

SETAC – Brazil

Comparação de Bioensaios Laboratoriais e “in situ” Utilizando *Chironomus xanthus* na Avaliação da Toxicidade de Sedimentos do Rio Monjolinho (São Carlos, SP)

C. B. DORNFELD,^{1*} E. L. G. ESPÍNDOLA,^{1,3} R. FRACÁCIO,² B. K. RODRIGUES¹ & A. NOVELLI¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. Avenida Trabalhador São-carlense, 400, CEP 13566-970, São Carlos, SP

²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís, km 235, CEP 13565-905, São Carlos, SP

³Prof. Associado do Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São-carlense, 400, CEP 13566-970, São Carlos, SP

RESUMO

Os bioensaios “in situ” e laboratoriais (96 h), com *Chironomus xanthus*, foram realizados em outubro/03 e janeiro/04, em 4 estações de coleta no rio Monjolinho (São Carlos, SP). Nos bioensaios laboratoriais foram utilizados 60 g de sedimento e 240 ml de meio ASTM, e 6 organismos foram expostos em cada réplica, avaliando-se a toxicidade final pela porcentagem de sobrevivência. As câmaras para os bioensaios “in situ” foram montadas com tubos de PVC e telas com malha de 300 µm. Adicionou-se o sedimento de cada estação nas câmaras e colocaram-se dez organismos do IV ínstar em cada réplica, sendo contabilizada a sobrevivência ao final do bioensaio. Os ensaios laboratoriais apresentaram variação espacial e temporal acentuada, com valores de sobrevivência entre 0% (Federal, out/03) e 100% (Federal, jan/04). Os resultados dos bioensaios “in situ” demonstram alta mortalidade dos organismos (entre 84% e 97% em out/03 e entre 60% e 70% em jan/04). No entanto, os resultados não indicam, necessariamente, as estações com maior ou menor grau de toxicidade, já que ocorreu alta mortalidade na nascente, nos bioensaios “in situ” (acima de 60%), o que pode estar associada a outros fatores, como saturação da malha com material em suspensão e diferentes texturas do sedimento. A presença de organismos invasores nas câmaras também foi observada, indicando competição e predação no interior das mesmas. Diante do exposto, pode-se inferir que há a necessidade de um aprimoramento metodológico dos bioensaios “in situ”, minimizando a ação de fatores externos que dificultam a avaliação dos resultados obtidos.

Palavras-chave: bioensaios “in situ”, sedimento, *Chironomus xanthus*, rio Monjolinho.

ABSTRACT

Comparison between laboratory and “in situ” bioassays using *Chironomus xanthus* in the assessment of sediment toxicity in the Monjolinho river (São Carlos, SP)

“In situ” bioassays (96 h), using *Chironomus xanthus*, were conducted in October/03 and January/04, in 4 sampling stations at Monjolinho river. Laboratory bioassays were conducted using 60g of sediment and 240 ml of ASTM medium, for 96 h. Six organisms were added to each test-chamber and the toxicity evaluation was given by the mean survival. The “in situ” bioassay test chambers (PVC) were covered by a 300 µm mesh. The sediment of each sampling station was added to the chambers together with 10 organisms at IV instars. The laboratory bioassays showed survivals ranging between 0% (Federal, oct/03) and 100% (Federal, jan/04). The results “in situ” bioassays showed high mortality (between 84% and 97% in Oct/03 and between 60% and 70% in Jan/04). However, the results did not show, necessarily, that the sediments were toxic or not, because of the high mortality that occurred in the river’s spring (over 60%), which may be associated to other factors,

*Corresponding author: Carolina B. Dornfeld, e-mail: carol_buso@yahoo.com.br.

like screen saturation with suspended matter and different sediment textures. The presence of indigenous organisms may have influenced the results, due the competition and predation in the chamber. Thus, we can infer that the protocol for “in situ” bioassays using *C. xanthus* must be improved in order to minimize the influence of confounding factors on the tests results.

Key words: “in situ” bioassay, sediment, *Chironomus xanthus*, Monjolinho river.

INTRODUÇÃO

Historicamente, pesquisas sobre o desenvolvimento e padronização de métodos para avaliação da toxicidade em sedimentos têm enfatizado bioensaios laboratoriais, sendo que muitos desses têm sido incorporados nos programas de avaliação e monitoramento de sedimentos contaminados e no desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimento. Recentemente, maior ênfase tem sido dada ao desenvolvimento e uso de técnicas para avaliação da contaminação de sedimentos em bioensaios “in situ” (Sibley *et al.*, 1999), os quais consistem em expor os organismos-teste no próprio ambiente, avaliando as respostas reais do funcionamento da área de estudo em questão.

Segundo Meregalli *et al.* (2000), vários bioensaios “in situ” têm sido desenvolvidos para monitorar os sistemas aquáticos, envolvendo organismos-teste como peixes, dafnídeos, anfípodos, quironomídeos, entre outros.

No Brasil, no entanto, a realização de testes “in situ” ainda é incipiente, sendo necessário maior esforço para o estabelecimento de metodologias mais adequadas às condições encontradas em países tropicais, já que as adaptações de ensaios de regiões temperadas podem não ser totalmente satisfatórias. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo comparar a aplicabilidade de técnicas de bioensaios “in situ” e laboratoriais com a espécie *Chironomus xanthus* na avaliação da qualidade de sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos, SP).

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no rio Monjolinho (21°57' e 22°06'S; 47°50' e 48°05'W), localizado no município de São Carlos, SP. Com 43,25 km de extensão, o rio percorre áreas rurais e urbanas do município, sendo um sistema impactado por atividades industriais e agropecuárias (cultivo de cana-de-açúcar e criação de gado).

Os bioensaios utilizando *Chironomus xanthus* (Chironomidae, Díptera) foram realizados em outubro/03 e janeiro/04. O sedimento foi coletado com draga de Eckman e, no caso dos ensaios em laboratório, foi mantido resfriado a 4°C. Os organismos-teste foram obtidos no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos (NEEA/CRHEA/EESC/USP), onde são mantidos em bandejas plásticas contendo areia limpa e meio de cultivo ASTM (pH entre 6,5 e 7,5 e dureza entre 12 e 16 mgCaCO₃.L⁻¹), aeração constante, temperatura

entre 23 e 25°C e alimentação diária composta por uma solução de ração para peixes Tetramin®, na proporção de 0,04 mg.ml⁻¹ de água de cultivo (USEPA, 2000). Os bioensaios laboratoriais foram realizados segundo Fonseca (1997), utilizando a proporção 1:4 de sedimento:água e expondo-se 6 organismos em cada réplica, com duração de 96 h, contabilizando os organismos sobreviventes. Os bioensaios “in situ” foram realizados utilizando câmaras montadas com tubos de PVC (comprimento de 30 cm e diâmetro de 7 cm) e telas com malha de 300 µm nas laterais e nas extremidades, conforme recomendações de Sibley *et al.* (1999), adaptadas para bioensaios com quironomídeos. As câmaras, em triplicata, foram amarradas com arame em uma estaca de madeira, colocadas na água e fixadas no sedimento 24 h antes do início do bioensaio. No dia seguinte, adicionou-se o sedimento, após uma pré-triagem para retirada de organismos nativos e, em seguida, foram adicionados 10 organismos do IV instar em cada réplica. O tempo de exposição foi de 96 h, contabilizando a sobrevivência ao final desse período. Experimentos “controle” foram conduzidos com amostras de sedimento provenientes do cultivo, uma vez que a região não apresenta locais não impactados (Espíndola *et al.*, 2000). Simultaneamente foram realizadas as medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e temperatura da água (multi-sensor Horiba U-10) e matéria orgânica (Trindade, 1980); Cr e Cu potencialmente biodisponíveis (digestão com HCl 0,1 N e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica por forno de grafite, modelo SpectrAA220 – Varian, segundo Silvério, 1999) e granulometria (ABNT, 1968) do sedimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos bioensaios “in situ” demonstram baixa sobrevivência dos organismos (entre 3% e 16% em out/03 e entre 30% e 40% em jan/04), como mostra a Figura 1, enquanto os controles laboratoriais apresentaram 95% (out/03) e 90% (jan/04) de sobrevivência, com baixa sobrevivência mesmo na Nascente (10% e 40%, em out/03 e jan/04, respectivamente), o que não era esperado. Os ensaios laboratoriais apresentaram grande variação na sobrevivência, sendo de 95,5% na Nascente (em ambos os períodos), 0% na Federal (out/03), 66,7% na Ponte Caída (out/03) e 100% na Federal (jan/04). Quando se comparam os dois tipos de testes, observa-se que nos bioensaios laboratoriais as porcentagens de sobrevivência foram sempre superiores às apresentadas nos bioensaios “in situ”, ocorrendo acentuada diferença entre os métodos.

Na Figura 2 observa-se tendência ao aumento da mortalidade conforme aumenta a porcentagem de silte + argila e de matéria orgânica, com os maiores valores na estação Federal. Em geral, o sedimento avaliado foi considerado arenoso (mais de 85% de areia) e inorgânico (menos de 10% de matéria orgânica). Segundo Salomons & Forstner (1984), quanto maior a porcentagem de partícula finas no sedimento (silte + argila), maior a adsorção de metais, podendo apresentar características de maior toxicidade à biota se este metal se tornar disponível aos organismos por alguma alteração nas condições ambientais. Este fato pode ser visualizado na Figura 3, quando se observa a estação Federal em out/03 (ambos os testes) e verifica-se a alta mortalidade em decorrência, provavelmente, das maiores

concentrações de Cr e Cu (4,5 e 13,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente), aliadas à baixa concentração de oxigênio dissolvido (Tabela 1). Em jan/04, as concentrações de Cr e Cu na Federal foram inferiores e a concentração de oxigênio dissolvido foi superior, em comparação com out/03, podendo justificar as diferenças na mortalidade entre os dois períodos analisados. Em geral, os resultados dos três metais analisados foram equivalentes aos encontrados por Brigante & Espíndola (2003) no rio Mogi-Guaçu (SP/MG) e inferiores ao obtido por Espíndola *et al.* (2004) para o rio Atibaia, SP. Segundo os critérios propostos por Thomas (1987), o sedimento do rio Monjolinho é classificado como não poluído para os 3 metais em questão (concentração de Cd < 6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e concentrações de Cu e Cr < 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

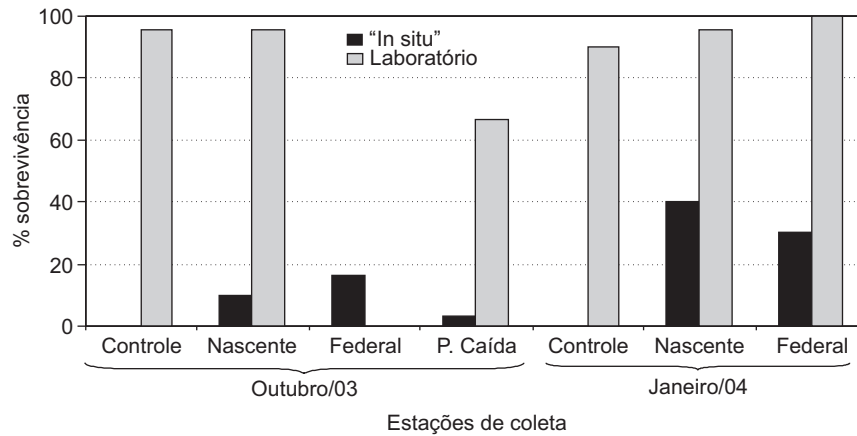


Figura 1 — Comparação da sobrevivência de *C. xanthus* nos bioensaios “in situ” e laboratoriais.

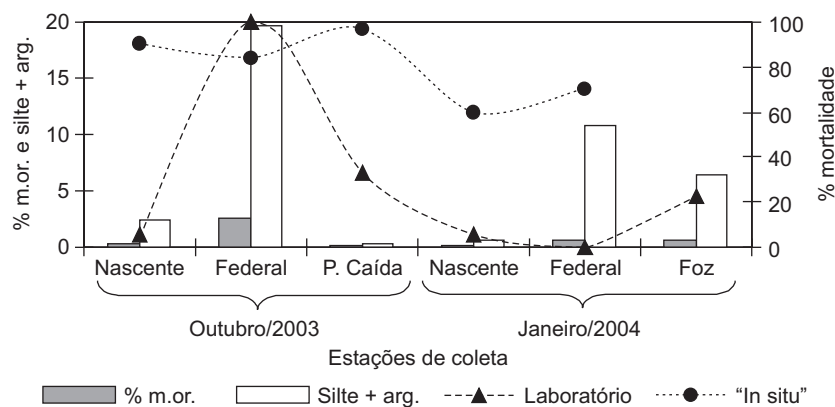


Figura 2 — Porcentagem de matéria orgânica, de silte + argila e de mortalidade nas estações de coleta do rio Monjolinho (São Carlos, SP).

A mortalidade observada na Nascente, no bioensaio “in situ”, pode ser atribuída a diferentes fatores que confundem a avaliação final dos experimentos, como também observado por Castro *et al.* (2003), como saturação da malha com material em suspensão (alterando o fluxo de água e diminuindo a aeração das câmaras), diferentes texturas do sedimento e qualidade da água que flui pelas câmaras. Na Tabela 1 observa-se o baixo pH da água da Nascente em jan/04 (entre 4,77 e 5,62), o que também pode diminuir a sobrevivência dos organismos expostos. Para as demais estações amostradas, observa-se que, além das baixas concentrações de oxigênio dissolvido, a presença de organismos invasores nas câmaras pode influenciar os resultados, considerando que foram encontrados oligoquetas, hirudíneos e outras espécies de quironomídeos, podendo haver competição e predação no interior das mesmas durante o período de exposição.

Além dos problemas relacionados ao organismo-teste, como a não adaptação às variáveis ambientais (tipo de

sedimento da nascente, por exemplo), deve-se considerar as características do próprio ambiente, o qual é impactado por atividades da pecuária, plantios de hortaliças, café e laranja. Apesar de o sedimento ser arenoso, não favorecendo a adsorção de contaminantes (baixos valores de Cr e Cu), e classificado como não poluído (Thomas, 1987), deve-se reconhecer que os organismos nos testes “in situ” também estão em contato com a água que passa pelas câmaras, a qual apresenta concentrações de metais e organoclorados acima do recomendado pela legislação brasileira vigente (Espíndola *et al.*, 2000; Pelaez-Rodrigues, 2001). A reduzida concentração de oxigênio dissolvido em algumas estações de coleta também pode ter colaborado para a maior mortalidade dos organismos expostos. Por outro lado, os resultados dos bioensaios laboratoriais apontam para um sedimento não tóxico para a espécie testada, corroborando com as baixas concentrações de Cr e Cu e também com a classificação proposta por Thomas (1987).

Tabela 1 — Variáveis iniciais e finais dos bioensaios “in situ”. Condutividade ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Parâmetros	Outubro de 2003				Janeiro de 2004			
	pH	Cond.	OD	Temp.	pH	Cond.	OD	Temp.
	Nascente – 10% de sobrevivência				Nascente – 40% de sobrevivência			
iniciais	6,13	8,00	6,48	21,70	4,77	8,00	8,07	20,40
finais	6,09	8,00	6,50	20,10	5,62	10,00	7,76	20,70
	Federal – 16% de sobrevivência				Federal – 30% de sobrevivência			
iniciais	6,63	58,00	2,70	22,00	5,54	57,00	3,29	25,20
finais	6,70	85,00	0,33	23,80	5,61	27,00	5,86	21,60
	Ponte Caída – 3% de sobrevivência				Foz			
iniciais	6,65	159,00	3,66	19,50	Devido à forte chuva após a montagem do bioensaio, as câmaras foram perdidas.			
finais	7,01	159,00	1,05	20,50				

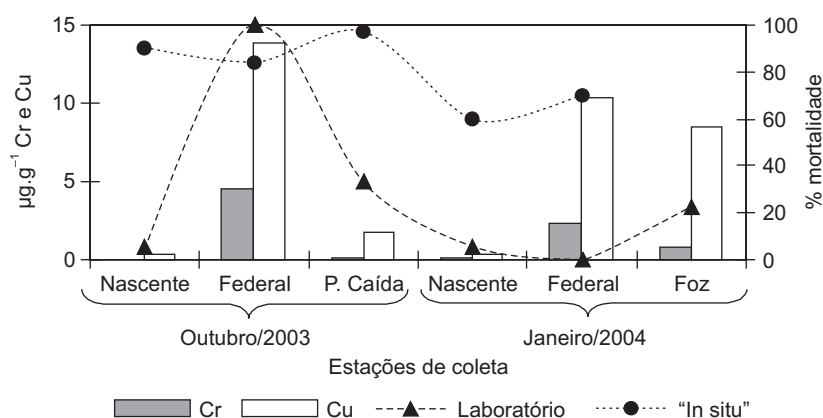


Figura 3 — Concentração de metais potencialmente biodisponíveis no sedimento (Cr e Cu) e porcentagem de mortalidade nas estações de coleta do rio Monjolinho (São Carlos, SP).

Portanto, os resultados deste estudo apresentam diferença entre os bioensaios “in situ” e os laboratoriais. Em relação à qualidade do sedimento, os testes laboratoriais indicam ausência de toxicidade (condições ambientais mais controladas e uso de água do meio cultivado), porém, os bioensaios “in situ” demonstram toxicidade elevada (acima de 60%), caracterizando efeito sinérgico dos compartimentos água e sedimento, mas não revelando o potencial de contaminação isolado do sedimento justamente pela passagem de água pelas câmaras. A análise dos dados permite concluir que testes “in situ” são ferramentas importantes para avaliar o potencial de toxicidade do ambiente de forma mais ampla (água + sedimento), uma vez que está sujeito às interferências locais, mas não revela, de forma isolada, os efeitos de toxicidade do compartimento sedimento. Reconhece-se, desta forma, que bioensaios laboratoriais e “in situ” são ferramentas importantes, sendo os resultados complementares na avaliação ambiental.

Agradecimentos — Os autores agradecem à equipe técnica do Núcleo de Estudos em Ecossistemas Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (EESC/USP) e à FAPESP pela concessão do Auxílio Pesquisa, processo nº 2002/10494-6.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT, 1968, *Análise granulométrica de solos*. 32p.
- BRIGANTE, J. & ESPÍNDOLA, E. L. G., 2003, *Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu*. RiMa Editora, São Carlos, SP, 255p.
- CASTRO, B. B., GUILHERMINO, L. & RIBEIRO, R., 2003, In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparius*. *Environ. Poll.*, 125: 325-335.
- ESPÍNDOLA, E. L. G., 2000, O Rio Monjolinho: um estudo de caso. In: ESPÍNDOLA, E. L. G., SILVA, J. S.V., MARINELLI, C. E & ABDON, M. M. A *Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. RiMa Editora, São Carlos, Cap. 3, pp. 36-40.
- ESPÍNDOLA, E. L. G., LEITE, M. A. & DORNFELD, C. B., 2004, *Reservatório de Salto Grande (Americana, SP): caracterização, impactos e proposta de manejo*. RiMa Editora, São Carlos.
- FONSECA, A. L., 1997, *Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados*. Escola de Engenharia de São Carlos (USP), 211p.
- MEREGALLI, G., VERMEULEN, A. C. & OLLEVIER, F., 2000, The use of chironomidae deformation in an in situ test for sediment toxicity. *Ecotox. and Environ. Saf.*, 47: 231-238.
- PELÁEZ-RODRIGUES, M., 2001, *Avaliação da qualidade da água da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu/SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas*. Escola de Engenharia de São Carlos (USP), 190p.
- SALOMONS, W. & FÖRSTNER, U., 1984, *Metals in the hydrocycle*. Springer-Verlag, 349p.
- SIBLEY, P. K., BENOIT, D. A., BALCER, M. D., PHIPPS, G. L., WEST, C. W., HOKE, R. A. & ANKLEY, G., 1999, In situ bioassay chamber for assessment of sediment toxicity and bioaccumulation using benthic invertebrates, *Environ. Toxic. and Chem.*, 18(10): 2325-2336.
- SILVÉRIO, P. F., 1999, *Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos*. Universidade Federal de São Carlos, 77p.
- THOMAS, R. L. 1987. A protocol for the selection of process-oriented remedial options to control *in situ* sediment contaminants. *Hydrobiologia*, 149: 247-258.
- TRINDADE, M., 1980, *Nutrientes em sedimento da represa do Lobo (Brotas/Itirapina, SP)*. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 219p.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2000, USEPA/600/R – 99/064. *Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminant with freshwater invertebrates*. 2 ed. Washington, D.C., 192p.