

1009 - BIOACUMULAÇÃO DE MICROCISTINAS EM HORTALIÇAS IRRIGADAS COM ÁGUAS DE UM RESERVATÓRIO SUPERFICIAL DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Thiago Santos de Almeida Lopes⁽¹⁾

Engenheiro Sanitarista e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Engenheiro de Segurança do Trabalho pela Faculdade do Vale Elvira Dayrell (FAVED). Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Doutorando em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Técnico em Laboratório do Departamento de Química da UEPB (DQ/UEPB).

Amanda Myrna de Meneses e Costa⁽²⁾

Engenheira Sanitarista e Ambiental pela UEPB. Mestranda em Ecologia e Conservação pela UEPB.

Whelton Brito dos Santos⁽³⁾

Engenheiro Sanitarista e Ambiental pela UEPB. Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela UFCG. Doutor em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais pela UFCG. Professor Substituto do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UEPB (DESA/UEPB).

Weruska Brasileiro Ferreira⁽⁴⁾

Engenheira Química pela UFPB. Mestre em Engenharia Química pela UFCG. Doutora em Engenharia Química pela UFCG. Professora Efetiva do DESA/UEPB. Credenciada no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da UEPB (PPGCTA/UEPB).

Patricia Herminio Cunha⁽⁵⁾

Engenheira Civil pela UFPB. Doutora em Engenharia Agrícola pela UFCG. Professora Adjunta da Unidade Acadêmica de Engenharia Civil da UFCG (UAEC/UFCG). Credenciada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais da UFCG (PPGEGRN/UFCG).

Endereço⁽¹⁾: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário - Campina Grande - PB - CEP: 58109-790 - Brasil - Tel: (83) 3315-3359 - e-mail: thiago.s.16@hotmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação de microcistinas (MCs) em hortaliças irrigadas com águas do reservatório Epitácio Pessoa, localizado no semiárido brasileiro. O estudo foi realizado em três propriedades situadas nas proximidades do mesmo, que apresentavam cultivos com diferentes espécies de hortaliças e métodos de irrigação. As águas de irrigação foram avaliadas em termos de parâmetros físico-químicos e MCs. As análises de MCs também foram realizadas nas hortaliças, em triplicatas nos extratos de folhas e frutos, para avaliação da bioacumulação. Conforme caracterização das águas de irrigação, constatou-se que no ponto de captação o reservatório Epitácio Pessoa estava eutrofizado. MCs foram detectadas nas águas das três propriedades estudadas, contudo, em valores abaixo dos limites estabelecidos pela portaria de potabilidade brasileira. Com relação às diferentes espécies de hortaliças estudadas, verificou-se que coentro e salsa demonstraram maior sensibilidade ao acúmulo e que o método de irrigação e os processos de crescimento e maturação podem influenciar nas concentrações finais de MCs na planta. Por fim, constatou-se que os consumos diários de MCs a partir das hortaliças avaliadas foram menores que a ingestão diária total (IDT) recomendada. Apesar disso, ficou evidente que a bioacumulação de cianotoxinas em plantas agrícolas irrigadas com águas eutrofizadas constitui uma nova rota de contaminação humana e pode ser considerada um problema iminente devido à crescente exploração dos recursos hídricos e degradação da qualidade das águas dos mananciais.

PALAVRAS-CHAVE: Cianobactérias, Cianotoxinas, Eutrofização, Irrigação, Produtos Agrícolas.

INTRODUÇÃO

Reservatórios são corpos d'água construídos ou modificados pelo homem com o intuito de promover abastecimento de água, geração de energia e/ou recreação. No entanto, a pressão antrópica tem ocasionado a eutrofização de suas águas e favorecido o crescimento exacerbado de cianobactérias, resultando em florações (ou "blooms") (CALADO et al., 2017).

Algumas espécies de cianobactérias podem produzir cianotoxinas, metabólitos tóxicos para humanos e outros mamíferos, aves, peixes, crustáceos, moluscos e zooplâncton, capazes de ocasionar danos ao fígado, citotoxicidade, neurotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, toxicidade cutânea e morte. Estima-se que cerca de 50 a 70% das florações de cianobactérias apresentem espécies tóxicas (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

A exposição humana às cianotoxinas pode ocorrer por diferentes vias já conhecidas, como a ingestão de água contaminada e o contato em atividades recreativas. Contudo, novas rotas de contaminação têm sido estudadas, dentre elas o consumo de vegetais irrigados com águas eutrofizadas de reservatórios superficiais, que podem promover a bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais (LEE et al., 2017).

Estudos apontam que microcistinas (MCs), um dos tipos de cianotoxinas predominantes e encontradas entre 40-75% das florações de cianobactérias de todo o mundo, tendem a se acumular nos tecidos comestíveis de hortaliças folhosas e mesmo após fervura, fritura ou cozimento à vapor, são capazes de permanecer em sua forma química original, o que indica que não há uma forma segura de preparar vegetais contaminados por estas toxinas para consumo humano (ZHANG; WHALEN; SAUVÉ, 2021).

Apesar disso, a quantidade de estudos acerca da bioacumulação de MCs em culturas agrícolas ainda é limitada, sendo a grande maioria realizada em escala laboratorial sob condições controladas, que muitas vezes não retratam as condições ambientais reais (NERY; NERY; MEDEIROS, 2020).

OBJETIVO

Avaliar a bioacumulação de microcistinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do reservatório Epitácio Pessoa, localizado no semiárido brasileiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em três propriedades situadas nas proximidades do reservatório Epitácio Pessoa (Figura 1), que apresentaram culturas agrícolas irrigadas com suas águas (Tabela 1). Este manancial está localizado no município de Boqueirão, Paraíba, e apresenta grande importância social e econômica para o Estado.

Apesar de as três propriedades utilizarem águas do reservatório Epitácio Pessoa para irrigação, estas passaram por formas diferentes de tratamento e armazenamento. Em P1, a água era tratada na Estação de Tratamento de Águas Gravatá e fornecida mensalmente à propriedade por meio de carro pipa, sendo armazenada em cisterna. Em P2, a água usada nos cultivos era bombeada do reservatório, sem nenhum tratamento, e armazenada em cisterna, que alimentava o sistema hidropônico. Já em P3, a água era bombeada diretamente do reservatório para o sistema de gotejamento, sem tratamento e sem armazenamento. Vale salientar que as propriedades P2 e P3 eram próximas e faziam a captação de água no mesmo ponto (Figura 1).

Tabela 1: Informações das culturas agrícolas observadas em cada uma das propriedades.

PROPRIEDADE	PORTE DO CULTIVO	ESPÉCIES CULTIVADAS	TIPO DE IRRIGAÇÃO E QUALIDADE DA ÁGUA	ÁREA MOLHADA
1 (P1)	Agricultura familiar, para consumo próprio	Alface, coentro, couve, espinafre, rúcula e salsa	Manual com regador, a partir de água tratada do reservatório armazenada em cisterna	Folhas e solo
2 (P2)	Pequeno porte, para comercialização na região	Alface	Hidropônica, a partir de água bruta do reservatório armazenada em cisterna	Raízes
3 (P3)	Médio porte, para comercialização na região e nacional	Pimentão	Gotejamento, com água bruta bombeada diretamente do reservatório	Solo

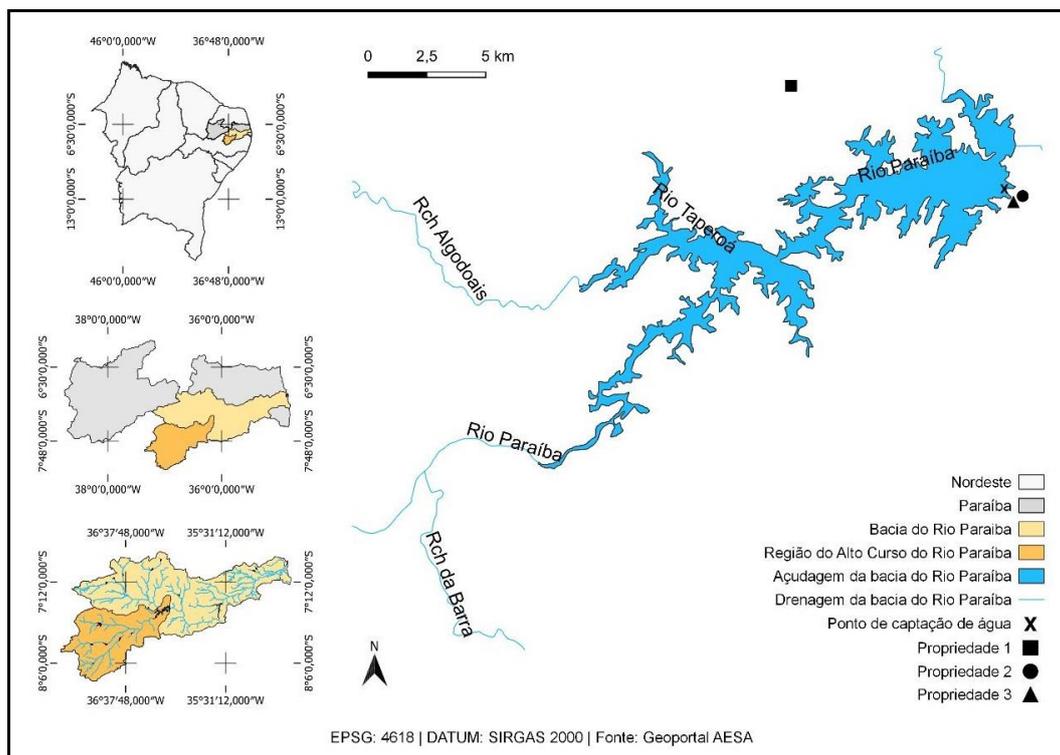


Figura 1: Localização do reservatório Epitácio Pessoa e das propriedades onde foi realizado o estudo.

A coleta de amostras nas propriedades ocorreu em junho de 2021. A coleta, preservação e armazenamento das amostras de água seguiram os protocolos do Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011). Já as amostras de hortaliças foram coletadas em triplicatas de plantas adultas e armazenadas em sacos plásticos. Todas as amostras de águas e hortaliças foram encaminhadas, em caixas de isopor com gelo, para análise em laboratório. A Tabela 2 elenca os parâmetros avaliados nas águas de irrigação.

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos e metodologias empregadas nas análises.

PARÂMETRO	MÉTODO
Cor aparente	Colorímetro portátil (PoliControl AquaColor Cor)
Turbidez	Turbidímetro portátil (PoliControl AP2000)
Sólidos dissolvidos totais (STD)	Sonda multimétrica modelo HANNA HI 9829
pH	pHmetro portátil (KASVI)
Temperatura	pHmetro portátil (KASVI)
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	<i>Standard Methods</i> , Colorimétrico (4500-NO ₂ ⁻ B)
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	<i>Standard Methods</i> , Espectrofotométrico (4500-NO ₃ ⁻ B)
Fósforo total (Ptotal)	<i>Standard Methods</i> , Método do Ácido Ascórbico (4500-PE)
Fósforo reativo solúvel (Prs)	<i>Standard Methods</i> , Método do Ácido Ascórbico (4500-PE)
Clorofila a	<i>Standard Methods</i> , Espectrofotométrico (10200H)
Microcistinas (MCs)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)

A partir dos dados de fósforo total e clorofila a, foi calculado o Índice de Estado Trófico (IET) com base em Lamparelli (2004).

As concentrações de MCs nas águas foram determinadas pelo método ELISA, seguindo o protocolo do fabricante e a leitura das amostras realizada em uma leitora de microplacas ELISA com comprimento de onda de 450 nm. Para extração das MCs das células foram efetuados três ciclos de congelamento e descongelamento das amostras, conforme Silva et al. (2020).

A extração e determinação de MCs nos tecidos vegetais foram realizadas com base em protocolos estabelecidos em estudos que utilizaram o método ELISA para quantificação de cianotoxinas em plantas frescas (LEE et al., 2017). De cada hortaliça foram analisadas apenas as folhas, com exceção do pimentão, onde também foram avaliados os frutos.

Para avaliar os impactos da bioacumulação de MCs nos tecidos vegetais, calculou-se o consumo diário estimado (CDE) (Equação 1) para cada hortaliça e comparou-se os resultados com a ingestão diária total (IDT) recomendada pela Organização Mundial da Saúde, de $0,04 \mu\text{gMCs.kg}^{-1}$ de peso corpóreo.

$$\text{CDE } (\mu\text{g.kg}^{-1}) = (\text{CCH} * \text{CMDH}) / \text{PC} \quad \text{equação (1)}$$

Onde CCH é a concentração de cianotoxina na hortaliça ($\mu\text{g.g}^{-1}$), CMDH é o consumo médio diário de hortaliças (g) e PC é o peso do consumidor (kg). Para o cálculo considerou-se que uma pessoa de 60 kg consome em média 40 g de hortaliças por dia.

RESULTADOS OBTIDOS

A Tabela 3 apresenta a caracterização das águas de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos. É possível verificar a diferença na qualidade das águas brutas (P2 e P3) com relação à água tratada (P1), que apresentou menores valores de parâmetros como cor aparente, turbidez e STD. Apesar disso, P1 apresentou maiores concentrações de nutrientes (N-NO₃⁻, Ptotal e Prs), que podem ser oriundas de impurezas presentes na cisterna de armazenamento.

Tabela 3: Caracterização das águas de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos.

PARÂMETRO	UNIDADE	P1	P2	P3
Cor aparente (uC)	uC	10,73 ± 0,38	28,73 ± 1,24	31,90 ± 0,46
Turbidez (uT)	uT	0,23 ± 0,02	1,56 ± 0,22	2,26 ± 0,21
Sólidos dissolvidos totais (STD)	mg.L ⁻¹	54,00 ± 1,00	160,50 ± 0,71	148,33 ± 2,89
pH	-	9,90 ± 0,20	8,90 ± 0,20	9,8 ± 0,20
Temperatura	°C	25,60 ± 0,50	27,50 ± 0,50	27,2 ± 0,50
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	μg.L ⁻¹	5,60 ± 0,17	8,35 ± 0,21	2,25 ± 0,12
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	μg.L ⁻¹	407,50 ± 0,70	109,50 ± 2,10	57,5 ± 3,50
Fósforo total (Ptotal)	μg.L ⁻¹	500,00 ± 14,14	300,00 ± 28,28	300,0 ± 15,00
Fósforo reativo solúvel (Prs)	μg.L ⁻¹	90,00 ± 4,50	87,50 ± 0,71	49,5 ± 0,71
Clorofila a	μg.L ⁻¹	1,08 ± 0,05	8,66 ± 0,76	32,51 ± 0,95
Microcistinas (MCs)	μg.L ⁻¹	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01

Com os dados de fósforo total e clorofila a, calculou-se o IET em P3 e obteve-se o valor de 62, indicando que a água no ponto de captação estava eutrofizada, condição que favorece a presença de cianobactérias e, consequentemente, de cianotoxinas na água, o que gera riscos de bioacumulação nas hortaliças irrigadas.

O IET não foi calculado para as águas coletadas em P1 e P2, pois as mesmas estavam fora do reservatório e sofreram mudanças de qualidade provocadas pelo tratamento (P1) e/ou armazenamento em cisterna (P1 e P2). Isso pode ser evidenciado pelos dados de clorofila a, cujo valor médio em P3 ($32,41 \mu\text{g.L}^{-1}$) foi expressivamente superior aos encontrados em P1 ($1,08 \mu\text{g.L}^{-1}$) e P2 ($8,66 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Não obstante, as concentrações médias de MCs apresentaram baixas variações (0,08 a $0,12 \mu\text{g.L}^{-1}$) e encontraram-se abaixo do limite máximo estabelecido na portaria de potabilidade brasileira, que é de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$. Contudo, Silva et al. (2020) identificaram MCs nas águas do Epitácio Pessoa em concentrações superiores a $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$, entre 2016 e 2017, indicando que a presença de MCs neste reservatório pode oscilar para valores acima dos estabelecidos na legislação.

A Tabela 4 apresenta as concentrações médias de MCs detectadas nas hortaliças de P1, P2 e P3 e os consumos diários estimados de MCs a partir destas.

Tabela 4: Concentrações médias e CDEs de MCs para as hortaliças de P1, P2 e P3.

PROPRIEDADE	HORTALIÇA	MCs ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	CDE ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
P1	Alface	$2,17 \pm 0,10$	0,0014
	Coentro	$7,83 \pm 0,30$	0,0052
	Couve	$2,31 \pm 0,06$	0,0015
	Espinafre	$4,12 \pm 0,07$	0,0027
	Rúcula	$0,63 \pm 0,04$	0,0004
	Salsa	$5,47 \pm 0,15$	0,0036
P2	Alface	$1,55 \pm 0,04$	0,0010
P3	Pimentão (folha)	$4,36 \pm 0,05$	0,0029
	Pimentão (5,0 cm)*	$1,59 \pm 0,01$	0,0011
	Pimentão (7,5 cm)*	$1,41 \pm 0,04$	0,0009

* Diâmetro do pimentão (fruto).

Os CDEs apresentados na Tabela 4 não excederam o IDT recomendado pela OMS ($0,04 \mu\text{gMCs}\cdot\text{kg}^{-1}$), sendo o maior valor (coentro = $0,0052 \mu\text{gMCs}\cdot\text{kg}^{-1}$) correspondente a apenas 13% do IDT. Apesar disso, o potencial de bioacumulação de MCs em tecidos vegetais fica evidente, uma vez que, mesmo as concentrações de MCs nas águas estando em conformidade com os padrões de potabilidade brasileiros, observou-se acúmulo nas hortaliças estudadas (Tabela 4).

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Com relação aos cultivos avaliados nas diferentes propriedades, verificou-se que as maiores bioacumulações de MCs ocorreram no coentro e na salsa (Tabela 4). A sensibilidade destas hortaliças para o acúmulo de MCs está relatada no meio científico (NERY; NERY; MEDEIROS, 2020; ZHANG; WHALEN; SAUVÉ, 2021).

As concentrações de MCs detectadas nas folhas de alface em P2 indicam que houve deslocamento a partir das raízes, visto que o cultivo era hidropônico. Tal fenômeno também foi observado em outros estudos (KITTLER et al., 2012).

Zhang, Whalen e Sauvé (2021) apontam que nos sistemas hidropônicos há uma maior biodisponibilidade de cianotoxinas que nos cultivos baseados em solo, o que pode favorecer a absorção e transporte destas ao longo da planta. Apesar disso, observa-se que na alface de P1 houve maior bioacumulação, indicando que métodos que molham as folhas podem promover maior acúmulo de MCs nesta região da planta.

Codd, Metcalf e Beattie (1999) verificaram que MCs foram retidas em alfaces irrigadas por aspersão e, mesmo após lavagem, elas não foram completamente removidas. Assim, pode-se afirmar que, além da translocação de cianotoxinas das raízes para as demais partes da planta, a bioacumulação pode ocorrer também através da absorção foliar.

Em P3, a capacidade de deslocamento de MCs ao longo da planta é corroborada, visto que, apesar da irrigação ser via gotejamento em um sistema solo-planta, elas foram detectadas tanto nas folhas como nos frutos do pimentão.

Nesta hortaliça, a maior bioacumulação de MCs ocorreu nas folhas, o que também foi observado nos estudos de Nery, Nery e Medeiros (2020) e Zhang, Whalen e Sauvé (2021), cujos resultados apontam que MCs tendem a se acumular preferencialmente nas raízes e folhas. No caso do pimentão isso pode ser considerado uma vantagem, visto que a parte comestível são os frutos.

Percebe-se ainda que o pimentão mais maduro (7,5 cm) apresentou menor concentração de MCs que o mais jovem. Comportamentos semelhantes foram relatados por Gutiérrez-Praena et al. (2014) e Nery, Nery e Medeiros (2020), que registraram a diminuição das concentrações de MCs durante o amadurecimento de pimentões e tomates, respectivamente.

Dentre possíveis fatores que podem justificar essa relação, Machado et al. (2017) apontam para a modificação química das cianotoxinas ao longo do tempo ou simplesmente a maior diluição das mesmas pelo aumento de volume e acúmulo de água durante o crescimento e amadurecimento dos frutos.

CONCLUSÕES

Nas águas de irrigação estudadas, provenientes do reservatório Epitácio Pessoa, foram detectadas microcistinas, o que pode ser atribuído a fatores como a eutrofização do reservatório e as condições ambientais da região. As concentrações de MCs nestas águas, apesar de estarem em conformidade com a portaria de potabilidade brasileira durante o período estudado, foram suficientes para promover bioacumulação nas hortaliças irrigadas, indicando que a melhor forma de conter este fenômeno é evitar a exposição das plantas às cianotoxinas.

Constatou-se que a espécie vegetal, o método de irrigação e os processos de crescimento e maturação das plantas influenciam na bioacumulação. Dentre as diferentes hortaliças estudadas, coentro e salsa demonstraram maior sensibilidade ao acúmulo, o que coincidiu com o relatado na literatura. Com relação ao método de irrigação, observou-se que os que molham as folhas (aspersão) podem induzir a um maior acúmulo, como observado na alface, contudo, estudos com mais espécies vegetais são necessários. No tocante ao crescimento e maturação da planta, verificou-se que podem promover a depuração da toxina.

Por fim, pôde-se constatar que os consumos diários estimados de MCs a partir das hortaliças estudadas foram menores que o IDT recomendado. Não obstante, o potencial de bioacumulação de MCs em plantas agrícolas ficou evidente e, considerando-se a crescente exploração dos recursos hídricos e consequente eutrofização de reservatórios do semiárido, a ingestão de hortaliças irrigadas configura-se como uma nova rota de contaminação humana por cianotoxinas e possível preocupação a longo prazo nesta região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CALADO, S. L. M.; WOJCIECHOWSKI, J.; SANTOS, G. S.; DE MAGALHAES, V. F.; PADIAL, A. A.; CESTARI, M. M.; DE ASSIS, H. C. D. S. *Neurotoxins in a water supply reservoir: An alert to environmental and human health. Toxicon*, v. 126, p. 12-22, 2017.
2. CODD, G. A.; METCALF, J. S.; BEATTIE, K. A. *Retention of Microcystis aeruginosa and microcystin by salad lettuce (Lactuca sativa) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. Toxicon*, v. 37, n. 8, p. 1181-1185, 1999.
3. DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. D. B. *Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento. São Carlos: LDiBE*, 2010.
4. GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; CAMPOS, A.; AZEVEDO, J.; NEVES, J.; FREITAS, M.; GUZMÁN-GUILLÉN, R.; CAMEÁN, A. M.; RENAUT, J.; VASCONCELOS, V. *Exposure of Lycopersicon Esculentum to microcystin-LR: Effects in the leaf proteome and toxin translocation from water to leaves and fruits. Toxins*, v. 6, n. 6, p. 1837-1854, 2014.
5. KITTLER, K.; SCHREINER, M.; KRUMBEIN, A.; MANZEI, S.; KOCH, M.; ROHN, S.; MAUL, R. *Uptake of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in Brassica vegetables. Food chemistry*, v. 133, n. 3, p. 875-879, 2012.
6. LEE, S.; JIANG, X.; MANUBOLU, M.; RIEDL, K.; LUDSIN, S. A.; MARTIN, J. F.; LEE, J. *Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: implications for public health and food security. Food Research International*, v. 102, p. 234-245, 2017.
7. MACHADO, J.; CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V.; FREITAS, M. *Effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on plant-soil systems: A review of their relevance for agricultural plant quality and public health. Environmental research*, v. 153, p. 191-204, 2017.
8. NERY, J. F.; NERY, G. K. M.; MEDEIROS, S. S. *Microcystin bioaccumulation in cultures irrigated with eutrophized waters in Brazilian Semiarid. wjpls*, v. 6, n. 2, p. 5-9, 2020.



9. SILVA, R. D. S.; SEVERIANO, J. S.; OLIVEIRA, D. A.; MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; CHIA, M. A.; BARBOSA, J. E. L. *Spatio-temporal variation of cyanobacteria and cyanotoxins in public supply reservoirs of the semi-arid region of Brazil. Journal of Limnology*, v. 79, n. 1, p. 13-29, 2020.
10. ZHANG, Y.; WHALEN, J. K.; SAUVÉ, S. *Phytotoxicity and bioconcentration of microcystins in agricultural plants: Meta-analysis and risk assessment. Environmental Pollution*, v. 272, p. 115966, 2021.