

Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos

Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers

Ana Rosa Linde Arias ¹
Daniel Forsin Buss ²
Carla de Albuquerque ¹
Alan Ferreira Inácio ¹
Marina Moreira Freire ¹
Mariana Egler ²
Riccardo Mugnai ²
Darcilio Fernandes Baptista ²

Abstract *The objective of this article is to present an analysis of the main bioindicators that are currently used to assess the environmental impact of pollution in water resources. The simple quantification of chemicals in the environment is not enough to reveal the real effects of contamination on ecosystems, making necessary the assessment of the biological effects that pollution causes at different hierarchical levels. The bioindicators used in this article on two case studies comprehend different hierarchical levels: in case study 1, three organization levels were utilized: individual, cellular and molecular, to detect the early effects of exposure to environmental pollutants in three hydrographic basins. By observing the inhibition of AChE activity in fish it was possible to assess the effects of organophosphate and carbamate pesticides, showing the effects of agricultural activities. In case study 2, we present an assessment at the macroinvertebrate community level using the Extended Biotic Index. We discuss the advantages and limitations in the production of reliable data that could be used in the implementation of adequate actions to protect and/or recover ecosystems.*
Key words *Impact assessment, Environmental monitoring, Agrochemicals*

Resumo *Este artigo tem como objetivo apresentar uma análise dos principais bioindicadores utilizados para avaliação do impacto ambiental em recursos hídricos, já que a simples mensuração dos níveis de substâncias químicas presentes no ambiente não é suficiente para revelar os reais efeitos adversos da contaminação, tornando-se necessário a avaliação dos efeitos biológicos da contaminação em diversos níveis hierárquicos. Os bioindicadores foram tratados neste artigo através de dois estudos de casos que abrangem diferentes níveis; no caso 1, foram utilizados três níveis de organização: individual, celular e molecular, para detecção precoce dos efeitos reais da exposição de peixes aos poluentes ambientais em três bacias hidrográficas. A inibição da atividade da AchE em peixes possibilitou a avaliação dos efeitos dos agrotóxicos organofosforados e carbamatos, evidenciando o efeito dos cultivos agrícolas; no caso 2, apresentamos uma avaliação no nível da comunidade de macroinvertebrados, empregando o Índice Biotico Estendido. Discutimos, as vantagens e limitações na produção de dados confiáveis que possibilitem a implementação de medidas adequadas para o diagnóstico em diferentes escalas, visando a proteção e/ou recuperação dos ecossistemas.*
Palavras-chaves *Avaliação de impacto, Monitoramento ambiental, Agrotóxico*

¹Laboratório de Toxicologia, Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Fundação Oswaldo Cruz. Rua Leopoldo Bulhões 1480, Manguinhos. 21041-210 Rio de Janeiro RJ. arlinda@ensp.fiocruz.br

²Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Departamento de Biologia, IOC, Fiocruz.

Introdução

Nos últimos anos, o nível de compostos xenobióticos nos ecossistemas aquáticos vem aumentando de forma alarmante como resultado da atividade antropogênica sobre o meio ambiente. Tal fato tem contribuindo para a redução da qualidade ambiental, bem como para o comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam esses ecossistemas¹.

A biota aquática está constantemente exposta a um grande número de substâncias tóxicas lançadas no ambiente, oriundas de diversas fontes de emissão. A descarga de lixos tóxicos provenientes de efluentes industriais, os processos de drenagem agrícola, os derrames acidentais de lixos químicos e os esgotos domésticos lançados em rios e mares contribuem para a contaminação dos ecossistemas aquáticos com uma ampla gama de agentes tóxicos como metais pesados, agrotóxicos, compostos orgânicos, entre outros².

Os principais contaminantes de origem agrícola são os resíduos de fertilizantes e os agrotóxicos. Esses produtos, quando aplicados sobre os campos de cultivo, podem atingir os corpos d'água diretamente, através da água da chuva e da irrigação, ou indiretamente através da percolação no solo, chegando aos lençóis freáticos. Outras formas de contaminação indireta podem ocorrer através da volatilização dos compostos aplicados nos cultivos e pela formação de poeira do solo contaminado³ e/ou da pulverização de pesticidas, que podem ser transportados por correntes aéreas e se depositarem no solo e na água, distantes das áreas onde foram originalmente usados. Tendo em vista o potencial dispersivo desses produtos, para a melhoria da qualidade da água dos rios, se faz necessária uma abordagem que considere a bacia hidrográfica como unidade de estudo.

Os métodos analíticos tradicionais capazes de avaliar pesticidas organofosforados e carbamatos em água são realizados por cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida de alta performance (HPLC) ou espectrofotometria de massa (MS)⁴. Devido aos problemas associados ao uso indiscriminado dos agrotóxicos, é fundamental que o monitoramento ambiental seja realizado constantemente. No entanto, esses métodos de análise exigem mão-de-obra especializada e apresentam alto custo operacional, o que torna inviável sua aplicação em larga escala⁵. Além disso, a poluição ambiental associada ao uso de pesticidas é especialmente difícil de ser avaliada, pois os eventos de contaminação obedecem a uma

dinâmica espacialmente difusa e temporalmente variável. O resultado é um quadro de contaminação baixa e contínua, que nem sempre é captado pelos métodos de *screening* químicos, pois esses registram apenas o instante exato em que foram coletadas as amostras e não acompanham a variação temporal e espacial da contaminação.

Desde a década de 1970, pesquisadores e gestores de recursos hídricos da Europa Ocidental e América do Norte⁶ argumentam que as metodologias tradicionais de classificação de águas, baseadas em características físicas, químicas e bacteriológicas, não são suficientes para atender aos usos múltiplos da água, sendo particularmente deficientes na avaliação da qualidade estética, de recreação e ecológica do ambiente. Outra desvantagem é que, se as medições químicas forem feitas longe da fonte poluente, não serão capazes de detectar perturbações sutis sobre o ecossistema⁷. Para a realização de avaliações eficientes, é de fundamental importância a aplicação de análises integradas da qualidade da água, unindo as repostas das metodologias tradicionais de avaliação aos aspectos biológicos do sistema^{7,8,9}. Quando lançadas no ambiente aquático, as substâncias oriundas das atividades agrícolas são capazes de interagir com o organismo vivo, causando múltiplas alterações que podem gerar graves desequilíbrios ecológicos, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição. Tradicionalmente, as técnicas para a avaliação destes impactos utilizando bioindicadores vêm sendo divididas em duas abordagens principais: aquelas associadas aos níveis superiores de organização, tais como populações, comunidades e ecossistemas ou no nível individual – que trata de alterações comportamentais, malformações, mudanças nas taxas de crescimento, reprodução, alimentação, alterações bioquímica e fisiológica – que inclui alterações na integridade da membrana celular, no transporte de íons, no metabolismo celular e em atividades enzimáticas. Os componentes dessa última abordagem são também chamados de bioindicadores, e são definidos como componentes biológicos, células, processos bioquímicos, estruturas e funções biológicas, alteradas quando em contato com compostos xenobióticos⁷.

Indicadores em diferentes níveis de organização biológica fornecem informações complementares, necessárias para a análise de risco ecológico. Os impactos da contaminação por agrotóxicos em peixes e nos macroinvertebrados variam de acordo com os tipos de substâncias empregadas, com a sua toxicidade e com a estabilidade nos ambientes aquáticos. Os efeitos sobre a fauna incluem

desde alterações fisiológicas em alguns organismos, até a morte maciça de populações, afetando toda a estrutura da comunidade¹⁰.

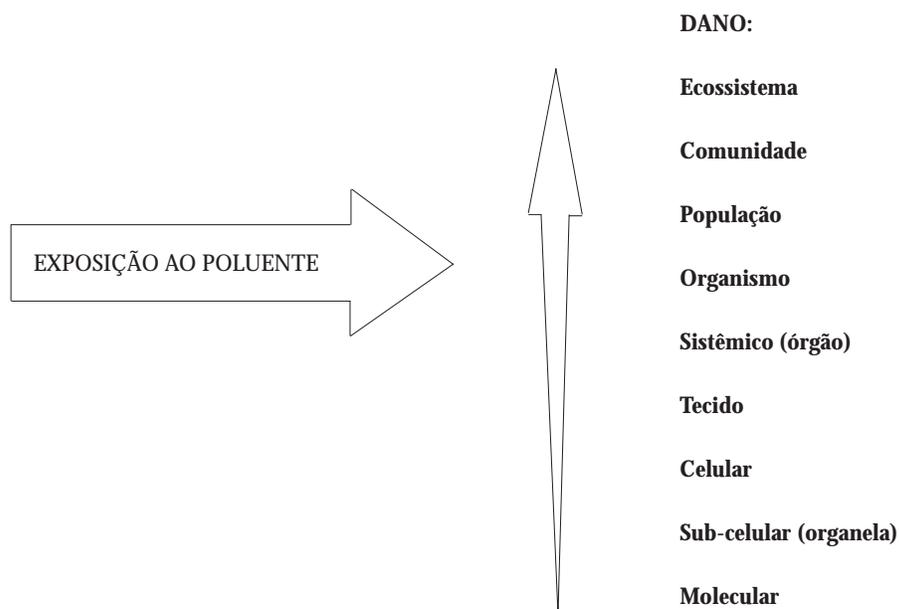
Em geral, quanto maior a concentração de pesticidas e mais longo o tempo de exposição, maiores as chances dos impactos negativos atingirem níveis superiores de organização biológica, como comunidades e ecossistemas. Se um estresse dura tempo suficiente para levar à morte uma população de organismos, afetando as taxas de crescimento e de reprodução e impedindo o recrutamento de novas espécies, ela é então capaz de alterar a estrutura da comunidade⁶ (Figura 1). Os efeitos dos contaminantes em níveis de organização biológica mais baixos (p. ex., respostas moleculares e bioquímicas) ocorrem mais rapidamente, além do que a especificidade das respostas e nossa compreensão sobre os efeitos dos contaminantes são geralmente maiores nos níveis mais baixos de organização. Geralmente, os efeitos em tais níveis podem ser diretamente ligados à exposição aos agentes contaminantes. Por exemplo, a presença de resíduos químicos e metabólitos é um in-

dicador direto da disponibilidade de contaminantes para os organismos.

Neste trabalho, são apresentadas as aplicações de ferramentas de biomonitoramento aos efeitos do uso de pesticidas em dois níveis de organização biológica: organismo e comunidade. Neste contexto, o objetivo deste estudo é investigar as possibilidades de definir e utilizar uma “abordagem integrada” para avaliar o efeito tóxico de substâncias poluentes em ecossistemas aquáticos, através do desenvolvimento e aplicação de uma bateria de bioindicadores com quatro níveis de complexidade (comunidade, individual, celular e molecular), e assim determinar o grau de impacto causado no ecossistema de uma determinada área, utilizando peixes e macroinvertebrados como indicadores de efeitos biológicos. Os conhecimentos delineados neste projeto serão essenciais para desenhar estratégias eficazes que permitam reparar ou recuperar a biodiversidade dos ecossistemas. A incorporação dos bioindicadores nos programas de vigilância e controle da contaminação ambiental do meio aquático proporcionará um conhecimento mais preciso da qualidade ambiental.

Figura 1

Representação esquemática da ordem seqüencial de respostas a poluentes dentro de um sistema biológico.



Estudo de caso 1: utilizando *bioindicadores*

No nível de organização biológica do organismo, as ferramentas de análise são chamadas de bioindicadores¹¹. Bioindicadores são definidos como qualquer resposta a um contaminante ambiental ao nível individual, medidos no organismo ou matriz biológica, indicando um desvio do status normal que não pode ser detectado no organismo intacto. Ou seja, são medidas de fluidos corporais, células, tecidos ou medidas realizadas sobre o organismo completo, que indicam, em termos bioquímicos, celulares, fisiológicos, compartimentais ou energéticos, a presença de substâncias contaminantes ou a magnitude da resposta do organismo alvo¹².

Existem bioindicadores moleculares, celulares e ao nível do animal completo. As duas características mais importantes dos bioindicadores são: a) permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; b) possibilitam a mensuração de efeitos sub-letais. Esta última característica permite pôr em prática ações remediadoras ou, melhor ainda, ações preventivas. Daí a importância e o interesse atual de incorporação da análise de bioindicadores em programas de avaliação da contaminação ambiental.

Os aspectos comuns entre organismos diferentes se acentuam principalmente ao nível molecular e, por isso, muitos bioindicadores moleculares possuem a vantagem de poderem ser aplicados a uma ampla variedade de organismos vivos¹³. Este tipo de bioindicador é de grande importância como sinalizador inicial da exposição aos contaminantes e de seus efeitos. Como exemplo deste tipo de bioindicador podemos citar a enzima acetilcolinesterase (AChE) que pode ser utilizada na avaliação da contaminação ambiental por agentes anticolinesterásicos, pois estes compostos se ligam à enzima gerando propagação contínua do impulso nervoso e inibem sua atividade. Vários são os agentes anticolinesterásicos conhecidos, sendo os mais importantes os organofosforados e carbamatos¹⁴, pesticidas largamente utilizados em atividades agrícolas e campanhas de saúde pública como “mata-mosquitos”.

Ao nível celular, pode ser utilizado o teste do micronúcleo como bioindicador de genotoxicidade, uma vez que associações positivas entre exposição a misturas de pesticidas e a presença de micronúcleos tem sido observada em diversos estudos realizados com estes compostos¹⁵. Os micronúcleos são massas de cromatina citoplas-

mática com o aspecto de pequenos núcleos, constituídos principalmente por fragmentos cromossômicos ou por cromossomos retardados durante a migração anafásica, que se detectam em células interfásicas mediante técnicas simples de coloração, aparecendo no citoplasma como pequenos fragmentos basófilos. Os micronúcleos podem aparecer por várias causas, entre elas por falha mitótica, tanto de fragmentos acêntricos de cromossomos, gerados por ruptura (clastogenicidade), quanto de cromossomos completos (aneuploidia), como consequência, geralmente, de enfermidades genéticas.

Ao nível individual, os parâmetros mais comuns a serem levados em conta quando se estudam populações de peixes são o tamanho e o peso dos peixes, já que podem fornecer um indicativo da condição geral dos mesmos. O fator de condição é um índice que relaciona peso e tamanho de peixes sendo, desta forma, útil para estimar o estado geral de saúde do peixe.

A análise cuidadosa de todos os parâmetros anteriormente citados possibilita avaliar se os animais estão ou não em suas condições fisiológicas normais em um específico ecossistema. Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da poluição aquática causada por agrotóxicos em peixes através do uso de bioindicadores em três níveis de organização.

Estudo de caso 1: material e métodos

Para avaliar o grau de impacto, foi utilizada uma bateria de bioindicadores baseados em três níveis distintos de organização: individual, celular e molecular. Foram determinados os seguintes parâmetros:

- Ao nível individual: foi determinado o fator de condição como indicador da condição geral da saúde dos indivíduos de acordo com a fórmula: $\text{peso (g)} / (\text{comprimento padrão (cm)})^3 \times 100$.

- Ao nível celular: foi realizada a contagem de micronúcleos por cada mil eritrócitos. Foi utilizada a coloração de May Grunwald Giemsa para posterior visualização em microscópio óptico;

- Ao nível molecular: a atividade da AChE, um indicador do efeito da contaminação por pesticidas organofosforados e carbamatos, foi determinada segundo a metodologia descrita por Silva¹⁶, modificada por Albuquerque¹⁷.

O local escolhido para implementar o presente estudo foi a bacia do rio Paraíba do Sul devido a sua importância em um contexto ecológico, econômico e de Saúde Pública. Esta bate-

ria de biondicadores foi estudada em acarás (*Geophagus brasiliensis*) e em tilápias (*Oreochromis niloticus*). Essas espécies foram utilizadas como bioindicadores, pois apresentam uma ampla distribuição geográfica e características ecológicas e fisiológicas similares, conhecidas e favoráveis neste tipo de estudo. A tilápia é uma espécie exótica invasora enquanto o acará é autóctona destes ecossistemas, o que torna interessante comparar estas espécies na avaliação do impacto da poluição.

Entre as diferentes regiões desta bacia, foi escolhido o município de Barra Mansa (22° 32' S, 44° 10' W), que apresenta características que contribuem para a contaminação das águas fluviais por efluentes industriais. A região de Paty do Alferes (22° 25' S, 43° 25' W), com características agrícolas, foi estudada com o objetivo de avaliar o efeito da contaminação ambiental por pesticidas sobre a biota do ecossistema. O rio Guandu (22° 48' S, 43° 37' W) foi escolhido como controle e devido a sua importância por ser a fonte de abastecimento de água do município do Rio de Janeiro.

Estudo de caso 1: resultados

Espécimes de acará e tilápia foram coletadas nos locais selecionados objetivando efetuar-se uma análise integral utilizando a bateria de bioindicadores proposta. Mediante esta abordagem, foi possível observar a diferença nas respostas dos animais à poluição aquática em diferentes níveis de organização. Seguirão abaixo as descrições dos resultados específicos de cada bioindicador utilizado.

Nível individual

O fator de condição (Tabela I) foi utilizado buscando evidenciar modificações macroscópicas. Tanto em acarás como em tilápias foram verificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre Guandu e Barra Mansa. Os acarás e as tilápias de Barra Mansa possuem o menor valor para fator de condição, demonstrando desta forma a condição geral destes peixes na área estudada. (Tabela 1 e 2).

Nível celular

Os micronúcleos e os núcleos bilobados foram analisados buscando os danos genotóxicos ocasionados por poluentes. Entre todas as locali-

Tabela 1

Média do fator de condição em acarás, *Geophagus brasiliensis* procedentes das regiões de amostragem. (N, número de indivíduos).

	N	Fator de condição	Desvio-padrão
Guandu	29	3,60	0,76
Barra Mansa	31	2,77	0,94
Paty do Alferes	14	3,09	1,04

Tabela 2

Média do fator de condição em tilápias, *Oreochromis niloticus* procedentes das regiões de amostragem. (N, número de indivíduos)

	N	Fator de condição	Desvio-padrão
Guandu	65	2,73	1,11
Barra Mansa	17	2,43	0,76
Paty do Alferes	6	2,97	0,23

dades, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na quantidade encontrada.

Nível molecular

A atividade da enzima AChE no músculo dos acarás e tilápias foi avaliada buscando analisar sua inibição pelos agrotóxicos organofosforados e carbamatos. Paty do Alferes e Barra Mansa apresentaram as menores atividades ($p < 0,05$) tanto para acarás como para tilápias (Figuras 2 e 3).

Estudo de caso 1: discussão

Acarás e tilápias demonstraram ser espécies adequadas para o estudo do efeito da poluição nos ecossistemas aquáticos dulciaquícolas avaliados.

Ao aplicar a bateria de bioindicadores, o índice que foi utilizado para avaliar o nível mais elevado (individual), ou seja, o fator de condição, já indicou uma diferença entre o estado de saúde dos peixes nos diferentes pontos. Os peixes com o estado mais saudável estão na região supostamente mais limpa, que utilizamos como controle. Porém, o fator de condição nos indica apenas o efeito geral da condição dos peixes, não

Figura 2

Gráfico representando média da atividade da enzima AChE de *Geophagus brasiliensis*, acará, procedente das áreas de amostragem.

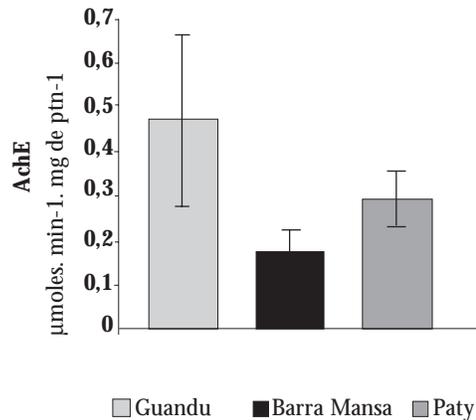
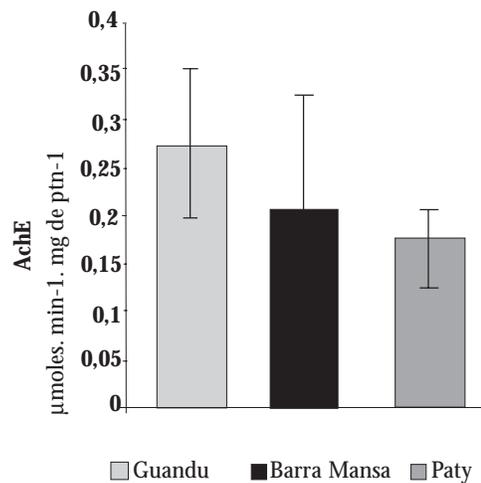
**Figura 3**

Gráfico representando média atividade da enzima AChE de *Oreochromis niloticus*, tilápias, procedentes das áreas de amostragem.



apontando como ou em que nível os peixes estariam sendo afetados pela poluição.

Descendo um nível de organização (celular), observando o bioindicador utilizado, ou seja, a presença de micronúcleos e/ou núcleos bilobados, não foram encontrados resultados que forneçam informações na avaliação dos locais estu-

dados. Isto é, não foram encontrados dados que representem danos genotóxicos nos espécimens analisados, nem foram encontradas diferenças entre os pontos de amostragem.

Ao utilizarmos os indicadores mais específicos (moleculares), pôde-se ver, através da inibição da atividade da AChE, que possibilita a avaliação do efeito dos agrotóxicos organofosforados e carbamatos na biota, que Barra Mansa e Paty do Alferes são as regiões onde os peixes estão sendo mais afetados por estes poluentes, evidenciando principalmente o efeito dos cultivos agrícolas em Paty do Alferes e mostrando que Barra Mansa, apesar de ser uma região fundamentalmente industrial, também sofre com efeitos de agrotóxicos.

Estudo de caso 2: utilizando comunidades como bioindicadores

Os indicadores biológicos são muito úteis devido a sua especificidade a certos tipos de impacto, já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a um tipo de poluente, mas tolerantes a outros¹⁸. Assim, índices podem ser criados especificamente para detectar lançamento de pesticidas, considerando as respostas de diversas espécies da comunidade de macroinvertebrados. Os índices que têm as comunidades como unidade de estudo são eficientes para o monitoramento rápido de grandes áreas, apresentando relativo baixo custo¹⁹. Sua metodologia baseia-se em pesquisas de campo, analisando as alterações estruturais e funcionais das comunidades nos sistemas ecológicos.

Uma vez definido o objetivo do monitoramento, deve-se pensar em selecionar qual o indicador apropriado para atingi-lo. Cairns *et al.*²⁰, argumenta que “*basically, everything is an indicator of something but nothing is an indicator of everything*”. Assim, é fundamental considerarmos uma série de questões antes de definirmos a estratégia a ser utilizada. Podemos começar pela escolha do grupo biológico a ser adotado. Dentre os vários grupos biológicos potencialmente úteis, temos: macrófitas, algas, peixes e macroinvertebrados, sendo estes dois últimos os mais testados em avaliações de campo⁷.

A primeira abordagem visando a determinação de indicadores biológicos da qualidade das águas, com bases científicas, foi feita com bactérias, fungos e protozoários na Alemanha por Kolkwitz & Marsson²¹. Esse método ficou conhecido como índice de saprobidade e enfatizava que

a abundância de organismos nas áreas poluídas ocorria por características fisiológicas e comportamentais que os permitia tolerar estas condições. Assim, localidades onde eram encontrados números elevados desses organismos eram classificadas como poluídas.

No final da década de 1960, iniciaram-se esforços conjuntos na Europa para testar a aplicabilidade do índice de saprobidade. Atualmente, muitos países europeus ainda utilizam metodologias baseadas na mesma filosofia, sendo chamadas de índices bióticos. Esses índices consistem em atribuir uma pontuação para cada grupo taxonômico, baseada em sua tolerância ao impacto e o somatório desses valores determina a qualidade da água do local.

Diversos índices bióticos surgiram e foram testados^{6,8} desde então. O objetivo deste estudo é testar a aplicação de um dos índices bióticos que vem sendo utilizados na Europa, o Índice Biótico Estendido (IBE)²², para avaliar os efeitos da contaminação por agrotóxicos sobre a fauna de macroinvertebrados bentônicos.

Estudo de caso 2: material e métodos

Algumas considerações acerca da dinâmica de produção agrícola nortearam a elaboração do estudo. Na região estudada, tal qual outras bacias agriculturáveis do Estado do Rio de Janeiro, os problemas advindos da agricultura apresentam dois componentes significativos no que diz respeito ao estado de preservação dos rios: a poluição da água pelo uso de pesticidas e fertilizantes e a transformação da paisagem pelo desmatamento e aumento dos processos de erosão e assoreamento dos rios.

Sabendo que estes dois fatores agem sinergicamente sobre a biota aquática, o desenho experimental foi desenvolvido com o objetivo de diferenciar a resposta da comunidade presente em áreas impactadas apenas pelo desmatamento, daquela presente em áreas impactadas pelo uso de agrotóxicos. Desta forma, duas pequenas bacias hidrográficas localizadas na mesma província fisiográfica foram selecionadas para fazer parte do estudo, a microbacia do rio São Lourenço (22° 20' S, 42° 40' W), representando uma área de agricultura intensiva, e a microbacia do rio Varginha (42° 53' S, 22° 25' W), representando uma área ocupada por pastagens e casas de veraneio.

Seis trechos de rios foram selecionados para amostragens da comunidade de invertebrados

aquáticos. Os pontos L1, L2, L3 e L4, localizados na bacia do rio São Lourenço, e os pontos V1 e V2, na bacia do rio Varginha. Os pontos L1 e V1 foram escolhidos para representar áreas de referência em cada uma das bacias. Os pontos L2 e V2 referiam-se a áreas sem cobertura vegetal, ocupada por casas e pasto. Os pontos L3 e L4 localizavam-se ambos no rio São Lourenço, e representavam áreas de agricultura intensiva, com plantações estendendo-se até as margens dos pontos de coleta. Estes locais foram escolhidos com base nos trabalhos de Moreira *et al.*²³ e Alves⁵, que avaliaram a presença de pesticidas anticolinesterásicos em diversos trechos do rio São Lourenço, tendo encontrado maiores concentrações de equivalentes de metil-paration nos dois pontos.

Amostragem dos macroinvertebrados aquáticos

Foi feita uma amostragem quantitativa dos macroinvertebrados aquáticos com o auxílio de um amostrador do tipo Surber com malha de 125µm. Três pseudo-réplicas de quatro diferentes tipos de substratos (sedimento, pedras, folhas retidas em áreas de coreteza e folhas depositadas no fundo) foram coletadas formando um conjunto de doze amostras individuais para ser então agrupadas e compor uma amostra para cada rio estudado.

As amostragens foram feitas em três estações do ano. No inverno (agosto, 2000); no verão (fevereiro, 2001), e no outono (maio 2001). A metodologia proposta envolveu o Índice Biótico Estendido – IBE (adaptado para a região da Serrana do Estado do Rio de Janeiro) entre localidades de referência e localidades impactadas por agricultura e desmatamento.

Índice Biótico Estendido adaptado IBE–IOC

O IBE avalia a qualidade biológica de um corpo de água baseando-se na sensibilidade de alguns grupos biológicos em relação a diversas fontes poluentes e na estimativa da riqueza total da comunidade de macroinvertebrados.

O Índice Biótico Estendido foi adaptado para a região Serrana do Estado de Rio de Janeiro, utilizando um banco de dados relativo a amostragens no período entre 1999 e 2004, em três bacias hidrográficas (Guapimirim, Grande e Macaé), com coletas realizadas em 34 pontos amostrais, quase todos coletados em três diferentes estações do ano^{24, 25}.

Tabela 3

Tabela de cálculo do Índice Biótico Estendido adaptado para a Serra dos Órgãos no Estado do Rio de Janeiro (IBE-IOC). US – Unidades Sistemáticas.

		1-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46...
PLECOPTERA, à exceção de	>1 US	-	-	8	9	10	11	12	13	14
<i>Paragripopteyx</i> e <i>Anacroneuria</i>	1 US	-	-	7	8	9	10	11	12	13
<i>Paragripopteyx</i> e	>1 US	-	-	7	8	9	10	11	12	
EPHEMEROPTERA, à exceção de										
Baetidae, Leptohyphidae, <i>Hylister</i> e	1 US	-	-	6	7	8	9	10	11	
<i>Farrodes</i>										
<i>Anacroneuria</i> e TRICHOPTERA, à	> 1 US	-	5	6	7	8	9	10	11	
exceção de Calamoceratidae,	1 US	-	4	5	6	7	8	9	10	
Glossosomatidae, Helicopsychidae,										
Hydroptilidae, Hydropsychidae,										
Leptoceridae										
ISOPODA, AMPHIPODA, <i>Hylister</i>		-	3	4	5	6	7	8	9	
e <i>Farrodes</i>										
OLIGOCHAETA, Chironomidae,		1	1	3	4	5				
Baetidae, Calamoceratidae,										
Glossosomatidae, Helicopsychidae,										
Hydroptilidae, Hydropsychidae e										
Leptoceridae										
OUTRO										

Tabela 4

Tabela de conversão dos valores IBE-IOC para definição das classes de qualidade da água.

Valor IBESORJ	Classe de qualidade	Avaliação	Cor de referência
>10	I	Ambiente não poluído ou não alterado em maneira sensível	Azul
8-9	II	Ambiente no qual são aparecem alguns efeitos da poluição	Verde
6-7	III	Ambiente poluído	Amarelo
4-5	IV	Ambiente muito poluído	Laranja
<3	V	Ambiente fortemente poluído	Vermelho

Estudo de caso 2: resultados

A aplicação do Índice IBE separou as localidades em três classes de qualidade ambiental (Tabela 5).

As áreas L1 e L2 ficaram no limiar entre a classe de referência e uma condição de impacto inicial. As áreas L3 e L4 se enquadraram em classes pobres e eram representativas de áreas de agricultura intensiva, com plantações estendendo-se até as margens dos pontos de coleta e não apresentavam qualquer contaminação por esgotos

domésticos provenientes das casas dos lavradores, pois eram localizadas distantes das áreas de cultivos. Além disso, nestes locais Moreira *et al.*²³ e Alves⁵ encontraram as maiores concentrações de equivalentes de metil-paration.

As áreas V1 e V2 foram as que apresentaram melhores classes de qualidade da água através da análise biológica.

A fauna presente nas áreas de cultivo foi bastante afetada. Houve uma redução significativa na ocorrência de espécies e na densidade de in-

Tabela 5

Classes de qualidade da água definidas pelo Índice Biótico Estendido - IBE para as localidades L1, L2, L3, L4 na bacia do Rio São Lourenço e localidades V1 e V2 na bacia do rio Varginha.

LOCALIDADE	OUTONO	INVERNO	VERÃO
L1	I 11/10	I 11	I 12/11
L2	I 10	I 11/12	I 13/12
L3	IV 4/3	V 1	V 3
L4	V 3	V 1	V 3
V1	I 11	I 10	I 10
V2	I 10	I 11	I 11

divíduos. Alguns táxons desapareceram como Plecoptera e Leptophlebiidae, enquanto outras ordens de insetos aquáticos foram muito reduzidas como Trichoptera, Coleoptera e Odonata. Nas áreas impactadas L3 e L4, cinco táxons responderam por 92 % dos indivíduos presentes, onde os grupos dominantes foram Chironomidae, Simuliidae, *Nectopsyche* (Trichoptera), *Americabaetis* (Ephemeroptera) e Oligochaeta. Os gêneros *Americabaetis* e *Nectopsyche* ocorreram em alta densidade nos extensos bancos de algas que se desenvolveram nos locais, indicando a influência da entrada de fertilizantes.

Com relação aos locais L1 e L2, à montante da área cultivada, a fauna foi constituída por grupos sensíveis como Plecoptera, Trichoptera e Ephemeroptera. Entretanto, estes ocorreram em menor densidade relativa que nas áreas V1 e V2. Foram registrados também os maiores valores de abundância de indivíduos da ordem de Diptera (25% em L1 e 30% em L2). A diversidade de espécies, quando aplicado o índice de Shannon Weaver, também foi relativamente baixa ($H' = 1,69$ em L1, e $H' = 1,55$), confirmando os resultados do IBE.

Os locais V1 e V2, na bacia do rio Varginha, apresentaram os maiores valores quando analisados pelo IBE, sendo ambos os locais classificados como de alta integridade ambiental. Em relação à biota, estes dois pontos apresentaram a maior abundância de indivíduos da ordem Plecoptera (52% em V1 e 30% em V2), da família Leptophlebiidae (55% e 21%, respectivamente). Especificamente no local V1, foram registrados os maiores números de indivíduos da ordem Coleoptera (60%) e da ordem Trichoptera (36%), o que influenciou positivamente os resultados dos índices. A diversidade de espécies nos locais V1 e V2 foi mais alta quando comparada com L1 e L2,

sendo que o ponto V1 apresentou o maior valor entre todos os locais avaliados ($H' = 2,97$ em V1 e $H' = 1,93$ em V2).

Estudo de caso 2: discussão

Os resultados revelam que o índice IBE foi sensível para diferenciar as localidades quanto à qualidade da água e sua influência sobre a biota. As áreas de agricultura foram claramente separadas dos outros locais de coleta, ao passo que o índice também foi capaz de discriminar entre condições preservadas e áreas com alguma perturbação.

A pontuação aferida aos grupos taxonômicos selecionados para comporem o índice IBE se revelaram sensíveis para identificar sinais discretos de perturbação na comunidade, que não foram percebidas pela avaliação da fisiográfica da paisagem e uso do solo. Embora os locais L1 e V1 e L2 e V2 parecessem ser semelhantes enquanto áreas de referência e áreas de pasto, a aplicação do índice indicou que, nos locais L1 e L2, as populações estavam mais comprometidas que na bacia do rio Varginha.

A explicação para esse fato parece estar na influência da ocupação agrícola intensiva na bacia do rio São Lourenço. O uso de agrotóxicos é um risco para os invertebrados que vivem nos ambientes dulciaquícolas adjacentes as áreas de cultivo, uma vez que eles tem sistemas biológicos similares aos dos organismos alvos, podendo ser diretamente afetados pela ação inespecífica destes compostos²⁶. O *pool* de espécies na bacia do rio São Lourenço parece estar sofrendo o impacto da aplicação de pesticidas na área da bacia, refletido na diversidade e dinâmica das populações nas áreas L1 e L2. A redução na densidade de populações pode ser tanto um efeito direto da

contaminação da água, quanto um resultado indireto relacionado às mudanças nas interações entre espécies, à redução das taxas de emergência e reprodução, e à menor capacidade de dispersão e colonização na bacia.

Os resultados encontrados na bacia do rio Varginha revelaram ainda que o índice biótico aplicado foi adequado para avaliação da qualidade da água em escala de bacia. Os dois locais tinham condições ambientais bastante distintas, com o local V2, apresentando um maior comprometimento dos habitats aquáticos pelo grave assoreamento do leito e perda da vegetação marginal. Entretanto, sem o comprometimento da qualidade da água, o *pool* de espécies presentes foi mais diverso e equitativo, aumentando a performance biológica dos índices.

O índice IBE demonstrou sua aplicabilidade na avaliação da qualidade da água em áreas afetadas pela agricultura, principalmente quanto sua sensibilidade em distinguir áreas intermediárias daquelas mais preservadas. A aplicação do IBE em outras áreas e em situações distintas de uso do solo e produção agrícola é um próximo passo para a proposição e difusão da metodologia biológica avaliada no diagnóstico ambiental de bacias agrícolas.

Utilização de bioindicadores em rios e córregos

Atualmente, o objetivo dos estudos relacionados à avaliação dos impactos em áreas agriculturáveis é o desenvolvimento e aperfeiçoamento de metodologias e ferramentas que permitam determinar de forma realista e exequível a condição ambiental. Além disso, deve considerar a importância do tratamento e transmissão da informação a diferentes públicos, muitas vezes leigos. Portanto, um dos desafios é tornar os dados científicos mais facilmente utilizáveis por técnicos, gestores, cientistas, políticos, grupos de interesse (associações não governamentais, cooperativas) e pelo público em geral.

O emprego de uma bateria de bioindicadores abrangendo distintos níveis de organização biológica possibilita o conhecimento sobre a que nível o poluente interage com o organismo, e a que nível este é mais suscetível à ação daquele. Os resultados de trabalhos como este são essenciais para desenhar estratégias eficazes que per-

mitam recuperar a biodiversidade dos ecossistemas aquáticos. A incorporação de Programas de Vigilância e Controle da contaminação ambiental do meio aquático através de uma bateria de bioindicadores proporcionará um conhecimento mais preciso da qualidade ambiental do mesmo (uma vez que permitirá estabelecer o efeito tóxico real que a contaminação exerce sobre as populações). Isto permitirá avaliar e caracterizar o estado de saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos, produzindo dados confiáveis que possibilitarão a implementação de medidas adequadas para sua proteção e/ou recuperação, além de permitir a avaliação dos riscos que tais contaminações conferem à Saúde Pública e na biodiversidade desses ecossistemas.

Uma vez que é improvável que respostas em um único nível de organização biológica satisfaçam os critérios de especificidade, os mecanismos de compreensão e a relevância ecológica, uma abordagem alternativa é estudar respostas em diferentes níveis de organização simultaneamente, integrando os efeitos dos contaminantes através dos diferentes níveis de organização; portanto, é necessário promover pesquisas interdisciplinares.

Concluimos que a utilização desta bateria de bioindicadores nos permitiu avaliar e formular um retrato detalhado dos diferentes efeitos das diferentes formas de poluição nos organismos aquáticos, sendo possível diferenciar o efeito dos agrotóxicos.

Os ecossistemas aquáticos de rios, em função de sua grande heterogeneidade física, que incluem de pequenos a grandes rios, variação no regime de vazão, geomorfologia do canal entre outras características do habitat. Assim, consideramos, por exemplo, que o uso da bateria de bioindicadores utilizando a comunidade de peixes seja uma metodologia mais adequada para grandes rios, pois estes apresentam, em geral, misturas complexas de poluentes; portanto, a alta especificidade de respostas dos bioindicadores torna-se mais eficiente. Além disso, a coleta de macroinvertebrados em grandes rios é muito trabalhosa e pouco eficiente. Já em rios de pequena dimensão, a fauna de macroinvertebrados pode ser extremamente rica, enquanto que a fauna de peixes pode não ser suportada, e em geral seus representantes são de pequeno porte, o que dificulta os testes com os bioindicadores disponíveis.

Colaboradores

AR Linde-Arias e DF Baptista participaram no levantamento e análise dos dados de campo, na concepção teórica, elaboração, revisão e redação final do texto. DF Buss, C Albuquerque, AF Inácio, MM Freire, M Egler e R Mugnai participaram do levantamento e análise dos dados de campo.

Agradecimentos

Este trabalho recebeu apoio dos programas Papéis III (VPPDT/FIOCRUZ) e Programa Institucional de Pesquisa em Saúde e Ambiente da FIOCRUZ (VPSRA/FIOCRUZ).

Referências

1. Cajaraville MP, Bebianno JM, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci Total Environ* 2000; 247:295-311.
2. Rashed MN. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake, *Environ Int* 2001; 27(1): 27-33.
3. Cooper CM. Biological effects of agriculturally derived surface-water pollutants on aquatic systems – a review. *J Environ Qual* 1993; 22: 402-408.
4. Lacorte S, Barcelo D. Determination of organophosphorus pesticides and their transformation products in river water by automated on-line solid-phase extraction followed by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr* 1995; A712: 103-112.
5. Alves SR. *Avaliação dos resíduos de pesticidas organofosforados e carbamatos por metodologia enzimática no Córrego de São Lourenço, Nova Friburgo-RJ* [dissertação]. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz; p.61.
6. Cairns Jjr, Pratt JR. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg DM, Resh VH. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman & Hall; 1993. p. 10-27.
7. Rosenberg DM, Resh VH, organizadores. *Freshwater Biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman & Hall; 1993.
8. Metcalfe JL. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. *Environ. Pollut.* 1989; 60:101-139.
9. Buss DF, Baptista DF, Nessimian JL. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(2): 465-473.
10. Clements WH. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization. *J. Ecosyst Stress and Rec* 2000; 7:113-116.
11. Hyne RV, Maher WA. Macroinvertebrate Biomarkers: Links to Toxicosis and Changes in Population or Communities. Cooperative Centre for Freshwater Ecology. University of Canberra. Australia. Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology. Technical Report ScD5, 2000. Disponível em: <http://enterprise.canberra.edu.au>
12. Livingstone DR. Biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol* 1993; 57: 195-211.
13. Lama PKS, Gray JS. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Mar Pollut Bull* 2003. 46(2): 182-186.
14. Lionetto MG, Caricato R, Giordano ME, Pascariello MF, Marinosci L, Schettino T. Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus gallo provincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Mar Pollut Bull* 2003; 46:324-330.
15. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res/Reviews in Mutat Res* 2003; 543: 251-272.
16. Silva JJ, Alves SR, Inácio AF, Meyer A, Sarcinelli PN, Ferreira MF, Cunha JC, Moreira JC. Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. *Hum Exp Toxicol* 2000; 19(3): 173-177.

17. Albuquerque C. *Uso da acetilcolinesterase em tilápias e acarás como bioindicador de exposição a pesticidas organofosforados em ecossistemas aquáticos* [monografia de graduação]. Rio de Janeiro (RJ): Universidade Veiga de Almeida; 2004.
18. Washington HG. Diversity, biotic and similarity indices. A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Res* 1984; 18:653-694.
19. Watzin MC, Macintosh AW. Aquatic ecosystems in agricultural landscapes: A review of ecological indicators and achievable ecological outcomes. *J Soil Water Conserv* 1999; 4: 636-644.
20. Cairns Jr, McCormick PV, Niederlehner BR. A proposal framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia* 1993; 263: 1-44.
21. Kolkwitz R, Marsson M. Oekologie der tierischen Saprobien. Internationale Revue der gesamten. *Hydrobiologie und Hydrographie* 1909; 2:126-152.
22. Ghetti PF. I macroinvertebrati nell'analisi di qualità dei corsi d'acqua. Manuale di applicazione. Volume allegato agli atti del convegno "esperienze e confronti nell'applicazione degli indici biotici in corsi d'acqua italiani". Ed. Provincia di Trento; 1986.
23. Moreira JC, Castro Faria MV, Jacob SC, Lima JS, Alves SR, Oliveira-Silva JJ, et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana de uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. *Rev Saúde Coletiva* 2002; 7(2): 299-311.
24. Mugnai R, Carvalho AL, Oliveira RB, Sanfins CS, Baptista DF. Adaptação do Índice Biológico Estendido (IBE) para o estado do Rio de Janeiro. [CD-ROM]. *Anais do X Congresso Brasileiro de Limnologia*; 2005.
25. Mugnai R, Carvalho AL, Oliveira RB, Sanfins CS, Baptista DF. *Teste de sensibilidade do Índice IBE-SORJ. Índice Biológico Estendido- Serra dos Órgãos - Rio de Janeiro* [CD-ROM]. Congresso Brasileiro de Ecologia; 2005.
26. Maund SJ, Sherratt TN, Stickland T. Ecological considerations in pesticide risk assessment for aquatic ecosystems. *Pestic. Sci* 1997; 47: 185-190.

Artigo apresentado em 20/01/2006

Aprovado em 16/06/2006

Versão final apresentada em 31/08/2006