



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA – CCT
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

AMANDA MYRNA DE MENESES E COSTA

**BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS FOLHOSAS
IRRIGADAS COM ÁGUAS DE UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO
SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

**CAMPINA GRANDE
2022**

AMANDA MYRNA DE MENESES E COSTA

**BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS FOLHOSAS
IRRIGADAS COM ÁGUAS DE UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO
SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado à Coordenação do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Whelton Brito dos Santos

Coorientador: Me. Thiago Santos de Almeida Lopes

**CAMPINA GRANDE
2022**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

C837b Costa, Amanda Myrna de Meneses e.

Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças folhosas irrigadas com águas de um reservatório eutrofizado do Semiárido Brasileiro [manuscrito] / Amanda Myrna de Meneses e Costa. - 2022.

19 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Whelton Brito dos Santos, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - CCT."

"Coorientação: Prof. Me. Thiago Santos de Almeida Lopes, Departamento de Química - CCT."

1. Eutrofização. 2. Cianotoxina. 3. Hortaliças folhosas. 4. Irrigação. 5. Qualidade da água. I. Título

21. ed. CDD 628.161

AMANDA MYRNA DE MENESES E COSTA

BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS FOLHOSAS
IRRIGADAS COM ÁGUAS DE UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO
SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado à Coordenação do Curso de
Engenharia Sanitária e Ambiental da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Sanitária e
Ambiental.

Aprovada em: 15/07/2022.

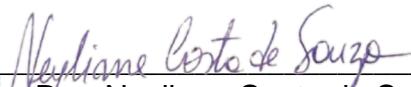
BANCA EXAMINADORA



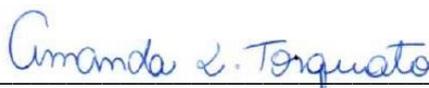
Prof. Dr. Whelton Brito dos Santos (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Me. Thiago Santos de Almeida Lopes (Coorientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Neyliane Costa de Souza
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Me. Amanda Laurentino Torquato
Universidade Federal da Paraíba (UFCG)

Aos meus pais, família e amigos, DEDICO.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	METODOLOGIA	9
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4	CONCLUSÃO	15
5	REFERÊNCIAS.....	15

BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS FOLHOSAS IRRIGADAS COM ÁGUAS DE UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

BIOACCUMULATION OF CYANOTOXINS IN LEAFY VEGETABLES IRRIGATED WITH WATER FROM A EUTROPHICATED BRAZILIAN SEMIARID RESERVOIR

Amanda Myrna de Meneses e Costa*

RESUMO

A ocorrência de florações de cianobactérias em reservatórios superficiais e a consequente liberação de cianotoxinas na água tem se tornado cada vez mais comum, portanto, o objetivo deste estudo foi investigar a bioacumulação de microcistinas, cilindrospermopsinas e saxitoxinas em culturas de hortaliças folhosas (alface, coentro, couve, espinafre, rúcula e salsa) irrigadas com águas provenientes do reservatório Epitácio Pessoa, localizado em Boqueirão-PB. A pesquisa foi realizada nas seguintes etapas: (i) coleta de amostras de águas de irrigação e hortaliças na propriedade; (ii) análises em laboratório para avaliação da qualidade das águas em termos de parâmetros físico-químicos, incluindo a determinação das concentrações de cianotoxinas na água e nos tecidos dos vegetais estudados. A quantificação de cianotoxinas se deu pelo método imunoenzimático ELISA. A partir dos resultados obtidos verificou-se que, de forma geral, as águas do manancial são caracterizadas como eutróficas a partir do Índice de Estado Trófico obtendo o valor de 62,63. Calculando-se o consumo diário estimado, foram obtidos valores abaixo dos limites determinados para cada cianotoxina, sendo o maior deles de $5,22E-3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para o coentro em relação a microcistina. A OMS recomenda que a ingestão diária total da MC-LR não ultrapasse $0,04 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Apesar disso, constatou-se que, mesmo baixas concentrações são suficientes para bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais. A microcistina demonstrou possuir maior potencial de bioacumulação.

Palavras-chave: Eutrofização. Cianotoxinas. Irrigação. Bioacumulação. Hortaliças folhosas.

ABSTRACT

The occurrence of cyanobacterial blooms in surface reservoirs and the consequent release of cyanotoxins in water has become increasingly common, therefore, the aim of this study was to investigate the bioaccumulation of microcystins, cylindrospermopsins and saxitoxins in leafy vegetable crops (lettuce, coriander, cabbage, spinach, arugula and parsley) irrigated with water from the Epitácio Pessoa reservoir, located in Boqueirão-PB. The research was carried out in the following steps: (i) collection of samples of irrigation water and vegetables on the property; (ii) laboratory analysis to evaluate the quality of water in terms of physical-chemical parameters, including the determination of cyanotoxin concentrations in water and tissues of the vegetables studied. Cyanotoxins were quantified using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Based on the results obtained, it was found that, in general, the waters of the spring are characterized as eutrophic from the

* Graduada em Engenharia Sanitária e Ambiental. E-mail: mndmyrna@gmail.com

Trophic State Index, with a value of 62.63. Calculating the estimated daily consumption, values below the limits determined for each cyanotoxin were obtained, the highest being $5.22\text{E-}3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ for coriander in relation to microcystin. The WHO recommends that the total daily ingestion of MC-LR does not exceed $0.04 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Despite this, it was found that even low concentrations are sufficient for bioaccumulation of cyanotoxins in plant tissues. Microcystin showed the highest bioaccumulation potential.

Keywords: Eutrophication. Cyanotoxins. Irrigation. Bioaccumulation. Leafy vegetables.

1 INTRODUÇÃO

As cianobactérias apresentam características bioquímicas e estruturais análogas às das bactérias, mas, no tocante ao tamanho e à capacidade de realizar fotossíntese, principal forma de obtenção de energia, se assemelham às algas. São uma variedade de microrganismos procariontes e autotróficos que possuem alta adaptabilidade ao ambiente, podendo ser encontradas nos mais diversos habitats: desde sistemas aquáticos e terrestres até meios que apresentem condições adversas, como elevada salinidade e temperaturas extremas (WHO, 2001; LAPOLLI, CORAL, RÉCIO, 2011;).

Consideradas como as mais antigas produtoras de oxigênio, em condições normais, as cianobactérias possibilitam a manutenção do equilíbrio no meio. Entretanto, atividades antrópicas têm causado a eutrofização de corpos aquáticos, uma vez que provocam o aumento da concentração de nutrientes limitantes, como nitrogênio e fósforo, promovendo condições satisfatórias e um consequente desenvolvimento exacerbado destes microrganismos, chamado de *bloom* ou floração (NGUYEN et al., 2019).

Reservatórios eutróficos do semiárido têm registrado com frequência a ocorrência de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas (COSTA et al., 2006; ESKINAZI-SANT'ANNA et al., 2007; BARBOSA et al., 2012; NERY, NERY, MEDEIROS, 2020). Além de apresentarem condições meteorológicas favoráveis à proliferação desses microrganismos, como exposição à radiação solar por longos períodos, elevadas temperaturas e velocidades reduzidas dos ventos, mananciais do semiárido geralmente possuem altas concentrações de nutrientes, como o fósforo,), elevados valores de pH, baixas concentrações de CO₂, maior estabilidade da coluna de água e pouca luz subaquática, características que também contribuem para que florações ocorram (MENDES et al., 2017)

Efetivamente, essa ocorrência tem aumentado nos reservatórios da Paraíba. Segundo Vasconcelos et al. (2011), ao analisarem os vinte maiores mananciais do Estado, em 2006 apenas 3% desses apresentavam florações de cianobactérias, valor que aumentou para 20, 45 e 62% nos anos de 2007, 2008 e 2009, respectivamente. Do mesmo modo, foi registrado crescente acúmulo de fósforo total com médias de 30,5, 45,2, 132,7 e 178,7 µg.L⁻¹ nesses mesmos anos. Por fim, observaram o aumento da eutrofização entre esses reservatórios: onde 7,7% estavam eutrofizados em 2006, 30,8% em 2007, 42,3% em 2008 e 57,7% em 2009.

Esses dados indicam uma tendência no aumento da ocorrência de florações de cianobactérias relacionada com a eutrofização destes reservatórios. Tal evento pode ser associado aos usos múltiplos da água nas bacias hidrográficas da Paraíba, incluindo atividades como irrigação, pecuária e piscicultura, além da ausência de tratamento de esgotos, que são lançados nos cursos dos rios (VASCONCELOS et al., 2011).

A bacia hidrográfica do rio Paraíba é a segunda maior da Paraíba e abrange em torno de 53% da população do Estado. Dentre os reservatórios localizados nesta bacia, o Epitácio Pessoa, com capacidade de aproximadamente 412 milhões de m³, é o maior. Este manancial apresenta grande importância social e econômica para o Estado, visto que abastece 26 sedes municipais e distritos (PERH, 2006).

Contudo, a intensa atividade antrópica tem comprometido a qualidade de suas águas, bem como proporcionado a redução da capacidade de acumulação de água e a concentração de uma diversidade de poluentes, como agrotóxicos e fertilizantes agrícolas. Além disso, as águas que alimentam este manancial passam por áreas não

saneadas do Estado, de onde recebem descargas de efluentes não tratados e de resíduos sólidos (VIANA et al., 2016).

Sendo uma característica do manancial, o elevado tempo de residência do reservatório Epitácio Pessoa, entre 3-5 anos, decorrente do ciclo hidrológico com longos períodos de estiagem, favorece a retenção dos nutrientes e poluentes exportados, agravando a situação. Portanto, como resposta aos estresses antropogênicos e ambientais, incluindo os climáticos, ele se encontra eutrofizado (VIANA et al., 2016; SILVA et al., 2020).

Um dos principais problemas que a presença de florações de cianobactérias representa é o risco de contaminação por cianotoxinas (BURATTI et al., 2017), metabólitos secundários produzidos por diferentes gêneros do microrganismo que podem ser formadas em todos os estágios do crescimento das células, e são liberadas apenas quando ocorre seu rompimento (lise), podendo persistir de poucos dias a várias semanas na água, de acordo com as condições do meio (KOTAK et al., 1995; CHORUS, 2001).

Apesar das causas da produção dessas toxinas não estarem devidamente esclarecidas, uma hipótese bastante aceita é que sua produção exerça função protetora contra herbivoria, como acontece com alguns metabólitos de plantas vasculares (CARMICHAEL, 1992).

De acordo com sua toxicidade, as cianobactérias se dividem em três grupos: hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas (CARMICHAEL, 1992). Dentre estes, microcistinas (MC), cilindrospermopsinas (CYN) e saxitoxinas (STX) são consideradas relevantes por serem produzidas por vários gêneros de bactérias, incluindo *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* e *Cylindrospermopsis*, além de serem largamente encontradas em florações que ocorrem em água doce. As duas primeiras são classificadas como hepatotoxinas, causando danos ao fígado, citotoxicidade e distúrbios gastrointestinais; já a última, é uma neurotoxina, atua no sistema neuromuscular causando paralisação dos músculos esqueléticos e respiratórios. Ambas as modalidades podem ser fatais, a depender de sua concentração, o que representa sério risco à saúde pública se considerado a utilização de águas contaminadas para consumo, irrigação e aquicultura (PEGRAM et al., 2008; DJEDIAT et al., 2010; SANCHES et al., 2012; ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013; BAVITHRA et al., 2020).

Como a irrigação de culturas se dá através do uso de águas superficiais que estão, muitas vezes, potencialmente contaminadas, o consumo desses alimentos se torna uma importante fonte de exposição humana às cianotoxinas. E, além disso, os vegetais podem apresentar capacidade de bioacumulação desses metabólitos, desencadeando efeitos nocivos para a saúde humana (BIHN et al., 2013; MACHADO, 2014; CORDEIRO-ARAÚJO; CHIA; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2017).

Segundo Corbel, Mougin e Bouaïcha (2014), além da possibilidade de acúmulo interno, a irrigação pode proporcionar a bioacumulação de cianotoxinas em superfícies externas de vegetais quando a água contaminada seca sobre as folhas ou fica retida no centro das plantas. Esse fato é evidenciado no estudo de Codd, Metcalf e Beattie (1999), onde constatou-se presença de microcistinas em alfaces irrigadas com aspersão de água contendo cianobactérias e, mesmo após lavagem, as células e cianotoxinas não foram completamente removidas.

Devido ao potencial de bioacumulação dessas toxinas a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que a ingestão diária total (IDT) de MC-LR para humanos não deve exceder $0,04 \mu\text{g.kg}^{-1}$, considerando o peso corpóreo (WHO, 2001). Em relação à CYN, um IDT provisório de $0,03 \mu\text{g.kg}^{-1}$ por Humpage e Falconer (2003). Já

para STX, a Autoridade de Saúde do Oregon (OHA), determinou um IDT de $0,05 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (FARRER et al, 2015). No entanto, até o momento, não há, no Brasil, uma legislação específica para controle de cianotoxinas em produtos da agricultura, bem como para a água utilizada com finalidade de irrigação.

Bittencourt-Oliveira et al. (2016) também avaliaram a bioacumulação de microcistinas em alface, irrigada durante 15 dias com água contendo concentrações de $0,50-10,00 \mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-LR e $0,15-3,00 \mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-RR, e observaram acúmulo nos tecidos vegetais de valores entre $32,99-143,35 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de MC-LR e $6,32-15,00 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de MC-RR. Os autores calcularam que a ingestão de 4 folhas (cerca de 40 g) desta alface contaminada é suficiente para exceder a IDT recomendada pela OMS.

Além disso, existem poucos estudos que envolvem bioacumulação de cianotoxinas em cultivos de hortaliças em condições reais e, tendo isso em vista, o presente estudo busca analisar a bioacumulação de MC, CYN e STX em cultivos de hortaliças folhosas irrigados com água advinda do reservatório Epitácio Pessoa, bem como confirmar o estado de eutrofização do manancial e a presença de florações de cianobactérias e cianotoxinas.

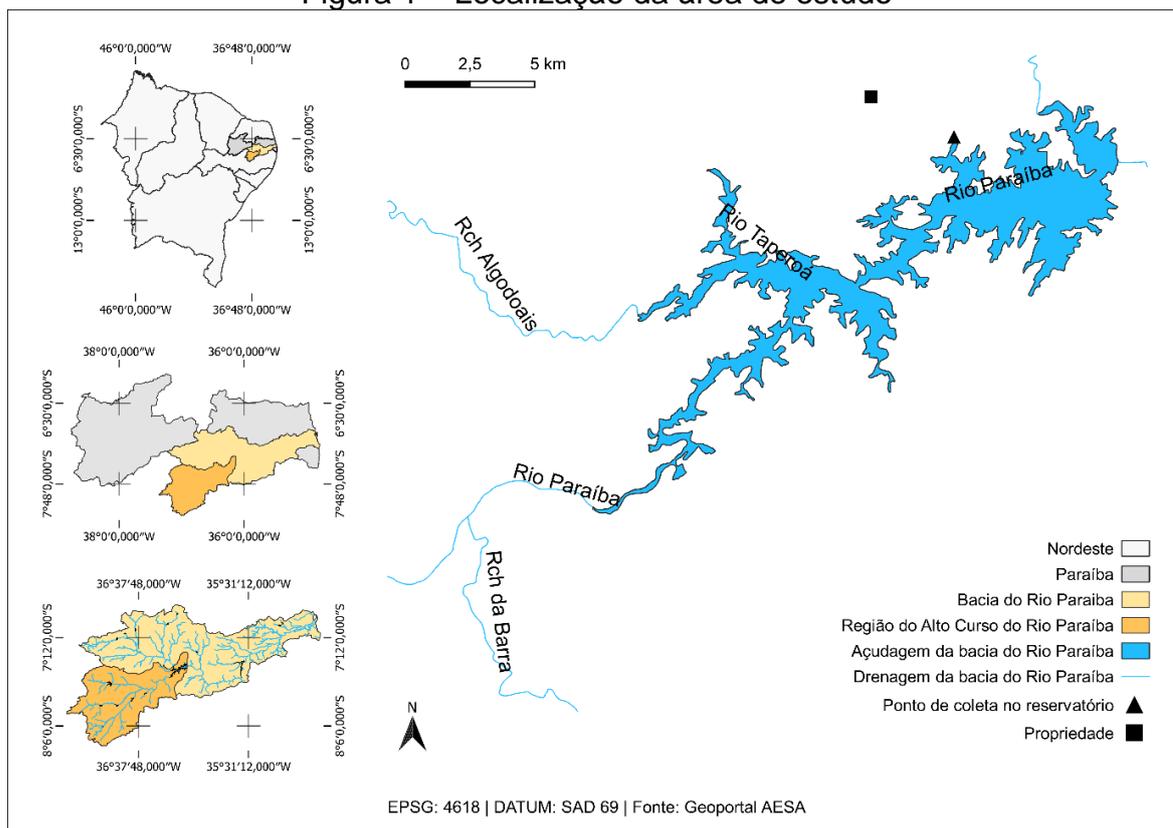
2 METODOLOGIA

O estudo foi realizado em uma propriedade situada nas proximidades do reservatório Epitácio Pessoa (Figura 1) que apresentava culturas irrigadas com águas desse reservatório.

Localizado no município de Boqueirão, Paraíba, o manancial foi selecionado por apresentar surgimento de florações potencialmente tóxicas de cianobactérias, como relatado por Silva et al. (2020) e Nery, Nery e Medeiros (2020).

Na propriedade existiam pequenos cultivos de alface, coentro, couve, espinafre, rúcula e salsa, para consumo próprio que foram utilizados neste estudo. A irrigação era realizada com regador, molhando folhas e solo, utilizando-se de água do reservatório que chegava à propriedade através de carro pipa, sendo armazenada em cisterna.

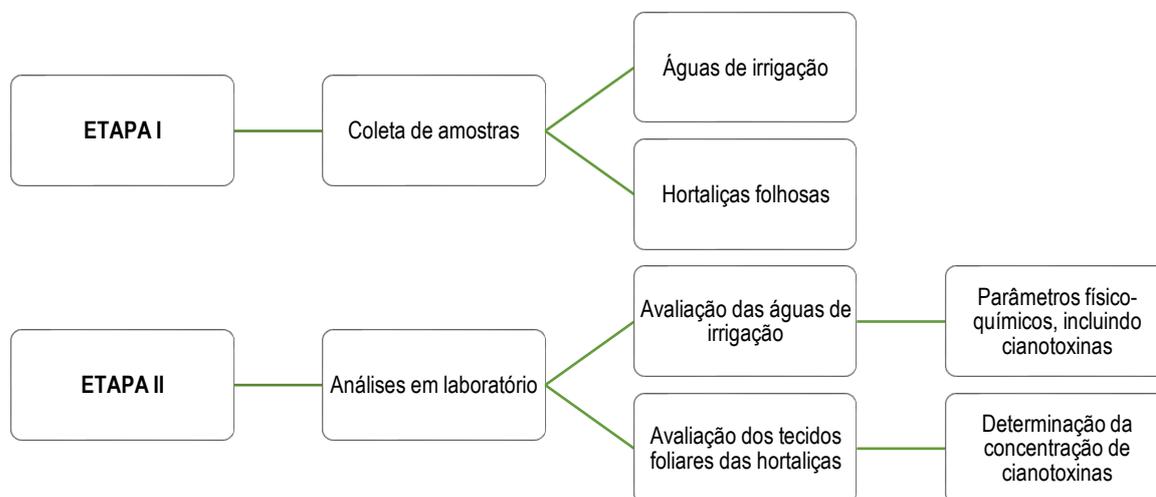
Figura 1 – Localização da área de estudo



Fonte: autor, 2022

A pesquisa foi dividida nas seguintes etapas: (i) coleta de amostras de águas no reservatório para fins de caracterização, assim como de irrigação e hortaliças na propriedade; (ii) análises em laboratório para avaliação da qualidade das águas em termos de parâmetros físico-químicos, incluindo a determinação das concentrações de cianotoxinas na água e nos tecidos dos vegetais estudados, como pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma das etapas da pesquisa



A coleta de amostra de água no reservatório foi realizada no ponto indicado na Figura 1 e, para as águas de irrigação, efetuada na cisterna da propriedade em questão. A amostragem de hortaliças foi realizada em triplicata de indivíduos adultos.

A coleta, preservação e armazenamento das amostras de água foi realizado de acordo com o Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011). Já as amostras de hortaliças foram colocadas em sacos plásticos do tipo zip lock e preservadas em isopor com gelo.

Todas as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Referência em Tecnologia de Águas (LARTECA), vinculado ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT), Campus I, UEPB, onde foram realizadas as análises.

Os parâmetros físico-químicos determinados na água de irrigação durante o período de desenvolvimento do estudo, bem como suas unidades e metodologias de análise, estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos, unidades e metodologia de análise

Parâmetro	Unidade	Metodologia
CYN	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Método imunoenzimático ELISA
MC	$\mu\text{g.L}^{-1}$	
STX	$\mu\text{g.L}^{-1}$	
Clorofila a	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Método espectrofotométrico (10200 H)*
Cor aparente	uC	Colorímetro portátil (PoliControl AquaColor Cor)
Fósforo reativo solúvel	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Método do Ácido Ascórbico (4500-P E)*
Fósforo total	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Método do Ácido Ascórbico (4500-P E)*
Nitrogênio total	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Valderrama (1981) e Mackereth et al. (1978)
pH	-	pHmetro portátil (KASVI)
Temperatura	°C	pHmetro portátil (KASVI)
Turbidez	uT	Turbidímetro portátil (PoliControl AP2000)

*Extraída do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WPCF, 2012).

A extração de cianotoxinas dos tecidos vegetais foi realizada com base em protocolos estabelecidos em estudos anteriores que utilizaram o método ELISA para quantificação do metabólito em plantas frescas (LEE et al., 2017; TRIFIRÒ et al., 2016).

Ao chegar ao laboratório, as amostras de hortaliças foram suavemente lavadas com água destilada, para remoção de possíveis detritos, de acordo com Lee et al. (2017), a lavagem não altera as concentrações de microcistinas acumuladas nas plantas. Em seguida foram secas com papel toalha e picotadas com auxílio de uma tesoura.

A fim de extrair as cianotoxinas dos tecidos foliares, as amostras, após picotadas, passaram pela maceração de 10 g de massa úmida com almofariz e pilão e homogeneização em 20 mL de água destilada. O material resultante seguiu para banho ultrassônico (15 w e 22,5 KHz) por 10 min. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 min a 4.000 rpm e o sobrenadante, filtrado em filtro de papel e armazenado a -20°C até análise pelo teste ELISA.

Assim como para as amostras de água, a análise ELISA em extratos vegetais foi realizada por meio de kits Abraxis (Warminster, PA, EUA) para microcistinas, cilindrospermopsinas e saxitoxinas totais. A metodologia seguiu o protocolo do

fabricante e a leitura das amostras foi realizada em um leitor ELISA com comprimento de onda de 450 nm.

A partir dos dados obtidos para fósforo total e clorofila a da água do reservatório, foi calculado o Índice de Estado Trófico (IET) conforme metodologia de Carlson (1977) modificada para ambientes tropicais por Toledo Jr. (1990). Os cálculos foram realizados através das Equações 1 e 2, Toledo Jr. et al. (1983), e a classificação trófica seguiu o critério da Tabela 2, a partir da média dos resultados calculados.

$$IET (P_t) = 10 \times \left(6 - \frac{\ln 80,32 / P_t}{\ln 2} \right) \quad \text{Equação 1}$$

$$IET (CL - a) = 10 \times \left(6 - \frac{2,04 - (0,695 \times \ln CL - a)}{\ln 2} \right) \quad \text{Equação 2}$$

Tabela 2 – Classificação trófica dos reservatórios baseada no Índice de Estado Trófico de Carlson (1977) modificado por Toledo Jr. (1990)

Classificação trófica	Índice de Estado Trófico
Ultraoligotrófico	IET ≤ 24
Oligotrófico	24 ≤ IET ≤ 44
Mesotrófico	44 ≤ IET ≤ 54
Eutrófico	54 ≤ IET ≤ 74
Hipereutrófico	IET > 74

De modo a avaliar os impactos da bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais das hortaliças, também foi calculado o consumo diário estimado (CDE) de MC, CYN e STX (Equação 3) para cada amostra afim de comparação com os IDTs recomendados.

$$CDE(\mu g.kg^{-1}) = \frac{C_{CH} \times CMD_H}{P_C} \quad \text{Equação 3}$$

Onde C_{CH} é a concentração de cianotoxina na hortaliça ($\mu g.g^{-1}$), CMD_H é o consumo médio diário de hortaliças (g) e P_C é o peso do consumidor. Para o cálculo considerou-se que uma pessoa de 60 kg come, em média, 40 g de hortaliças por dia (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016; LEVIZOU et al., 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas realizadas para as águas coletadas.

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos analisados

Parâmetro	Reservatório	Propriedade
CYN ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$0,09 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,04$
MC ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$0,12 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$
STX ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$0,05 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,00$
Clorofila a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$32,51 \pm 0,95$	$1,08 \pm 0,13$
Cor aparente (uC)	$31,90 \pm 0,46$	$10,73 \pm 0,38$
Fósforo reativo solúvel ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$49,50 \pm 0,70$	$90,0 \pm 0,00$
Fósforo total ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$300,0 \pm 0,00$	$500,0 \pm 0,00$
Nitrato ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$57,50 \pm 3,50$	$407,5 \pm 0,70$
Nitrito ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$2,25 \pm 0,21$	$5,60 \pm 0,00$
pH	$9,80 \pm 0,10$	$9,90 \pm 0,10$
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$27,20 \pm 0,00$	$25,6 \pm 0,00$
Turbidez (uT)	$2,26 \pm 0,21$	$0,23 \pm 0,02$

Com os dados de fósforo total e clorofila a, calculou-se o IET para a água captada no reservatório e obteve-se o valor de 62,63, o que confirma o estado de eutrofização do manancial, uma vez que é classificada como eutrófica, segundo o Índice de Estado Trófico de Carlson (1977) modificado por Toledo Jr. (1990).

Esse fato favorece o surgimento de florações, potencialmente tóxicas, de cianobactérias e, conseqüentemente, a liberação de cianotoxinas na água, oferecendo riscos à saúde humana e possibilidade de bioacumulação nas hortaliças irrigadas (CHORUS et al., 2000; BURATTI et al., 2017).

Pode-se observar que os níveis de clorofila a decaem na propriedade, variando de $32,51 \pm 0,95$ para $1,08 \pm 0,13 \mu\text{g.L}^{-1}$, condição que pode ser explicada devido ao confinamento da água na cisterna, que deixa de receber incidência direta de luz solar, diminuindo o processo fotossintético no meio (OKADA et al., 1992).

A redução de luz provoca a morte das cianobactérias e, conseqüentemente, a quebra de suas células, liberando as cianotoxinas no meio, que podem persistir de poucos dias a várias semanas na água, de acordo com as condições oferecidas (KOTAK et al., 1995; CHORUS, 2001). Observa-se que, mesmo armazenada em condições adequadas, a água da cisterna mantém o nível de cilindrospermopsinas originário do reservatório, chegando a apresentar um discreto aumento, de $0,09 \pm 0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ no manancial para $0,10 \pm 0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ na propriedade.

Enquanto as microcistinas e saxitoxinas decaem levemente: de $0,12 \pm 0,01$ para $0,08 \pm 0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,05 \pm 0,01$ para $0,02 \pm 0,00 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. O que evidencia a predominância de cilindrospermopsinas na água de irrigação, mesmo sendo as microcistinas mais presentes na água do reservatório.

Por outro lado, o nível de fósforo total aumentou de $300 \pm 0,00$ para $500 \pm 0,00 \mu\text{g.L}^{-1}$, deixando evidente o aumento na concentração do nutriente. Santos et al. (2007), ao analisarem diferentes formas de fósforo na água, concluíram que em camadas afóticas, o percentual de fosfato tende a aumentar como consequência da liberação a partir do fósforo orgânico dissolvido e do fósforo total particulado, o que pode aumentar a concentração de fósforo total. Fenômeno esse que pode estar ocorrendo na cisterna citada, uma vez que ela não recebe incidência direta de luz solar, como dito anteriormente.

Tendo isso em vista, Tabela 4 expõe as concentrações de cianotoxinas para as hortaliças estudadas.

Tabela 4 – Concentrações de microcistinas, cilindrospermopsinas e saxitoxinas presentes no tecido vegetal das hortaliças avaliadas

Hortaliça	MC ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	CYN ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	STX ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Alface	2,17E-3 \pm 0,10	1,00E-4 \pm 0,04	2,20E-4 \pm 0,01
Coentro	7,83E-3 \pm 0,30	4,00E-4 \pm 0,13	2,20E-4 \pm 0,01
Couve	2,31E-3 \pm 0,06	<LD*	6,00E-5 \pm 0,00
Espinafre	4,12E-3 \pm 0,07	1,10E-4 \pm 0,06	1,40E-4 \pm 0,03
Rúcula	6,30E-4 \pm 0,04	<LD*	2,00E-5 \pm 0,00
Salsa	5,47E-3 \pm 0,15	2,80E-4 \pm 0,13	6,00E-5 \pm 0,00

*Menor que o limite de detecção do método.

Pode-se observar que as concentrações de cianotoxinas presentes na água foram suficientes para promover bioacumulação nas hortaliças estudadas, com destaque para microcistinas que, mesmo não sendo a de maior incidência na água utilizada para irrigação, promoveu uma bioacumulação superior. As cilindrospermopsinas e as saxitoxinas também apresentaram capacidade de acúmulo nas plantas, contudo, em menores proporções.

Dentre as hortaliças avaliadas, uma maior bioacumulação de microcistinas foi observada no coentro (7,83E-3 \pm 0,30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), na salsa (5,47E-3 \pm 0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e no espinafre (4,12E-3 \pm 0,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), indicando que estes vegetais são mais sensíveis ao acúmulo destas toxinas.

De fato, Llana-Ruiz-Cabello et al (2019) analisaram a bioacumulação de cilindrospermopsinas e microcistinas em cultivos de espinafre e alface sob situações controladas e chegaram à conclusão de que o primeiro tem maior sensibilidade às cianotoxinas em comparação ao segundo.

Assim como Zhang, Whalen e Sauv  (2021) que, através de meta-análises e avalia o de risco de fitotoxicidade e bioconcentra o de microcistinas em plantas agrícolas, demonstraram que vegetais folhosos como a salsa podem bioacumular três vezes mais cianotoxinas em suas partes comestíveis (folhas e caules) do que outras variedades de cultivos.

Ressalta-se ainda que o método de irriga o pode contribuir para que ocorra a bioacumula o, uma vez que influencia diretamente no local em que as cianotoxinas serão retidas na planta, partes comestíveis ou não, e, conseqüentemente, nos riscos associados   saúde humana. Codd, Metcalf e Beattie (1999) verificaram que microcistinas foram retidas em alfaces irrigadas por aspersão de água contendo cianobactérias e, mesmo após lavagem, tanto as células como as microcistinas não foram completamente removidas das folhas.

A partir das concentra es de cianotoxinas foram calculados os CDEs para as respectivas hortaliças (Tabela 5).

Tabela 5 – Consumo diário estimado de cianotoxinas nas hortaliças analisadas

Hortaliça	MC ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	CYN ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	STX ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Alface	1,45E-3	6,35E-5	1,46E-4
Coentro	5,22E-3	2,66E-4	1,45E-4
Couve	1,54E-3	-	3,9E-5
Espinafre	2,75E-3	7,43E-5	9,53E-5
Rúcula	4,19E-4	-	1,30E-5
Salsa	3,65E-3	1,88E-4	4,24E-5

Comparado aos valores limites estabelecidos pela OMS, por Humpage e Falconer (2003) e pela OHA: 0,04, 0,03 e 0,05 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para MC, CYN E STX, respectivamente, as concentrações de cianotoxinas acumuladas nas hortaliças deste estudo foram baixas, porém, fica evidente o potencial de bioacumulação destas toxinas em tecidos vegetais, configurando-as como uma nova rota de contaminação e possível preocupação a longo prazo.

Com isso, destaca-se a importância do controle de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas em reservatórios de usos múltiplos e do estabelecimento de uma legislação específica que limite as concentrações máximas de cianotoxinas em hortaliças no Brasil.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- As águas do reservatório Epitácio Pessoa, com base no ponto avaliado, podem ser classificadas como eutróficas, o que favorece o surgimento de florações potencialmente tóxicas de cianobactérias;
- A microcistina foi a toxina que apresentou o maior potencial de bioacumulação;
- Apesar das concentrações de cianotoxinas acumuladas nas hortaliças estudadas terem sido baixas, o potencial de bioacumulação ficou evidente, o que destaca a necessidade de uma legislação específica para o controle destas toxinas em culturas agrícolas irrigadas com águas eutrofizadas.

5 REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington, D.C.: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2012.

BARBOSA, J. E. L.; MEDEIROS, E. S. F.; BRASIL, J.; CORDEIRO, R. D. S.; CRISPIM, M. C. B.; SILVA, G. H. G. D. Aquatic systems in semi-arid Brazil: limnology and management. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 1, p. 103-118, 2012. DOI: [10.1590/S2179-975X2012005000030](https://doi.org/10.1590/S2179-975X2012005000030)

BIHN, E. A.; SMART, C. D.; HOEPTING, C. A.; WOROBO, R. W. Use of surface water in the production of fresh fruits and vegetables: a survey of fresh produce growers and their water management practices. **Food Protection Trends**, v. 33, p. 307 – 314, 2013. DOI: [10.3390/toxins11110624](https://doi.org/10.3390/toxins11110624)

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; CHIA, M. A.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; DE OLIVEIRA, Ê. T.; DOS SANTOS, F. Lettuce irrigated with contaminated water: Photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 128, p. 83-90, 2016. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2016.02.014](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.014)

BURATTI, F. M.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; STEFANELLI, M.; SCARDALA, S.; TESTAI, E.; FUNARI, E. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. **Archives of toxicology**, v. 91, n. 3, p. 1049-1130, 2017. DOI: [10.1007/s00204-016-1913-6](https://doi.org/10.1007/s00204-016-1913-6)

CARLSON, R. E. **A trophic state index for lakes 1**. *Limnology and oceanography*, v. 22, n. 2, p. 361-369, 1977.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites: the cyanotoxins. **Journal of applied bacteriology**, v. 72, n. 6, p. 445-459, 1992. DOI: [10.1111/j.1365-2672.1992.tb01858.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01858.x)

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **IET – Índice do Estado Trófico**. São Paulo, CETESB, 2013.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

CHORUS, I. **Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences**. Berlim: Springer, 2001.

CHORUS, I.; FALCONER, I. R.; SALAS, H. J.; BARTRAM, J. Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational Waters. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, 3:4, 323-347, 2000. DOI: [10.1080/109374000436364](https://doi.org/10.1080/109374000436364)

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. DOI: [10.1016/S0041-0101\(98\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00244-X)

CORDEIRO-ARAÚJO, M; CHIA, M. A; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Potential human health risk assesment of cylindrospermopsin accumulation and depuration in lettuce an arugula. **Harmful Algae**, v. 68, p. 217 – 223, 2017. DOI: [10.1016/j.hal.2017.08.010](https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.08.010)

COSTA, I. A. S.; AZEVEDO, S. M. F.; SENNA, P. A. C.; BERNARDO, R. R.; COSTA, S. M.; CHELLAPPA, N. T. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria blooms in a Brazilian semiarid reservoir. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 1B, p. 211-219, 2006. DOI: [10.1590/S1519-69842006000200005](https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000200005)

ESKINAZI-SANT'ANNA, E. M.; MENEZES, R.; COSTA, I. S.; PANOSSO, R. F.; ARAÚJO, M. F.; DE ATTAYDE, J. L. Composição da comunidade zooplânctônica em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecologia brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 410-421, 2007.

FARRER, D.; COUNTER, M.; HILLWIG, R.; CUDE, C. Health-based cyanotoxin guideline values allow for cyanotoxin-based monitoring and efficient public health response to cyanobacterial blooms. **Toxins**, v. 7, n. 2, p. 457-477, 2015. DOI: [10.3390/toxins7020457](https://doi.org/10.3390/toxins7020457)

HUMPAGE, A. R.; FALCONER, I. R. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse

effect level for deriving a drinking water guideline value. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 18, n. 2, p. 94-103, 2003. DOI: [10.1002/tox.10104](https://doi.org/10.1002/tox.10104)

KOTAK, B. G.; LAM, A. K. Y.; PREPAS, E. E.; KENEFICK, S. L.; HRUDEY, S. E. Variability of the hepatotoxin microcystin-Lr in hypereutrophic drinking water lakes. **Journal of phycology**, v. 31, n. 2, p. 248-263, 1995. DOI: [10.1111/j.0022-3646.1995.00248.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00248.x)

LAPOLLI, F. R.; CORAL, L. A.; RECIO, M. Á. L. Cianobactérias em mananciais de abastecimento—problemática e métodos de remoção. **Revista Dae**, v. 185, p. 1-17, 2011. DOI: [10.4322/dae.2014.066](https://doi.org/10.4322/dae.2014.066)

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. DOI: [10.1016/j.foodres.2017.09.079](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.079)

LEVIZOU, E.; STATIRIS, G.; PAPADIMITRIOU, T.; LASPIDOU, C. S.; KORMAS, K. A. Lettuce facing microcystins-rich irrigation water at different developmental stages: Effects on plant performance and microcystins bioaccumulation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 143, p. 193-200, 2017. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.05.037](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.037)

LLANA-RUIZ-CABELLO, M.; JOS, A.; CAMEÁN, A.; OLIVEIRA, F.; BARREIRO, A.; MACHADO, J.; AZEVEDO, J.; PINTO, E.; ALMEIDA, A.; CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V.; FREITAS, M. Analysis of the Use of Cylindrospermopsin and/or Microcystin-Contaminated Water in the Growth, Mineral Content, and Contamination of *Spinacia oleracea* and *Lactuca sativa*. **Toxins (Basel)**, 11 (11):624, 2019. DOI: [10.3390/toxins11110624](https://doi.org/10.3390/toxins11110624)

MACHADO, J. F. F. **Implicações do Uso de Água Contaminada com Microcistina na Qualidade de Daucus carota (Cenoura)**. 119 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Contaminação Ambientais). Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Porto, 2014.

MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; NERY, J. F.; FERREIRA, L. M.; BARBOSA, J. E. L. O sucesso das cianobactérias nos reservatórios do semiárido: uma revisão de literatura. In: Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 20. **Anais**. Florianópolis: 2017. 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.

NGUYEN, T. T. N; NÉMERY, J; GRATIOT, N; STRADY, E; TRAN, V. Q; NGUYEN, A.T; AIMÉ, J; PEYNE, A. Nutrient dynamics and eutrophication assessment in the tropical river system of Saigon – Dongnai (southern Vietnam). **Science of the Total Environment**, v. 653, p. 370 – 383, 2019. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.10.319](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.319)

OKADA, K.; INOUE, Y.; SATOH, K.; KATOH, S. Effects of Light on Degradation of Chlorophyll and Proteins during Senescence of Detached Rice Leaves. **Plant and Cell Physiology**, v. 33, p. 1183–1191, 1992. DOI: [10.1093/oxfordjournals.pcp.a078372](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078372)

PEGRAM, R. A.; HUMPAGE, A. R.; NEILAN, B. A.; RUNNEGAR, M. T.; NICHOLS, T.; THACKER, R. W.; PFLUGMACHER, S.; ETHERIDGE, S. M.; LOVE, A. H. **Cyanotoxins Workgroup Report**. Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs, 317–381, 2008. DOI: [10.1007/978-0-387-75865-7_15](https://doi.org/10.1007/978-0-387-75865-7_15)

PERH. Plano Estadual de Recursos Hídricos. **Resumo estendido**. João Pessoa: Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba, AESA. – Consórcio TC/BR – Concremat, 2006. 112p.

SANTOS, M. L. S.; MUNIZ, K.; FEITOSA, F. A. N.; NETO, B. B. Estudo das diferentes formas de fósforo nas águas da plataforma continental do Amazonas. **Química Nova**, Vol. 30, No. 3, 569-573, 2007. DOI: [10.1590/S0100-40422007000300012](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300012)

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.

TOLEDO JUNIOR, A. P.; TALARICO, M.; CHINEZ, S. J.; AGUDO, E. G. **Aplicação de modelos simplificados para avaliação do processo da eutrofização em lagos e reservatórios tropicais**. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 12. Anais. Camboriú: 1983.

TOLEDO JÚNIOR, A.P. **Informe preliminar sobre os estudos para obtenção de um índice para avaliação simplificada do estado trófico de reservatórios de regiões quentes tropicais. Relatório técnico**. CETESB, São Paulo, 1990.

TRIFIRÒ, G.; BARBARO, E.; GAMBARO, A.; VITA, V.; CLAUSI, M. T.; FRANCHINO, C.; PALUMBO, M. P.; FLORIDI, F.; DE PACE, R. Quantitative determination by screening ELISA and HPLC-MS/MS of microcystins LR, LY, LA, YR, RR, LF, LW, and nodularin in the water of Occhito lake and crops. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 408, n. 27, p. 7699-7708, 2016. DOI: [10.1007/s00216-016-9867-3](https://doi.org/10.1007/s00216-016-9867-3)

VASCONCELOS, J. F.; BARBOSA, J. E. L.; DINIZ, C. R.; CEBALLOS, B. S. O. Cianobactérias em reservatórios do Estado da Paraíba: ocorrência, toxicidade e fatores reguladores. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 39, n. 2, p. 1-20, 2011.

VIANA, L. G.; CRUZ, P. S.; OLIVEIRA, D. A.; SANTOS, R. D.; BARBOSA, J. E. L. Comparação de índices de avaliação de estado trófico em reservatório utilizado para abastecimento público durante período de seca, semiárido brasileiro. In: Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 4. **Anais**. Cruz das Almas: 2016.

WHO. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in Drinking-water. **Guidelines for drinking-water quality**. 4 ed. Geneva: World Health Organization, 2001.

ZHANG, Y.; WHALEN, J.; SAUVÉ, S. Phytotoxicity and bioconcentration of microcystins in agricultural plants: Meta-analysis and risk assessment. **Environmental Pollution**, v. 272, 2021. DOI: [10.1016/j.envpol.2020.115966](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115966)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me dar forças para continuar.

Aos meus pais, por nunca deixarem de me dar apoio e sempre estarem comigo nos momentos mais difíceis, seja do curso ou da vida, e por me fazerem insistir quando necessário.

À Nathália Dutra, que desde o começo do curso permanece ao meu lado aguentando meus estresses e abusos, além de me permitir aprender muitas coisas.

À Ayrton e Hebert, a dupla inseparável que me salvou tantas vezes, seja ajudando na matéria ou nos divertindo juntos.

À Natália Ferreira, por todas as horas que passamos juntas estudando e ajudando uma à outra (e preenchendo planilhas de projetos).

À Dani, Júlia, Alê, Carol, Daniel, Ivila, Lucas, Gabi, Júnior, Bel, Bianca, Rebeca, Amanda e todos que se fizeram presente durante essa caminhada e compartilhamos momentos e risadas, por todo conhecimento compartilhado e apoio emocional que talvez vocês nem saibam que me deram.

À Emily e Micaelle, que me acompanham desde que me entendo por gente e sempre foram um ponto de equilíbrio no meio do caos.

À Andreza, Filipe, Luciângela e Rafael, que permanecem desde o ensino médio e me permitem crescer junto a eles.

Aos meus orientadores, Whelton e Thiago, uns anjos na minha vida durante não só o processo do TCC, mas também durante minha caminhada como pesquisadora.

E, por falar em pesquisa, à Amanda Torquato por todas as bactérias que fizemos crescer juntas no laboratório, me permitiu aprender muito.

Ao LARTECA e toda sua equipe, que me deram suporte na realização dos experimentos em laboratório.

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo auxílio financeiro através da bolsa de Iniciação Científica.