

## **BIOENSAIOS APLICADOS AO MONITORAMENTO DE ÁGUAS SUPERFICIAIS E SUBTERRÂNEAS DE UM ATERRO SANITÁRIO REGIONAL**

Victória Alice Divino Dias<sup>1</sup>

Arthur Arnoni Occhiutto<sup>2</sup>

Thaina Menegheti Nehme<sup>3</sup>

Maria Eduarda Vilas Boas dos Santos Gonçalves<sup>4</sup>

Fábio Kummrow<sup>5</sup>

Sandro Barbosa<sup>6</sup>

### **Tecnologia Ambiental**

#### **Resumo**

A cada ano, a qualidade das fontes viáveis para a agricultura, ou seja, solo e água, diminui com a poluição devido a atividades antrópicas como por exemplo, gestão inadequada de resíduos e fertilizantes, sendo o principal motivo de poluição. Este trabalho teve por objetivo avaliar potenciais efeitos de águas superficiais e subterrâneas adjacentes a um aterro sanitário regional, localizado no município de Alfenas-MG, em ensaios de toxicidade crônica e aguda. Para a toxicidade crônica, as amostras utilizadas foram diluídas nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% e foi usado como controle positivo sulfato de zinco 0,07 g/L. Placas de Petri, contendo 2 folhas de papel germitest e 30 sementes de *Allium cepa* L. foram umedecidas com 3 mL de solução e levadas a câmara de germinação BOD, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias. Para a toxicidade aguda, utilizou-se ensaios com *Aliivibrio fischeri* determinado-se a taxa de inibição metabólica, expressa como inibição da luminescência, dessas bactérias expostas a diferentes concentrações das amostras, por 30 minutos. Observou-se que, para este bioensaio, que as amostras não apresentaram variação de padrões de germinação e crescimento inicial nas concentrações (25, 50, 75 e 100%) comparadas ao controle negativo (0%). Para *A. fischeri*, observou-se que as amostras não apresentaram toxicidade aguda. Concluiu-se que, apesar de localizadas próximas ao aterro sanitário regional, as águas superficiais e subterrâneas não apresentaram níveis tóxicos para os bioensaios utilizados.

**Palavras-chave:** Ecotoxicologia; bioensaio vegetal, aterro sanitário.

<sup>1</sup> Mestranda em Ciências Ambientais - Universidade Federal de Alfenas, MG. victoria.divino@sou.unifal-mg.edu.br

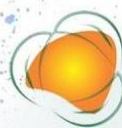
<sup>2</sup> Graduando em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Alfenas. arthur.occhiutto@sou.unifal-mg.edu.br

<sup>3</sup> Graduada em Biotecnologia - Universidade Federal de Alfenas. thaina.nehme@sou.unifal-mg.edu.br

<sup>4</sup> Graduada em Biotecnologia - Universidade Federal de Alfenas. maria.goncalves@sou.unifal-mg.edu.br

<sup>5</sup> Professor da Universidade Estadual de São Paulo UNIFESP, fkummrow@unifesp.br

<sup>6</sup> Professor da Universidade Federal de Alfenas - ICN, sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br



## INTRODUÇÃO

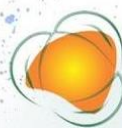
O padrão de vida dos países em desenvolvimento está melhorando conforme os dias passam e, conseqüentemente, há um aumento de descarte de lixo, não só doméstico, mas também industrial e comercial. Conforme a tecnologia avança, os produtos que não acompanham acabam se tornando obsoletos e são descartados aumentando cada vez mais o lixo sólido e tecnológico. O destino desses resíduos tem sido discutido, tanto na esfera governamental quanto nas instituições de ensino e pesquisa, partindo da preocupação do dano que estes podem gerar tanto ao meio ambiente quanto na saúde humana (SYDNEY, *et al.* 2020).

A crescente presença de metais pesado nos solos, alimentos e na água é alarmante em todo o mundo (STASINOS *et al.* 2014), pois a população, em um geral, não está acostumada a separar os diferentes tipos de resíduos existentes, o que acabam por se misturar nos lixões e aterros sanitários. Ainda segundo Stasinós *et al.* (2014), a cada ano, a qualidade das fontes viáveis para a agricultura, ou seja, solo e água, diminui com a poluição devido a atividades antrópicas como por exemplo, má gestão de resíduos, mineração e fertilizantes, sendo o principal motivo de poluição.

De acordo com Pirotta *et al.* (2018), no ambiente aquático, devido a fatores de diluição, em geral, os organismos estão expostos a níveis sub letais dos poluentes, a menos que estejam em local cujas concentrações de contaminantes possam causar efeitos agudos, sendo que esta exposição em níveis sub letais pode causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais a longo prazo. Daí a necessidade do uso de testes de longa duração, permitindo assim a avaliação dos efeitos adversos mais sutis aos organismos expostos.

Inúmeros testes ecotoxicológicos podem ser utilizados na avaliação das concentrações e do tempo de exposição do organismo ao agente tóxico para que o mesmo possa sofrer efeito adverso (REBOLLEDO *et al.* 2020). Contudo, os bioensaios vegetais consistem em testes importantes tendo em vista o potencial bioacumulador que muitas plantas têm e seu potencial em transferir substância dentro das cadeias tróficas.

Após o exposto, faz-se necessário um monitoramento constante da área por conta dos altos níveis de metais pesados a fim de prevenir a contaminação dos solos e lençóis freáticos. Dada a importância do tema, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos



ecotoxicológicos e fitotoxicológicos que um lixiviado possa causar nas águas superficiais e subterrâneas de aterro sanitário localizado na região sul do Estado de Minas Gerais, em Alfenas, para organismos-teste padronizados internacionalmente utilizando *Aliivibrio fischeri* e *Allium cepa* L.

## METODOLOGIA

As amostras foram coletadas no Aterro Sanitário Regional localizado na cidade de Alfenas-MG, em agosto de 2021 em 05 pontos diferentes (montante e jusante do córrego, PMM1, PMJ01 e PMJ02 de águas subterrâneas). Os tratamentos foram constituídos das diluições dessas amostras e foram aplicados nos biotestes com *Allium cepa* L.

### TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA

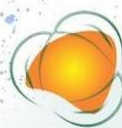
Trinta (30) sementes de *Allium cepa* L. foram colocadas para germinar em placas de Petri contendo duas folhas de papel germites umedecido com 3 mL de solução das águas superficiais (córrego) e subterrâneas em diferentes concentrações de diluição (25, 50, 75 e 100%), conforme descrito por Bialowiec; Randerson (2010) e Li *et al.* (2017) com adaptações. Como controle negativo foi utilizada água destilada e como controle positivo, foi utilizada uma solução de sulfato de zinco 0,07 g/L (MASELLI *et al.* 2015). Os experimentos foram realizados em câmara tipo BOD, a 25°C e fotoperíodo de 12h, durante 10 dias. Foram avaliados os parâmetros: germinação (% germinabilidade) e crescimento inicial (comprimento de raiz e parte aérea, número de plântulas normais).

### TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

Para o teste conduzido com *Aliivibrio fischeri* foi utilizada a Norma Técnica NBR 15411-3 (ABNT, 2006). As amostras foram enviadas ao laboratório de Ensaios Biológicos da Engenharia Ambiental da UFMG. As bactérias foram expostas às amostras em tempos diferentes (5, 15 e 30 minutos) para cada uma das três repetições. Foi determinada a taxa de

Realização

Apoio



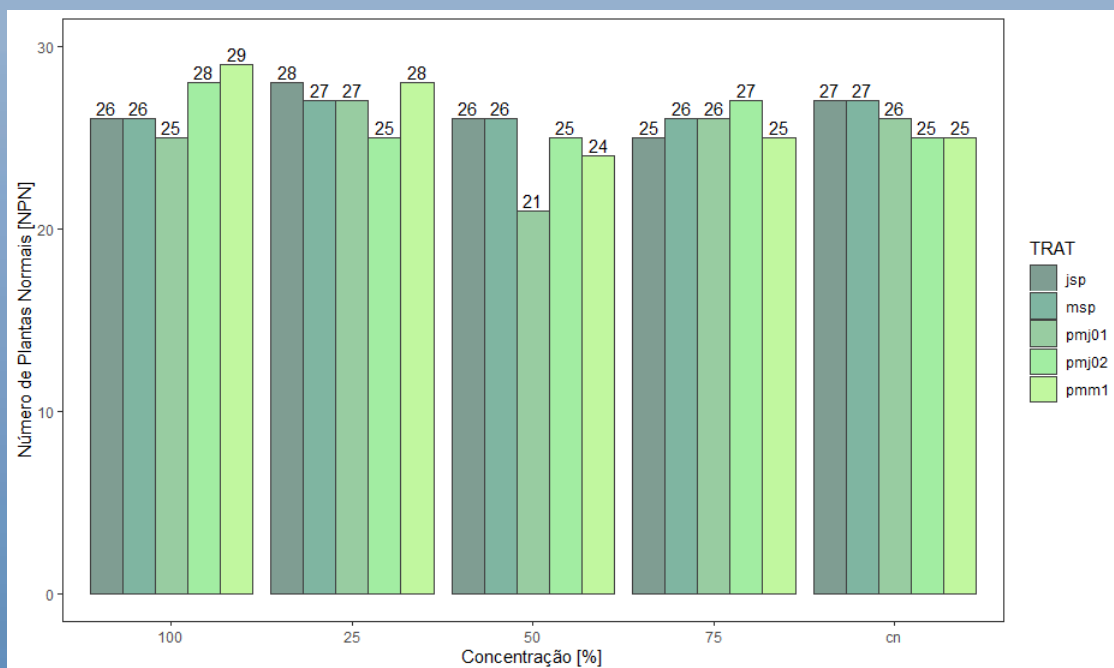
inibição metabólica, expressa como inibição da luminescência, de bactérias expostas às diferentes diluições das amostras, por meio do equipamento Microtox, modelo 500 Analyser.

## ANÁLISE DE DADOS

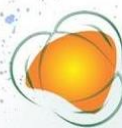
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por meio do teste de Scott-Knott a 5% de significância utilizando o software Sisvar versão 5.4. (FERREIRA, 2014). Os dados morfométricos foram analisados a partir do software Fiji - ImageJ e processados pelo R através do RStudio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados coletados não foram observados efeitos na germinação das sementes de *Allium cepa* L. nas águas superficiais e subterrâneas coletadas adjacentes ao aterro (Figura 1).



**Figura 1:** Número de Plantas Normais de *Allium cepa* L. utilizando as amostras de águas superficiais e subterrâneas (jsp, msp, pmj01 e pmm1) para diferentes concentrações (CN, 25,50,75 e 100%, respectivamente).

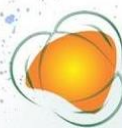


Como observado na Figura 2 as plântulas de *Allium cepa* L. germinadas com as águas superficiais e subterrâneas desenvolveram de maneira similar às germinadas com água destilada (controle negativo).

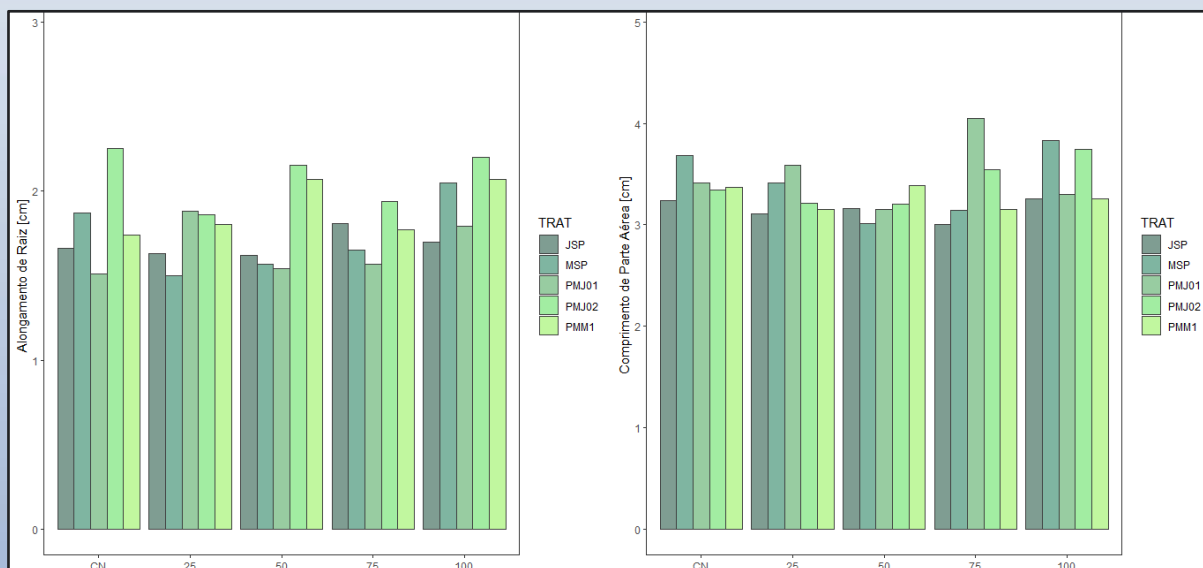


**Figura 2:** Comprimento (cm) de parte aérea de *Allium cepa* L. utilizando as amostras de águas superficiais e subterrâneas. (A) Controle negativo, (B) 25%, (C) 50%, (D) 75%, (E) 100%.

Em relação ao desenvolvimento inicial (alongamento de raiz e comprimento de parte aérea) observados ao final do experimento, os tratamentos não apresentaram diferença significativa (Figura 3). De acordo com os testes Tukey realizados, os grupos amostrais aproximam-se muito quando não utilizados escalas menores que 0,1 cm. Outros trabalhos conduzidos no mesmo laboratório de pesquisa (BIOGEN) utilizando *Allium cepa* L. para avaliar efeitos inibitórios de amostras ambientais (OCCHIUTTO *et al.*, 2021) diluídas nas mesmas concentrações demonstraram efeitos em escalas maiores que 01 cm com concentrações baixas da solução, indicando que ao menos pelos parâmetros avaliados, o lixiviado gerado pelo aterro não tem apresentado efeitos ecotoxicológicos e fitotoxicológicos.



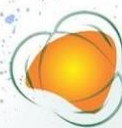
**Figura 3:** Alongamento de raiz (em cm) (A) e Comprimento de Parte Aérea (B) de *Allium cepa* L. utilizando as amostras de águas superficiais e subterrâneas.



Seguindo a classificação de Persoone *et al.* (2003), as amostras analisadas foram registradas como não tóxicas, contudo, com exceção a uma das repetições da amostra de PMJ01 (ponto a jusante do curso hídrico) observou-se o efeito de hormese em todas as demais amostras (Tabela 1).

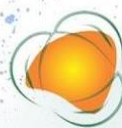
**Tabela 1:** Toxicidade da exposição por 5, 15 e 30 minutos das amostras de águas superficiais e subterrâneas sob bactéria gram-negativa (*Aliivibrio fischeri*).

Amostra	Tempo de exposição (min)	CE <sub>50</sub> (%)	UT	Classificação (Persoone <i>et al.</i> , 2003)	Observação
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R1	5	>100	-	Não tóxico	
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R1	15	>100	-	Não tóxico	
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R1	30	>100	-	Não tóxico	
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R2	5	-	-	-	Hormesis
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R2	15	-	-	-	Hormesis
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R2	30	-	-	-	Hormesis
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R3	5	-	-	-	Hormesis
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R3	15	-	-	-	Hormesis
PMJ 01 Jusante aterro 11-08-21 R3	30	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R1	5	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R1	15	-	-	-	Hormesis



PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R1	30	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R2	5	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R2	15	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R2	30	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R3	5	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R3	15	-	-	-	Hormesis
PMJ 02 Jusante aterro 11-08-21 R3	30	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R1	5	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R1	15	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R1	30	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R2	5	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R2	15	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R2	30	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R3	5	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R3	15	-	-	-	Hormesis
Água montante superficial (aterro) 11-08 R3	30	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R1	5	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R1	15	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R1	30	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R2	5	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R2	15	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R2	30	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R3	5	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R3	15	-	-	-	Hormesis
Água jusante superficial (aterro) 11-08 R3	30	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R1	5	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R1	15	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R1	30	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R2	5	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R2	15	-	-	-	Hormesis
PMM 1 Subterrâneo aterro 11-08 R2	30	-	-	-	Hormesis

De acordo com Yao *et al.* (2019) hormese é um modelo bifásico dose-resposta com estimulação de baixa dose e inibição de alta dose. O mecanismo da hormese permanece inconclusivo, embora esteja se tornando um conceito central em toxicologia. Sendo um tipo



de bactéria marinha gram-negativa, *Aliivibrio fischeri* tem sido amplamente utilizada em testes de toxicidade, pois sua bioluminescência é sensível a produtos químicos exógenos e é fácil observar sua variação (GAO *et al.* 2021).

No contexto exposto, podem haver substâncias na composição química das águas superficiais e subterrâneas que estimulem tanto a taxa de germinação quanto o comprimento de parte aérea e alongamento de raiz mas que em determinado grau, podem provocar hormese no desenvolvimento de determinados organismos. Isto pode indicar a necessidade de uma avaliação ainda mais abrangente, que possa indicar, em diferentes contextos, os níveis de afecção dessas substâncias a diferentes formas de vida. De acordo com Sampaio *et al.* (2021), embora a toxicidade de poluentes nas águas estejam bem retratadas na literatura, sua presença é um indicativo do potencial contaminante dos produtos lançados no ambiente, entretanto o dano ou efeito causado depende da concentração destes componentes.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Águas superficiais e subterrâneas coletadas em pontos adjacentes ao aterro sanitário regional de Alfenas-MG, não alteraram parâmetros de germinação e crescimento inicial de *Allium cepa* L.

No teste de toxicidade aguda, pôde-se observar que as amostras analisadas não foram tóxicas para *Aliivibrio fischeri*, porém provocaram hormese indicando a necessidade de aprofundamento das análises contidas neste trabalho.

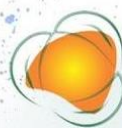
## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao MEC/SESu/FNDE pela bolsa PET do Professor Sandro Barbosa e a CAPES, CNPq, FAPEMIG e a Empresa Alfenas Ambiental Tratamento de Resíduos e Limpeza Urbana Ltda pelo financiamento e bolsas de pesquisa concedidas para conduzir este estudo. Agradecem, também, às Professoras Raquel Sampaio Jacob (PUC Minas) e Lucilaine Valéria de Souza Santos (UFMG) pelo apoio nos bioensaios com *Aliivibrio fischeri*.

Realização

Apoio





## REFERÊNCIAS

- BIALOWIEC A., RANDERSON, P. F. Phytotoxicity of landfill leachate on willow – *Salix amygdalina* L. **Waste Management**. V.30, 1587–1593, 2010.
- CNMA, EFEITO DO LIXIVIADO DE UM ATERRO SANITÁRIO REGIONAL SOBRE BIOTESTE VEGETAL, 2021.
- GAO, Qing *et al.* Investigations on the influence of energy source on time-dependent hormesis: A case study of sulfadoxine to *Aliivibrio fischeri* in different cultivation systems. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145877, 2021.
- LI, G. *et al.* A comparison of the toxicity of landfill leachate exposure at the seed soaking and germination stages on *Zea mays* L. **Journal of environmental sciences** 55, 206 - 213, 2017.
- MASELLI, Bianca de S. *et al.* Ecotoxicity of raw and treated effluents generated by a veterinary pharmaceutical company: a comparison of the sensitivities of different standardized tests. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 4, p. 795-804, 2015.
- OCCHIUTTO, Arthur Arnoni *et al.* Efeito do lixiviado de um aterro sanitário regional sobre bioteste vegetal. (Resumo) **18º Congresso Nacional do Meio Ambiente** – V. 13 N.1 2021.
- PIROTTA, Enrico *et al.* Understanding the population consequences of disturbance. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 19, p. 9934-9946, 2018.
- REBOLLEDO, Uriel Arreguin *et al.* Effect of salinity and temperature on the acute and chronic toxicity of arsenic to the marine rotifers *Proales similis* and *Brachionus ibericus*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111341, 2020.
- SAMPAIO, Lorrana *et al.* SHEDDING LIGHT SOBRE A TOXICIDADE DE MISTURA DE POLUENTES NA BIOTA AQUÁTICA VEGETAL: UM ESTUDO ENVOLVENDO *Allium cepa* L. 2021.
- STASINOS, Sotiris *et al.* The bioaccumulation and physiological effects of heavy metals in carrots, onions, and potatoes and dietary implications for Cr and Ni: a review. **Journal of food science**, v. 79, n. 5, p. R765-R780, 2014.
- SYDNEY, Eduardo Bittencourt *et al.* Current developments and challenges of green technologies for the valorization of liquid, solid, and gaseous wastes from sugarcane ethanol production. **Journal of Hazardous Materials**, p. 124059, 2020.
- YAO, Zhifeng *et al.* Hormetic mechanism of sulfonamides on *Aliivibrio fischeri* luminescence based on a bacterial cell-cell communication. **Chemosphere**, v. 215, p. 793-799, 2019.