

## ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA E MUTAGÊNICA DA REGIÃO TÊXTIL DE TORITAMA UTILIZANDO *Daphnia magna* e *Biomphalaria glabrata*

Maria Luiza Marinho<sup>1</sup>, Vinicius Henrique Teixeira Moraes<sup>1</sup>, Maira Vasconcelos<sup>1</sup>, Willams Siqueira do Nascimento<sup>1</sup>,  
Danielle Xavier Serapião<sup>2</sup>, Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biofísica e Radiobiologia Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Agência Estadual de Meio Ambiente CPRH<sup>2</sup>  
\*mluizamarinho@gmail.com

### INTRODUÇÃO

A intensa liberação de substâncias químicas no meio ambiente tem causado inúmeros problemas aos seres vivos e um dos primeiros organismos a serem afetados por essas substâncias são os organismos presentes nos ecossistemas aquáticos. Os ecossistemas aquáticos são utilizados como um dos principais locais de despejo de diferentes tipos de dejetos e resíduos produzidos pelo homem, como lançamento de resíduos industriais e domésticos (DE ANDRADE, 2013). Conforme Espindola et al. (2000), a contaminação dos ecossistemas aquáticos que, uma vez despejados no ambiente, interagem de acordo com suas características e com as condições do meio receptor, sendo sujeitos a transformações químicas (hidrólises), físicas (fotólises) e biológicas (decomposição) podendo atingir níveis mais altos da cadeia trófica por meio da bioacumulação. A água é um dos recursos naturais mais importantes do planeta. As principais fontes de água potável são lagos e rios, que constituem apenas 0.3% da água doce no mundo. Esse recurso natural é fundamental para toda comunidade, pois ela é necessária para suprir as necessidades alimentares, de saúde e nos processos produtivos industriais (BAIRD; CANN, 2011).

Dentre estes processos industriais causadores de danos ao meio ambiente, merece destaque o setor têxtil que é considerado um dos segmentos industriais mais poluidores de águas superficiais. Seus processos são responsáveis por consumir elevada quantidade de água, que posteriormente é convertida em efluentes ricos em compostos nocivos ao meio ambiente. (CHEN et al., 2011; PALÁCIO, 2012).

O setor têxtil de Pernambuco é considerado um dos polos economicamente mais importante no estado. A concentração das empresas do setor de confecções encontra-se nos municípios de Caruaru, Santa Cruz do Capibaribe, Surubim e Toritama (SANTOS 2012). Durante o processamento têxtil, aproximadamente 20% da carga de corantes é liberada como resíduos de tingimento nos ecossistemas aquáticos (SILVA 2012). Por serem altamente coloridos, devido à presença de corantes que não se fixaram durante o processo de tingimento, os resíduos têxteis podem ser liberados sem o devido tratamento, interferindo na absorção da luz, provocando modificações nas atividades fotossintetizantes da

biota nos corpos d'água, provocando a morte da flora e fauna aquáticas (SILVA, 2012; CHEN et al., 2011). Além desse fato, estudos indicam que algumas classes de corantes e seus subprodutos podem ser carcinogênicos e/ou mutagênicos; podem conter surfactantes, compostos orgânicos e inorgânicos, sais, óleos e graxas. As análises ecotoxicológicas têm por finalidade saber em qual grandeza as substâncias químicas, isoladas ou em misturas, são nocivas ao meio ambiente e como e onde se manifestam seus efeitos (KNIE & LOPES 2004). É através da toxicologia que se pode avaliar a contaminação ambiental em diversas fontes poluidoras, tais como: efluentes agrícolas, industriais, domésticos, sedimentos, medicamentos e produtos químicos em geral, estimando o grau de impacto que podem causar nos rios, lados e oceanos (AREZON; NETO, 2011). A toxicologia é um método empregado no monitoramento de efluentes industriais com o intuito de minimizar seus impactos e também como requisito para a obtenção e manutenção de licenças junto aos órgãos ambientais (PIMENTEL, et al 2009).

### MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas coletas das águas do Rio Capibaribe na cidade de Toritama em três pontos diferentes: montante, jusante e um Ponto Aleatório em relação às lavanderias têxteis. Para os testes foram utilizados neonatos do microcrustáceo *Daphnia magna* de até 24h de idade expostos às três amostras em diluições: 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% e 0,78%. Após introduzir os 10 neonatos jovens em cada recipiente de teste, incluindo o controle, o ensaio foi coberto filme de PVC com mantido na estufa incubadora em temperatura de 20°C ± 2 °C por 48 horas em bandejas com os béqueres de 50 mL identificados com cada diluição e amostra. O efeito tóxico foi dado através da capacidade natatória dos organismos e mortalidade a partir de uma contagem realizada no final do experimento. A expressão dos resultados foi dada se observada imobilidade maior que 10% nos organismos. Também foram utilizados moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* para testar sua sensibilidade frente a amostras ambientais. Utilizou-se para o bioensaio 80 moluscos adultos com diâmetro de concha entre 12 a 14 mm observados durante cinco

dias consecutivos. Em seguida 60 moluscos sexualmente maduros foram separados para serem utilizados nos experimentos. Os testes de toxicidade aguda com moluscos adultos consistem na exposição do organismo por um período de 48 horas a amostras. Após a exposição os moluscos foram analisados quanto ao comportamento, características morfológicas e mutagenicidade. O procedimento utilizado para preparação das lâminas no teste é feito para verificação de possíveis alterações celulares, como presença de micronúcleo, apoptose celular, grânulos celulares e binucleações. Metodologia estabelecida por Silva, 2013. Para cada indivíduo foi coletado 100 µL de hemolinfa e colocado em lâminas microscópicas, em seguida foi depositado sobre a mesma quantidade de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) misturado com Ringer numa concentração final de 10 mM.

Após esse procedimento, cada lâmina foi colocada por 30 minutos em câmara úmida. Passado este tempo, as células foram fixadas com 200 µL glutaraldeído a 1% em solução de Ringer, por 5 minutos. Para corar as lâminas, foi utilizada uma solução estoque de Giemsa (Merck), Azur- eosina-azul de metileno, diluída em tampão fosfato, pH 6.8, obtendo uma solução final a 5%. As lâminas foram submersas nesta solução por 7 minutos e em seguida lavadas com água destilada e posteriormente submetidas à secagem em temperatura ambiente para serem analisadas no microscópio óptico (Medilux).

### RESULTADO E DISCUSSÃO

Os estudos ecotoxicológicos são fundamentais para avaliar e compreender a extensão de determinados impactos ocasionados pela contaminação da água. Esses estudos possibilitam a criação de legislações e geram 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, APUD FLYNN, 2015). Nesses estudos ecotoxicológicos, a literatura recomenda que sejam utilizados mais de um organismo-teste para as amostras coletadas, pois a resposta de uma substância-teste sob o metabolismo de um único tipo de organismo bioindicador pode diferir de outro, principalmente quando os componentes das amostras analisadas são desconhecidos (ARAGÃO & ARAÚJO, 2006). O microcrustáceo de água doce, *Daphnia magna* tem sido amplamente utilizado como indicador biológico em estudos e controle da qualidade da água e em testes de toxicidade na avaliação de efluentes (NIETO, 2000, LAITANO, 2003). De acordo com Espindola (2000), as *Daphnias* são excelentes bioindicadores de efluentes industriais, principalmente de efluentes têxteis. A daphnia mostrou toxicidade para uma amostra analisada no presente trabalho. Houve 100% de mortes dos neonatos da amostra da jusante até a 16ª diluição, onde havia 6,25% da amostra e 93,75% de meio de cultivo. Esse resultado confirma o alto grau de sensibilidade das daphnias frente a amostras ambientais.

Tabela 1: Resultado da toxicidade da água do Rio sobre *D. magna* mostrando os pontos de coleta.

Diluição	Concentração (%)	Pontos de coleta		
		J	M	P.A
1:1	100	+	-	-
1:2	50	+	-	-
1:4	25	+	-	-
1:8	12,5	+	-	-
1:16	6,25	+	-	-
1:32	3,125	-	-	-
1:64	1,56	-	-	-
1:128	0,78	-	-	-
Fator de Toxicidade		Ft> 3,125	Ft=1	Ft=1

O molusco respondeu positivamente aos ensaios mostrando toxicidade diante das amostras ambientais, que foi expressa através dos danos celulares (Apoptose celular, granulações e binucleações) observados em todos os pontos analisados (Jusante, Montante e Ponto Aleatório).

O gráfico A mostra as apoptoses celulares que ocorrerem na exposição dos moluscos adultos após 48h, para os pontos da Montante, Jusante e Ponto aleatório. Houve diferença significativa ( $P < 0.05$ ) em todos os pontos analisados em comparação ao grupo controle, com destaque para o número de apoptoses celulares encontradas na amostra da jusante que foi muito superior aos demais. Apoptose celular é um fenômeno biológico genético que representa a morte celular, que pode ser causada por fatores externos, tóxicos, imunológicos e infecciosos (ANDRADE, 2011). Essas apoptoses celulares se apresentam como características de defesa do molusco e mostram que houve tentativa de sanar os danos celulares após as exposições ambientais, evidenciando a toxicidade da amostra. No controle não foram encontrados dados significativos.

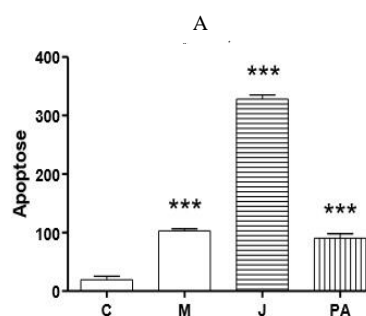


Figura 1: Apoptoses celulares encontradas nos hemócitos após a exposição de 48h.

Essas células fazem parte de uma categoria juntamente com os hialinócitos na hemolinfa. Sabe-se que os granulócitos são os responsáveis pela fagocitose de partículas estranhas e o número destas células bem como a taxa de fagocitose aumentam consideravelmente após exposição a determinado agente tóxico (SERRANO et al., 2002). O resultado obtido nessa análise, onde o  $P < 0.05$  mostra que as granulações encontradas foram significativas principalmente na Montante e na Jusante. No Ponto Aleatório os danos observados não foram significativos, bem como no controle.

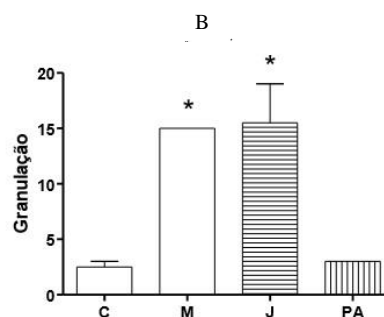


Figura 2. O número de granulócitos observados nos três pontos analisados, porém em maior número nos pontos da Jusante e Montante.

Células binucleadas são células com a presença de dois núcleos e um citoplasma maior em comparação com as células normais. Estas células são um indicativo de que houve falha durante citocinese e isso pode estar relacionado com um atraso da divisão celular e exposição a poluentes tóxicos a poluentes tóxicos ambientais, confirmando o seu potencial para biomonitoramento ambiental (CARRARD, 2007; BOLOGNESI, 2012).

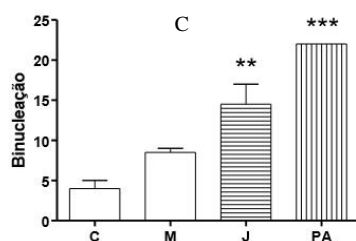


Figura 3. Binucleações encontradas após a exposição, para os pontos da Montante, Jusante e Ponto aleatório, bem como do controle.

## CONCLUSÕES

De acordo com a literatura estudada, os testes de toxicidade com *Daphnia magna* são testes bastante reconhecidos internacionalmente como modelos ideais para bioensaios de qualidade ambiental. Os moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* também têm se mostrado um modelo experimental bastante aceitável, pois as mutações genéticas nos hemócitos são detectáveis após diversas exposições (KAWANO, 1992; MUNZINGER, 1987). A sensibilidade do molusco diante do material analisado corrobora com bioindicadores de amostras ambientais conhecidos na literatura. Além disso, *B. glabrata* possui outras características que o enquadram como um organismo ideal de monitoramento ambiental: ciclo de vida conhecido, fácil manutenção, baixo custo laboratorial, fácil manuseio e testes com resultados rápidos. Os resultados obtidos expressam a sensibilidade do *B. glabrata* frente a amostras.

É de grande importância pesquisas que promovam a descoberta de novos organismos que possam ser utilizados como bioindicadores ambientais. O monitoramento ambiental fornece informações essenciais sobre a extensão dos poluentes e seus prováveis impactos. É através desses estudos que avaliamos as ações mitigadoras, adotadas com a intenção de diminuir e eliminar sua origem, por isso são fundamentais para a avaliação do grau de degradação ambiental. É de extrema importância destacar a utilização de ensaios realizados em conjuntos (ecotoxicidade e mutagenicidade) uma vez que são capazes de gerar respostas em diferentes níveis complementares, permitindo a melhor compreensão do efeito da substância em questão e tornando a avaliação da qualidade da água mais segura (CHAPMAN, 1989).

## REFERENCIAS

- DE ANDRADE JR et al. "Ajustes hematológicos em tambaqui (*Colossoma macropomum curvier*, 1818) exposto a diferentes concentrações de chorume." *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, v. 5, n. 1, p. 71-82, 2013.
- ESPINDOLA, E. L. et al. *Ecotoxicologia : perspectiva para o século XXI*. São Carlos. SP. Ed Rima, p. 757, 2000.
- BAIRD, C.; CANN, M. *Química Ambiental*. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.
- CHEN, B.; XIKUI, W.; CHEN, W.; WENGIANG, J.; SHUPING, L. Degradation of azo dye direct sky blue 5B by sonication combined with zero-valent iron. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.18, p.1091-1096, 2011.

PALÁCIO, S. M. et al. "Estudo da toxicidade de efluente têxtil tratado por foto-fenton artificial utilizando as espécies *lactuca sativa* e *artemia salina*." *ENGEVISTA* 14.2 2012.

SANTOS, V. L., SILVA, P. D. S., SILVA, R., & ALBUQUERQUE, E. C. "Avaliação do processo fenton solar no tratamento de efluente gerado por lavanderia de jeans de Pernambuco." In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA*, 19, Búzios. Anais... São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2012.

KNIE, Joachim L W; LOPES, Ester W B. *Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. 20. E dFlorianópolis: Gráfica Coan, 2005.

ARENZON, Alexandre; NETO, Tiago José Pereira; GERBER, Wagner. "Manual sobre toxicidade em efluentes industriais". Cespe/Senai de Artes Gráficas Henrique D'ávila Bertaso, Porto Alegre, 2011.

PIMENTEL, M. F.; LIMA, D. P. DE; MARTINS, L. R.; BEATRIZ, A.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. Ecotoxicological analysis of cashew nut effluents, specifically two of its major phenolics components, cardol and cardanol. *Pan American Journal of Aquatic Sciences*, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 363-368, 2009.

SILVA, L. R. S.; Avaliação da radiosensibilidade de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* expostos à radiação gama, *Scientia Plena*, v.9, p. 1-6, 2013.

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

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

ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. *Métodos de Ensaios de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. Cap. 6, p: 117 - 152. 2006.

ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática - princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.

FLYNN, Maurea Nicoletti et al. Avaliação de toxicidade em sedimentos do rio Juqueri (SP) com *Vibrio fischeri* e *Hyalella azteca*. *Revinter Revista de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 2, n. 2, 2015.

ARAGÃO, M. A. & ARAÚJO, R. P. A., 2006, *Métodos de Ensaios de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. In: ZAGATTO, P. A. & Bertolotti, E., *Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações*. São Carlos, São Paulo, p. 117-152. 2006.

LAITANO, KS. *Testes de toxicidade com Daphnia magna: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 85p. 2003.

NIETO, Regis. "Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais-ferramenta para ações de controle da poluição das águas." *Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 27. ABES, 2000.

ANDRADE, Sonia G. Apoptose e sua importância no curso da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Patologia Tropical*, v. 32, n. 2, p. 163-174, 2011.