

ENSAIO COM MICROALGA PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE DE ÁGUA EM ÁREA MARINHA COM INFLUÊNCIA DA FOZ DO RIO DOCE

Giselly Mardegan dos Santos¹, Jéssica Dutra Ferreira¹, Higor dos Santos Oliveira¹, Diego Lacerda de Souza², Bráulio Cherene Vaz de Oliveira², Cristiane dos Santos Vergílio¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, giselly_mardegan.@hotmail.com, jessicadutra017@gmail.com, higorso.20@gmail.com, cristiane.vergilio@ufes.br

²Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, 28013-602, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil, lacerdadesouza28@gmail.com, brauliocherene@gmail.com

Resumo

O rompimento da barragem de Fundão/MG liberou rejeitos de minério de ferro que chegaram à foz do Rio Doce. O presente estudo visa avaliar a toxicidade de amostras de água com influência da foz do Rio Doce cinco anos após o rompimento, através de ensaios ecotoxicológicos com a microalga *Thalassiosira pseudonana*. As amostras de água foram coletadas durante a estação seca e chuvosa. Os ensaios ecotoxicológicos foram correlacionados com a concentração de metais e carbono orgânico dissolvido (COD). Alguns pontos da foz, na C2, tiveram um maior crescimento algáceo. As concentrações de metais permaneceram dentro padrão estabelecido pela CONAMA 357/2005, com exceção do Fe, na foz sul (FS2 e FS3) durante o período chuvoso. Os pontos mais próximos à foz também apresentaram os maiores valores de COD. Uma relação positiva foi observada entre o crescimento algáceo e as concentrações de Fe e COD. A elevada influência pelo COD e a tolerância aos metais indicam que a *Thalassiosira pseudonana* pode não ser uma boa espécie indicadora para avaliação dos impactos ambientais do rompimento da barragem de rejeitos de mineração de ferro.

Palavras-chave: Carbono orgânico dissolvido. Rejeito. Metais. Minério de Ferro.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Ecologia

Introdução

Em novembro de 2015, o rompimento da Barragem de Fundão, liberou um volume superior a 40 milhões de m³ de resíduo de mineração de minério de ferro, que percorreu mais de 650 km pelo rio Gualaxo do Norte, Carmo e Doce até desaguar no Oceano Atlântico (IBAMA, 2015, Carmo et al., 2017). O fluxo de rejeitos acarretou um aumento na concentração de diversos elementos na água e no sedimento (IGAM, 2020), tanto de elementos característicos do minério (como Fe e Mn), mas também de elementos tóxicos (como As, Cr, Cd, Pb) e metais terras raras (como La e Sc) (Queiroz et al., 2018; Vergílio et al., 2021).

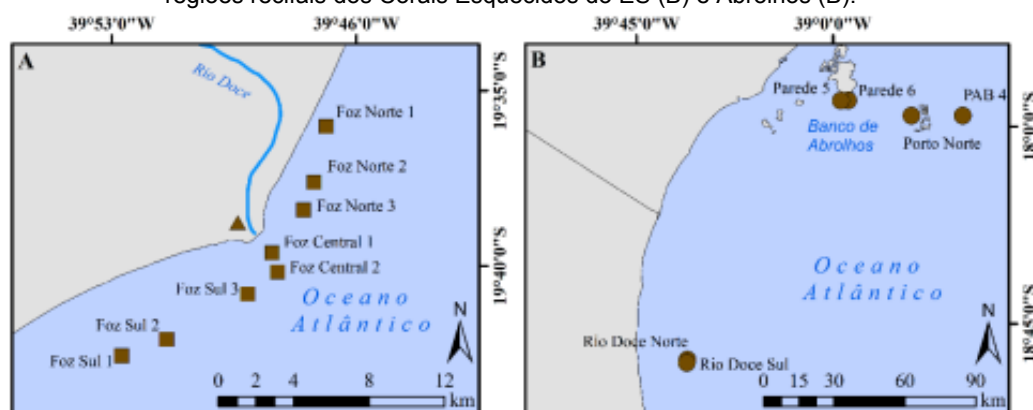
Ao longo do tempo grande parte do rejeito liberado foi transportado para o ambiente marinho levando a um aumento das concentrações de metais em áreas costeiras da foz do Rio Doce (Sartori et al., 2023). Esse material pode afetar a sobrevivência e a reprodução dos organismos das áreas afetadas. Para compreender melhor o impacto que os rejeitos de minério podem causar na biodiversidade na área sob influência do Rio Doce, podem ser realizados ensaios ecotoxicológicos, uma vez que somente a concentração absoluta de metais na água e no sedimento não indica o seu potencial tóxico para a biota. Diversas espécies são utilizadas em ensaios ecotoxicológicos, dentre elas, a microalga marinha *Thalassiosira pseudonana*. Essa espécie compõe o fitoplâncton de ecossistemas marinhos e estuarinos do litoral brasileiro. Além disso, é um organismo produtor que possui uma grande importância ecológica na cadeia alimentar (TREMARIN et al., 2008).

Com essa perspectiva, o presente estudo visa avaliar a toxicidade de amostras de água com influência da foz do rio Doce cinco anos após o rompimento de barragem de minério de ferro através de ensaios ecotoxicológicos com a microalga marinha *Thalassiosira pseudonana*.

Metodologia

As amostras de água foram coletadas em área costeira e marinha com influência do Rio Doce, sendo nove pontos na foz do Rio Doce, dois pontos nos Recifes Esquecidos e quatro pontos na região do Parque Nacional de Abrolhos (Figura 1). A primeira coleta foi realizada no período entre 21 a 29 de junho de 2021, durante a estação seca (C1), enquanto que a segunda coleta foi realizada entre 10 a 19 de fevereiro de 2022, durante a estação chuvosa (C2). As foram congeladas até o momento de realização dos ensaios. Para os ensaios, as amostras foram descongeladas, homogeneizadas e a salinidade foi ajustada para com salmoura, para os pontos com valores inferiores a 30‰.

Figura 1. Mapa da distribuição espacial dos pontos de amostragem nas regiões da foz do rio Doce (A), e nas regiões recifais dos Corais Esquecidos do ES (B) e Abrolhos (B).



Fonte: Échily Sartori.

O ensaio ecotoxicológico com *Thalassiosira pseudonana* foi baseado na normativa NBR 16181 (ABNT, 2013) e adaptado para testes em tubos de ensaio. Utilizando ambiente asséptico (câmara de fluxo laminar), um volume de 10 mL de amostra foi transferido para tubos de ensaio estéreis, vedados com tampão de algodão. Para cada um dos pontos amostrais foram preparadas 10 replicatas, que receberam um inóculo com densidade celular de 1×10^4 células/mL. Para o grupo controle foi utilizado o meio Guillard F/2. Os tubos ficaram expostos por 96 horas em uma incubadora BOD sob luz fluorescente branca contínua, a uma temperatura de 24 °C. Ao final do experimento, foi adicionado 0,5 mL de formol tamponado a 10% em cada réplica e foram retiradas alíquotas de 10 microlitros (µL) para contagem no microscópio óptico, com o auxílio de uma câmara Neubauer.

A determinação dos metais foi baseada na metodologia 3015A da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Environmental Protection Agency, USEPA) (USEPA, 2007). As amostras passaram por uma digestão ácida com ácido nítrico (HNO₃) 65% e foi utilizada a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado (ICP MS, Agilent 7800) para determinação dos elementos-traço.

Para a determinação do carbono orgânico dissolvido (COD) as amostras acidificadas com HCl 2N, foram posteriormente purgadas com ar sintético ultra-puro 5.0 e então injetadas no equipamento. O COD foi determinado pela oxidação catalítica de alta temperatura (680 °C) com detector dispersivo de infravermelho, no equipamento Shimadzu TOC-VCPH.

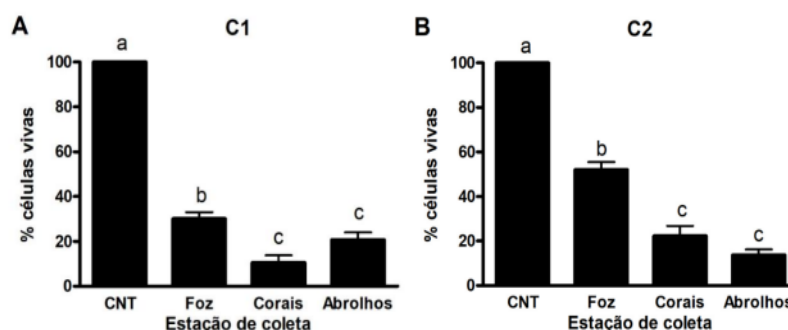
A variação do percentual de células vivas entre os diferentes setores (Foz, Corais e Abrolhos) foi avaliada através de Análise de Variância (One-Way ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, sendo considerada uma margem de erro de 5%. Enquanto que a comparação do percentual de células vivas dos pontos de coleta entre estações da coleta 1 (C1) e coleta 2 (C2) foi avaliada pela Análise de Variância (Two-Way ANOVA), considerada uma margem de erro de 5%. Os cálculos e os gráficos foram realizados com a utilização do software Graphpad Prism. Para a obtenção dos gráficos de regressão linear, os dados das variáveis foram organizados, a fim de realizar uma análise de dados via gráfico de dispersão no Excel.

Resultados

O ensaio ecotoxicológico com a microalga *Thalassiosira pseudonana* demonstrou mudanças no seu crescimento após a exposição às amostras de água dos diferentes pontos amostrais. Tanto na campanha C1 quanto na campanha C2, a exposição à água bruta induziu uma redução significativa no percentual de células vivas em relação ao controle. Nas estações Corais Esquecidos e Abrolhos foi observado um percentual de células inferior ao observado na Foz. Na comparação das campanhas C1 e C2 observa-se uma maior percentagem de células vivas nas estações de C2, exceto por Abrolhos (Figura 2).

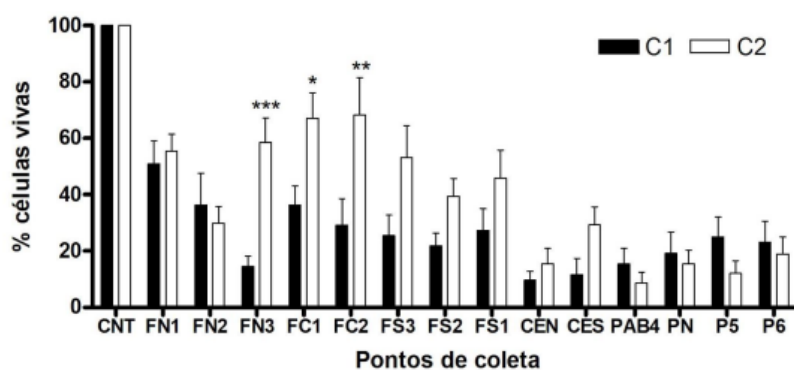
Na discriminação dos pontos de coleta das campanhas C1 e C2 observou-se que os pontos FN3, FC1 e FC2 da C2 apresentaram uma menor taxa de inibição. Os demais pontos amostrais não apresentaram diferenças significativas em relação a C1 e C2 (Figura 3).

Figura 2- Análise do percentual de células vivas observadas no controle (CNT) e nas estações de coleta da campanha C1 (A) e da campanha C2 (B).



Fonte: os autores. Legenda: As letras (a, b e c) indicam o resultado da análise estatística, onde letras distintas apontam para existência de diferenças estatísticas em relação ao controle, considerando $p < 0,05$.

Figura 3 - Comparação entre as campanhas C1 e C2 na porcentagem de algas (células vivas) expostas à água de diferentes pontos amostrais da área marinha de influência da foz do Rio Doce.

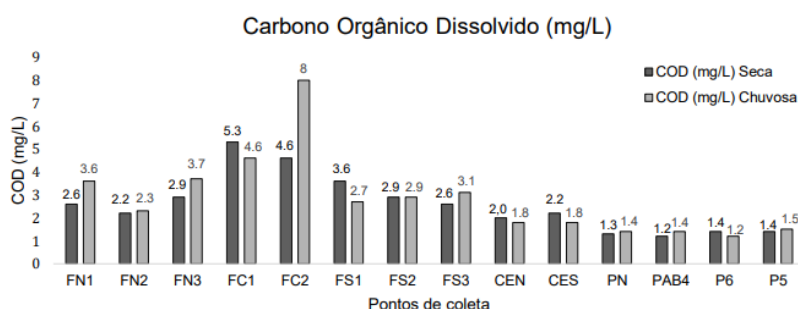


Fonte: os autores. Legenda: CNT: Controle, FN1: Foz Norte 1, FN2: Foz Norte 2, FN3: Foz Norte 3, FC1: Foz Central 1, FC2: Foz Central 2, FS3: Foz Sul 3, FS2: Foz Sul 2, FS1: Foz Sul 1, CEN: Corais Norte, CES: Corais Sul, PAB4: PAB4, PN: Porto Norte, P5: Parede P5 e P6: Parede P6. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

Após cinco anos do rompimento da barragem do Rio Doce, a maior parte dos elementos apresentou níveis dentro do padrão estabelecido para águas salinas de classe I pela resolução CONAMA 357/2005, com exceção do elemento Fe. A concentração de Fe estabelecida pela resolução CONAMA 357/2005 é de 300 $\mu\text{g/L}$, e nos pontos da foz sul (FS2 e FS3) foram observadas concentrações de 750,0 $\mu\text{g/L}$ e 700,3 $\mu\text{g/L}$, respectivamente, durante o período chuvoso. Nos pontos dos Corais Esquecidos e Abrolhos foram observadas as menores concentrações de metais, com o nível de diversos elementos abaixo do limite de detecção do equipamento utilizado.

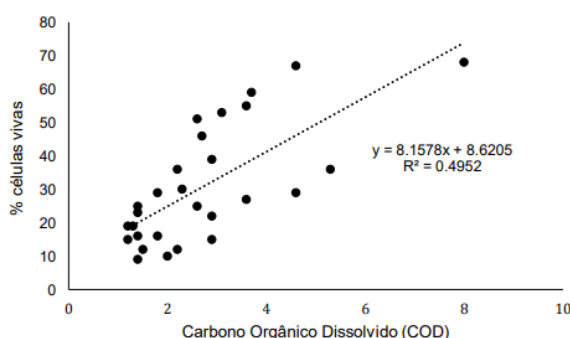
Apenas as concentrações de metais não explicaram as alterações observadas no crescimento algáceo, desta forma, optou-se por analisar os resultados do COD entre os pontos amostrais nos períodos de seca e cheia (Figura 4). De forma geral, os pontos mais próximos da foz do Rio Doce demonstraram maiores concentrações de COD, juntamente com um maior percentual algáceo. Uma regressão linear ($R^2 = 0,4952$) entre os valores de COD e o percentual algáceo corrobora a hipótese de que os pontos amostrais com maior carga orgânica estão contribuindo para o crescimento algáceo (Figura 5).

Figura 4- Concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD) nas amostras de água coletadas nas estações seca e chuvosa em pontos amostrais de área de influência da foz do rio Doce.



Fonte: os autores. Legenda: FN1: Foz Norte 1, FN2: Foz Norte 2, FN3: Foz Norte 3, FC1: Foz Central 1, FC2: Foz Central 2, FS1: Foz Sul 1, FS2: Foz Sul 2, FS3: Foz Sul 3, CEN: Corais Norte, CES: Corais Sul, PN: Porto Norte, PAB4: PAB4, P6: Parede P6 e P5: Parede P5.

Figura 5: Regressão linear entre o percentual de algáceo (células vivas) e o carbono orgânico dissolvido (COD) das amostras de água das campanhas C1 e C2 em áreas com influência da foz do Rio Doce.



Fonte: os autores.

Discussão

As correntes oceânicas podem influenciar na dispersão dos sedimentos contendo o rejeito. Durante o período chuvoso, a direção predominante do vento leva as correntes marítimas a fluírem para o sul, explicando as maiores concentrações de Fe nos pontos da foz Sul neste período (EVANGELISTA et al., 2022). O aumento dos índices pluviométricos no período chuvoso, contribui para o carreamento de sedimentos das margens dos rios e revolvimento de partículas depositadas no fundo. Assim, os sedimentos e rejeitos são transportados para a foz e, posteriormente, dispersados para o mar aberto sob influência das correntes costeiras (FRANCINI-FILHO et al., 2019).

Apesar do alto teor de Fe nos pontos da foz, estes não apresentaram efeito inibitório no crescimento algáceo. Algumas algas como a *T. pseudonana*, apresentam mecanismos de tolerância a metais, como a glutathione (GSH) e as fitoquelatinas (PC) (RIJSTENBIL et al., 1994), gerando uma resposta antioxidante quando as células são expostas à contaminação com metais (SANTOS et al., 2011). A *T. pseudonana* submetida aos metais durante os ensaios ecotoxicológicos, pode ter

desenvolvido uma desintoxicação eficaz por meio de seus mecanismos de GSH e síntese de PCs, o que pode explicar o crescimento ter se mantido, mesmo em amostras com altas concentrações de metais.

Como apenas os dados de metais não explicaram as alterações no crescimento algáceo, foi analisado o COD. O maior percentual de crescimento algáceo foi observado no período chuvoso, isso porque o regime de chuvas pode ser responsável por aportes elevados de COD do rio para o mar, demonstrando concentrações superiores nesse período (SILVA, 2013). Além da associação do COD, foi observada uma associação do Fe com o crescimento algáceo. Isso pode ser explicado em função do aporte de matéria orgânica carregada ao longo do Rio Doce que desemboca na foz, e juntamente ocorre o carreamento dos rejeitos de mineração, o que explica a correlação entre essas variáveis.

Conclusão

Após cinco anos do rompimento da barragem de Fundão, a maior parte dos elementos apresentou níveis dentro do padrão estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005, com exceção do elemento Fe em pontos da foz do Rio Doce. Os ensaios ecotoxicológicos com *T. pseudonana* demonstraram crescimento diferencial nos pontos amostrais. Uma relação positiva foi observada entre o Fe e COD e o percentual algáceo, de modo que nas amostras mais próximas da foz do Rio Doce houve um crescimento superior ao observado nas áreas mais distantes da costa (Corais do ES e Abrolhos), por conta do aporte de nutrientes. Dessa forma, somente a utilização da *Thalassiosira pseudonana* como bioindicador não foi suficiente para analisar os efeitos dos metais sobre os organismos, visto que não foi observada uma inibição do seu crescimento na presença desses elementos. Assim, a aplicação de outros organismos-testes nas mesmas condições experimentais do presente estudo é relevante, com intuito de validar os resultados. Visto ao elevado de nível de diversos metais na foz do Rio Doce ainda é necessário a realização de um monitoramento ambiental a longo prazo nas áreas de estudo utilizando diferentes bioindicadores, a fim de avaliar a toxicidade da água e os impactos do rompimento da barragem de rejeito sobre o ecossistema marinho com influência da foz do Rio Doce.

Referências

ABNT – Associação Brasileira de Normas e Técnicas. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com microalgas marinhas**. NBR 16181, 27 p., 2013.

CARMO, Flávio Fonseca do; KAMINO, Luciana Hiromi Yoshino; JUNIOR, Rogério Tobias; CAMPOS, Iara Christina de; CARMO, Felipe Fonseca do; SILVINO, Guilherme; CASTRO, Kenedy Junio da Silva Xavier de; MAURO, Mateus Leite; RODRIGUES, Nelson Uchoa Alonso; MIRANDA, Marcos Paulo de Souza; PINTO, Carlos Eduardo Ferreira. **Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context**. Perspectives in ecology and conservation, v. 15, n. 3, p. 145-151, 2017.

CONAMA. Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 53, 18 de março de 2005. Seção 1, p. 58-63.

EVANGELISTA, Heitor; VALERIANO, Claudio; PARAVIDINI, Gabriel; JUNIOR, Sérgio Gonçalves; SODRÉ, Eduardo; NETO, Carla; SANTOS, Elaine; NETO, Newton; PEIXOTO, Caroline; LICINIO, Marcus; RIBEIRO, Joselito; FLORES, Araceli; PEREIRA, Madson; BARBOSA, Catia; BARCELLOS, João; OLIVEIRA, Bruno; GUEBERT, Flávia; NEGRÃO, Fabio; DOS ANJOS, Marcelino; SANTOS, Ramon Silva; HEILBRON, Monica. **Using NdSr isotopes in suspended sediments in the Abrolhos coral-reef (SW Atlantic, Brazil) to assess potential contamination from the 2015 Fundão dam collapse**. Science of The Total Environment, v. 807, p. 151231, 2022.

FRANCINI-FILHO, Ronaldo; CORDEIRO, Marcelle; OMACHI, Claudia; ROCHA, André; BAHIANSE, Laura; GARCIA, Gizele; TSCHOEKE, Diogo; ALMEIDA, Marcelo de; RANGEL, Thiago, OLIVEIRA,

Braulio Cherene Vaz De; ALMEIDA, Diogo de; MENEZES, Rafael; MAZZEI, Eric; JOYEUX, Jean-Christophe; REZENDE, Carlos Eduardo; THOMPSON, CristianE; THOMPSON, Fabiano. **Remote sensing, isotopic composition and metagenomics analyses revealed Doce River ore plume reached the southern Abrolhos Bank Reefs.** Science of The Total Environment, v. 697, p. 134038, 2019.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2015) **Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais.** Brasília, 74p.

IGAM - Instituto Mineiro de Gestão das Águas (2020b). **Encarte especial sobre a qualidade das águas do Rio Doce após 5 anos do rompimento da barragem de Fundão 2015-2020.** Instituto Mineiro de Gestão das Águas, Belo Horizonte, 74 p.

QUEIROZ, Hermano; NÓBREGA, Gabriel; FERREIRA, Tiago; ALMEIDA, Leandro; ROMERO, Thais SANTAELLA, Sandra; BERNARDINO, Angelo; OTERO, Xosé. **The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination?.** Science of the Total Environment, v. 637, p. 498-506, 2018.

RIJSTENBIL, J. W.; SANDEE, A.; VAN DRIE, J.; WIJNHOLDS, J. A. **Interaction of toxic trace metals and mechanisms of detoxification in the planktonic diatoms *Ditylum brightwellii* and *Thalassiosira pseudonana*.** FEMS microbiology reviews, v. 14, n. 4, p. 387-396, 1994.

SANTOS, Fabiana Soares dos; SOBRINHO, Nelson Moura Brasil do Amaral; MAZUR, Nelson; GARBISU, Carlos; BARRUTIA, Oihana; BECERRIL, José Maria. **Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn.** Química Nova, v. 34, p. 16-20, 2011.

SARTORI, Échily; VERGILIO, Cristiane dos Santos; GATTS, Pedro Vianna; OLIVEIRA, Braulio Cherene Vaz de; ALMEIDA, Marcelo Gomes de; THOMPSON, Fabiano; REZENDE, Carlos Eduardo de. **Trace metal concentration along the Brazilian coast: An assessment of the influence of the Doce River plume.** Marine Pollution Bulletin, v. 188, p. 114640, 2023.

SILVA, Clarissa Fernandes da. **Relação entre carbono orgânico dissolvido (COD) e elementos metálicos em águas naturais da porção leste do Quadrilátero Ferrífero MG.** DISSERTAÇÃO (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Ouro Preto, 2013.

TREMARIN, Priscila Izabel; LUDWIG, Thelma Alvim Veiga; MOREIRA FILHO, Hermes. **Thalassiosirales (Diatomeae) do rio Guaraguaçu, Bacia Litorânea, PR, Brasil.** Acta Botanica Brasilica, v. 22, p. 1101-1113, 2008.

VERGILIO, Cristiane dos Santos; LACERDA, Diego; SOUZA, Tatiana da Silva; OLIVEIRA, Bráulio Cherene Vaz de; FIORESI, Vinicius Sartori; SOUZA, Victor Ventura de; RODRIGUES, Giovana da Rocha; BARBOSA, Marjore Kinaip de Araújo Moreira; SARTORI, Echily; RANGEL, Thiago Pessanha; ALMEIDA, Diogo Quitete Ribeiro de; ALMEIDA, Marcelo Gomes de Almeida; THOMPSON, Fabiano; REZENDE, Carlos Eduardo de. **Immediate and long-term impacts of one of the worst mining tailing dam failure worldwide (Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil).** Science of The Total Environment, v. 756, p. 143697, 2021.

Agradecimentos

Ao LABTOX UFES, LCA UENF, PIIC UFES. Os dados são parte integrante do projeto financiado na CHAMADA FAPES/FAPEMIG/FUNDAÇÃO RENOVA - RECUPERAÇÃO DE ÁREAS IMPACTADAS PELO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO/MG (Termo de Outorga: 006/2021) (Processo: 2021-5KQR9).