relacionadas com a diminuição significativa na qualidade da água e os riscos para a saúde humana em função das toxinas produzidas pelas cianobactérias (Majed et al., 2012; Maroneze et al., 2014). A carga poluidora que flui junto à água pode se depositar e acumular no fundo dos reservatórios, contaminando o sedimento (Peixoto, 2018). De acordo com Franklin et al., (2016), o sedimento atua como um compartimento ambiental que possui elevado potencial de acumulação, tanto de substâncias naturais, quanto de natureza antrópica. Tal propriedade o qualifica como matriz de interesse singular na avaliação dos corpos d'água, pois funciona como um excelente registro da informação ambiental (Bevilacqua, 1996). Como consequências de ordem ecológica e sanitária, podemos citar: a eutrofização artificial (Jeppesen et al., 2017), o acúmulo de metais nos sedimentos de reservatórios (Jesus, 2008; Franklin et al., 2016), a poluição hídrica por pesticidas (Lópes-Doval et al., 2017) e hormônios (Coelho et al., 2020).

A eutrofização é caracterizada pelo aumento excessivo da biomassa de produtores primários (algas e plantas aquáticas) e é desencadeada pelo aumento das concentrações de nutrientes (Jeppesen et al., 2017; Zorzal-Almeida et al., 2017). Quando esse fenômeno atinge os mananciais reservados para o abastecimento público, a situação é ainda mais preocupante devido às toxinas produzidas pelas cianobactérias, que acabam por deixar a água imprópria para utilização. Esse é o caso de alguns reservatórios brasileiros, inclusive o reservatório Rio Grande inserido na malha urbana da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) (Peduto et al., 2019).

O esgoto urbano pode conter altas concentrações de metais como zinco, cobre, arsênio, chumbo, níquel, antimônio, selênio, poluentes orgânicos e compostos organoclorados (*United States Environment Protection Agency – USEPA, 1989*) que, em elevadas concentrações, são tóxicos para as plantas e organismos presentes no corpo hídrico. A contaminação primeiramente presente nas águas, pode sedimentar ao longo do percurso do corpo aquático, por isso, é de grande valia estudos que visem o potencial poluidor dos sedimentos de corpos d'água usados principalmente, no abastecimento público (Rodrigues, 2012).

Os testes ecotoxicológicos regulamentados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) têm a capacidade de mostrar se o sedimento apresenta efeito adverso aos organismos aquáticos. Neste trabalho, será abordado o mesmo objetivo dos testes ecotoxicológicos regulamentados, no entanto, com bioindicadores vegetais. Foram selecionadas três espécies de sementes, sendo a espécie *S. alba*, também chamada de semente de mostarda, originária da Europa e comumente usada na alimentação humana e na medicina, além de ser amplamente usada como bioindicadora em testes fitotóxicos (Paula, 2016). Também foi selecionada a semente de agrião do

jardim (*L. sativum*) que Belo (2011) adotou em seu estudo para a determinação da toxicidade resultante de extratos aquosos obtidos a partir da compostagem de matérias. As sementes de pepino (*C. sativus*), também selecionadas, possuem tamanho avantajado (Rocha, 2017) e Cruz et al. (2013) ressaltam que o uso de bioensaios focados no solo contaminado para avaliação da toxicidade ganhou atenção nos últimos 20 anos como um excelente parâmetro para análise de toxicidade de óleo lubrificante e óleo diesel.

Apesar de ainda não existirem normativas nacionais para os testes de fitotoxicidade, as Regras de Análises de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento normatizam os testes de germinação, que são a base para os bioensaios. Estes bioensaios podem contribuir com a caracterização de matrizes complexas, visto que permitem a classificação das amostras quanto ao nível de toxicidade que apresentam aos organismos testes (Kohatsu et al., 2018). Este estudo é complementar ao projeto de pesquisa intitulado “Relação entre variáveis limnológicas (abióticas e bióticas) e sazonalidade nos fluxos dos gases CH₄ e CO₂ em regiões fluviais das represas Billings e Guarapiranga (São Paulo - SP)” financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo nº 17/10355-1), e tem como objetivo analisar a toxicidade de amostras de sedimento do reservatório Rio Grande por meio de bioensaios com as espécies de sementes *C. sativus*, *L. sativum* e *S. alba*.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Área de estudo

A pesquisa foi realizada no reservatório Rio Grande do Complexo Billings, manancial da RMSP. A Figura 1 apresenta a localização das estações de amostragem, o desemboque dos córregos Ribeirão Pires e Tubarão no braço Rio Grande e a localização da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) do Parque Andreense.

Figura 1: Localização das estações de amostragem (1-2-3) e suas respectivas coordenadas geográficas, os córregos afluentes (Ribeirão Pires e Tubarão) e a Estação de Tratamento de Esgotos do Parque Andreense.



A estação amostral 1 foi selecionada devido à sua proximidade com a captação de água da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp) para o abastecimento da

população após tratamento na Estação de Tratamento de Água (ETA) Rio Grande. Esta estação apresentou aspecto preservado, similar à estação amostral 2 na parte central do reservatório, enquanto a estação amostral 3 foi identificada como a mais poluída, com despejo de esgoto bruto, destacando-se por sua proximidade com a área urbanizada. Foram realizadas três campanhas de amostragens: (1^o coleta) 21/08/2018; (2^o coleta) 28/11/2018 e (3^o coleta) 01/03/2019. Os sedimentos superficiais foram coletados com o auxílio de um coletor manual do tipo draga de *Van Veen*, devidamente identificados, armazenados em embalagens plásticas e transportadas em caixas térmicas com gelo até o laboratório. Após chegada em laboratório, as amostras foram conservadas em geladeira em temperatura entre 6 e 10 °C.

2.2. Preparo do extrato

Para o preparo do extrato, seguiu-se a metodologia apresentada por Peixoto (2018), a qual consistiu em colocar os sedimentos em cadinhos de porcelana (50 mL) para secagem a 105 °C (Marca SOLAB[®], Modelo SL100) por 24 horas. Posteriormente, foram moídos manualmente com auxílio de almofariz e pistilo e, com o auxílio de uma proveta, foram colocados 100 mL de água destilada em um erlenmeyer de 250 mL e adicionados 30 g de sedimento seco, agitados por 1 hora a 160 rpm em uma mesa de agitação (Marca SOLAB[®], Modelo SL-180/DT), sendo, por fim, filtrado em um papel de filtro qualitativo. Após o preparo, os extratos foram transferidos para garrafas plásticas, identificados e acondicionados em geladeira doméstica entre 6 e 10 °C até a realização dos bioensaios.

2.3. Bioensaios

As sementes adotadas nos ensaios de fitotoxicidade referenciam-se na literatura e são isentas de agrotóxicos ou peletização, sendo elas: pepino (*C. sativus*, Marca: Isla[®], Lote: 118953), agrião do jardim (*L. sativum*, Marca: Isla[®], Lote: 120100) e mostarda (*S. alba*, sem marca e lote). Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Caracterização de Matrizes Ambientais da Universidade Federal do ABC e consistiram em incubar as sementes em contato com a amostra, solução de controle positivo, controle negativo e avaliar seu crescimento a partir da medição do comprimento das radículas. O preparo do controle positivo seguiu o método descrito por Kohatsu *et al.* (2018), em que foram adicionados cloreto de cálcio (0,59 mg L⁻¹), sulfato de magnésio (0,25 mg L⁻¹), bicarbonato de sódio (0,13 mg L⁻¹) e cloreto de potássio (0,02 mg L⁻¹) em suas respectivas quantidades, avolumado para 500 mL de água destilada e agitado até a diluição total das substâncias. No controle negativo (dicromato de potássio) foi adicionado (25 mg L⁻¹ K₂Cr₂O₇) a 500 mL de água destilada e agitado até a diluição total da substância (Silva e Mattiolo, 2011). Ambas possuem validade de 3 meses.

A análise baseou-se em descontaminar as placas de Petri de vidro (90 mm de diâmetro), revesti-las com papel de filtro qualitativo (marca Unifil®), gramatura de 80 g m⁻² (Kohatsu *et al.*, 2018) e acrescentar, em cada placa, 3 mL de amostra e 6 sementes dispostas em linha reta a ¼ da altura placa. As placas foram identificadas e embaladas com filme PVC, para conter a evaporação, e então colocadas em incubadora (Solab Científica®), em triplicatas. O período de incubação das sementes da espécie *C. sativus* e *L. sativum* foi de 96 horas e 72 horas para a *S. alba*, todos à temperatura de (20 ± 2) °C como proposto pelas RAS (BRASIL, 2009), na ausência de luz. Para fins de cálculo, usou-se a porcentagem de Germinação Absoluta (%GA) que está apresentada na Equação 1, a porcentagem do Crescimento Relativo das Raízes (%CRR), e o índice de germinação (%IG) nas Equações 2 e 3, respectivamente (Belo, 2011). As radículas foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital de 150 mm (Marca Matrix®, Modelo 316119 MFB) e a classificação que indica o grau de toxicidade existente na amostra a partir da %IG está apresentado na Tabela 1.

$$\%GA = \frac{\text{Média aritmética das sementes germinadas na amostra}}{\text{Média aritmética das sementes germinadas na água ISO}} \times 100 \quad (1)$$

$$\%CRR = \frac{\text{Comprimento médio das raízes da amostra}}{\text{Comprimento médio das raízes da água ISO}} \times 100 \quad (2)$$

$$\%IG = \frac{(\%GA) \times (\%CRR)}{100} \quad (3)$$

Tabela 1: Classificação do Índice de Germinação.

%IG	Classificação do material em análise
<30	Muito fitotóxico
30-60	Fitotóxico
60-80	Moderadamente fitotóxico
80-100	Não fitotóxico
>100	Potencializa a germinação

Fonte: Belo (2011).

2.4. Tratamento estatístico dos dados

Depois da coleta dos dados laboratoriais, recorreu ao *software Excel* da *Microsoft*® para fazer as análises estatísticas como média e desvio padrão. Para verificar a normalidade usou-se o teste de Shapiro-Wilk e para os dados normais foram comparados com o auxílio da Análise de variância (ANOVA) de fator único, seguido do teste de Tukey para definir entre os grupos suas semelhanças estatísticas, caso os dados não apresentem distribuição normal, o teste não paramétrico adotado foi o de Kruskal-Wallis seguido do teste de Mann-Whitney. Todas as análises foram feitas através do *software* livre *Past*®.

3 - RESULTADOS

As amostras apresentaram valores de germinação superiores a 66,7% o que, segundo a USEPA (1989), são dados confiáveis, uma vez que são superiores a 65% das sementes analisadas por amostra. Na Tabela 2, são apresentados os resultados de %IG obtidos para as três espécies de sementes, os três pontos amostrais e as três coletas realizadas no reservatório Rio Grande.

Tabela 2: Valores médios e desvio-padrão do Índice de Germinação (%) para as amostras de extrato de sedimento testadas por sementes de pepino, agrião e mostarda. As cores desta tabela remetem à Tabela 1.

Estação de amostragem	Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)			Agrião do jardim (<i>Lepidium sativum</i>)			Mostarda (<i>Sinapis alba</i>)		
	*1 ^a	*2 ^a	*3 ^a	*1 ^a	*2 ^a	*3 ^a	*1 ^a	*2 ^a	*3 ^a
	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta
** (1)	57,3 ±27,3	397,0 ±55,6	362,2 ±49,3	27,2 ±15,0	120,0 ±18,2	65,5 ±15,3	697,6 ±255,4	486,3 ±85,7	1.227,7 ±974,3
** (2)	57,7 ±10,3	330,1 ±56,2	506,8 ±62,1	18,9 ±7,9	55,2 ±9,3	91,0 ±13,7	185,8 ±47,7	253,2 ±37,5	2367,5 ±1529,1
** (3)	499,7 ±27,0	1.074,9 ±134,5	1.313,6 ±120,0	202,8 ±33,8	240,2 ±19,6	363,8 ±43,8	4.479,3 ±2.788,8	494,3 ±172,6	2.698,2 ±1.165,9

*Coletas: 1^a – 21/08/2018, 2^a – 28/11/2018 e 3^a – 01/03/2019.

**Estações amostrais: (1) Captação, (2) Corpo central e (3) Ribeirão Pires.

Nota-se de início, que a maioria das amostras potencializaram a germinação. A estação amostral (3) Ribeirão Pires apresentou os valores mais elevados de %IG em todas as coletas, chegando a mais de 4.400% na primeira coleta. Este ponto tem proximidade com o desemboque do Córrego Ribeirão Pires em que Kohatsu et al. (2018), encontraram elevados valores de condutividade elétrica (CE) e sólidos dissolvidos totais (SDT), relacionando as águas desse afluente do reservatório Rio Grande, com despejos de águas residuárias provenientes de ocupação irregular e lançamentos clandestinos. Possivelmente, com a elevada disponibilidade de nutrientes, como o fósforo (P) e nitrogênio (N) as sementes foram superestimuladas, em termos de germinação.

Foi possível observar também, que os valores da primeira coleta (21/08/2018), na estação amostral (1) Captação e (2) Corpo central apresentaram toxicidade de grau médio à elevado, ou seja, fitotóxico e muito fitotóxico, indicando a presença de contaminantes. Em análise dos sedimentos do reservatório Rio Grande, Franklin (2016) encontrou elevados valores de metais como Mercúrio (Hg), Cobre (Cu) e Cádmiio (Cd). Embora não seja possível identificar quais são os contaminantes que causam a toxicidade especificamente (Belo, 2011), os bioensaios já apontam que algo está interferindo no desenvolvimento dos indicadores ambientais.

Comparando o desempenho das espécies de sementes, a espécie de agrião do jardim (*L. sativum*) mostrou-se mais sensível sobre as amostras analisadas do que as sementes de mostarda (*S. alba*) e pepino (*C. sativus*), uma vez que obteve os menores valores de desvio padrão para os

dados de %IG. Também apresentou toxicidade maior em relação às demais espécies com variação dos valores do %IG para a semente de *C. sativus* de $(57,3 \pm 27,3)\%$ a $(1.313,6 \pm 120,0)\%$, enquanto a espécie *L. sativum* $(18,9 \pm 7,9)\%$ a $(363,8 \pm 43,8)\%$ e *S. alba* $(185,8 \pm 47,7)\%$ a $(4.479,3 \pm 2.788,8)\%$.

A análise estatística dos resultados experimentais foi feita através do teste de Shapiro-Wilk, onde verificou-se que os dados de IG da espécie agrião do jardim, mostarda e pepino não são dados normais, precisando utilizar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste de Mann-Whitney para verificação das semelhanças estatísticas. Para o IG, o p do teste de Kruskal-Wallis foi de 0,002, indicando semelhança significativa entre as espécies de sementes analisadas. Posteriormente, foi realizado o teste de Mann-Whitney para identificar quais grupos são semelhantes e o teste apontou que existe semelhança entre dois grupos, as espécies de *C. sativus*, *L. sativum* e *S. alba*, *L. sativum*.

4 - CONCLUSÕES

Conclui-se que a espécie da semente de agrião do jardim (*L. sativum*) obteve os melhores resultados nos testes de fitotoxicidade, pelo fato de ter se mostrado mais sensível às amostras utilizadas do que as outras espécies de sementes, além dos testes apontarem vantagens por ser um bioindicador vegetal, como: baixo custo, rapidez na resposta e fácil reprodução. Observa-se também que as análises realizadas na estação amostral (3) Ribeirão Pires, apresentaram maior crescimento das radículas das sementes, e um motivo possível para esse resultado é o despejo de esgoto com característica doméstica proveniente do Córrego Ribeirão Pires com elevada carga de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, mascarando assim, possíveis componentes tóxicos presentes no sedimento. Ressalta-se a necessidade contínua e a importância do monitoramento na construção de dados para fins de tomada de decisão pelos órgãos públicos competentes.

5 - BIBLIOGRAFIA

BELO, S. R. S. (2011). Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem. Dissertação apresentada ao Departamento de Engenharia Mecânica. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal. 68 p.

BEVILACQUA, J. E. (1996). Estudos sobre a caracterização e a Estabilidade de amostras de Sedimento do Rio Tietê, S.P. Tese (Doutorado)- Universidade de São Paulo, São Paulo.

BRASIL (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ ACS, 399 p.

CRUZ, J. M.; LOPES, P. R. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; TAMADA, I. S.; SILVA, N. M. M. G.; BIDOIA, E. D. (2013). *Phytotoxicity of Soil Contaminated with Petroleum Derivatives and biodiesel. Ecotoxicology and Environmental Contamination*. v. 8, n. 1, p. 49-54 doi: 10.5132/eec.2013.01.007.

FRANKLIN, R. L.; FÁVARO, D. I. T.; DAMATTO, S. R. (2016). *Trace metal and rare Earth elements in a sediment profile from the Rio Grande reservoir, São Paulo, Brazil – determination of anthropogenic contamination, dating and sedimentation rates. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 307: 99-110.

JESUS, T. A. (2008). Avaliação do histórico de impactos antrópicos na bacia de drenagem do Lago das Garças (São Paulo - SP), durante o século XX, com base nos estoques de nutrientes, metais pesados e compostos orgânicos em sedimento lacustre. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. doi:10.11606/T.18.2008.tde-13122008-142525. Recuperado em 2020-07-08, de www.teses.usp.br

KOHATSU, M. Y.; JESUS, T. A.; COELHO, L. H. G.; PEIXOTO, D. C.; POCCIA, G. T.; HUNTER, C. (2018). Fitotoxicidade de água superficial da Região Metropolitana de São Paulo utilizando bioensaio com *Sinapis alba*. *Acta Brasiliensis*, v. 2, p. 58-62. DOI: <https://doi.org/10.22571/2526-433885>.

MAJED, N.; LI, Y.; GU, A. Z. (2012). *Advances in techniques for phosphorus analysis in biological sources. Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 1-8.

MARONEZE, M. M.; ZEPKA, L. Q.; VIEIRA, J. G.; QUEIROZ, M. I.; JACOB-LOPES, E. (2014). A tecnologia de remoção de fósforo: gerenciamento do elemento em resíduos industriais. *Revista Ambiente & Água*, v. 9, n. 3. Taubaté.

PALMA, P.; MATOS, C.; ALVARENGA, P. (2018). *Ecological and ecotoxicological responses in the assessment of the ecological status of freshwater systems: A case-study of the temporary stream Brejo of Cagarrão (South of Portugal)*. Departamento de Tecnologias e Ciências Aplicadas: Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Beja.

PAULA, V. de C. S. (2016). Avaliação da fitotoxicidade e ecotoxicidade do extrato bruto de *Microcystis aeruginosa*. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. (2019). Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. *Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação*, Uberaba, MG, v. 4, n. 2, p. 200-212, ISSN: 2359-4748.

PEIXOTO, D. C. (2018). Avaliação fitotoxicológica da qualidade dos sedimentos do Braço Rio Grande da Represa Billings e de dois córregos adjacentes (RMSP) por bioensaios com *Sinapis alba*. Monografia apresentada ao Curso de Graduação da Universidade Federal do ABC.

ROCHA, B. S. (2017). Fitotoxicidade do corante laranja reativo 64 como efluente têxtil tratado por oxidação avançada (US/H₂O₂). Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 50 páginas. Natal – RN.

RODRIGUES, L. C. A. (2012). Toxicidade da água e sedimento do córrego do Pântano, Alfenas – MG: Um estudo temporal e espacial. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas – MG.

SILVA, J. do N.; MATTIOLO, S. R. (2011). Fitotoxicidade do dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) em sementes de alface (*Lactuca sativa*). Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo – CTMSP.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA) (1989). *Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites – 600/3-88/029*, Washington, DC.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de IC Junior à L.R.B.C. e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo nº 17/10355-1 pelo apoio financeiro.