

ESTUDOS DE ESPÉCIES BIOINDICADORAS¹

Luzimar Gonzaga Fernandez²
Leandro Lopes Loguercio³
Antônio Fernando de Souza Queiroz, João Lamarck Argolo e
Olívia Maria Cordeiro de Oliveira⁴
Wilson Matos Nascimento⁵
Vanice Maria Silva Fontes⁶
Fábio Santos Ferreira⁷
Saulo Alves Aflitos⁸
Taíse Bonfim de Jesus⁹
André Luiz Fagundes, Nielson Moraes da Silva Segundo e
Sidnei Cerqueira dos Santos¹⁰

1. INTRODUÇÃO

Os estuários constituem ecossistemas de elevada produtividade biótica, que sofrem constantes e variadas pressões antrópicas. No Brasil, desde a ocupação inicial do território a partir da faixa litorânea, o homem explora indiscriminadamente os recursos naturais oriundos das regiões estuarinas e nele despeja restos urbanos e industriais, que provocaram ao longo dos anos mudanças em suas estruturas bióticas e abióticas.

Esse ecossistema é colonizado por espécies animais e vegetais, além de micro e macroalgas adaptadas à flutuação de salinidade e caracterizadas por habitarem zonas predominantemente lodosas, com baixos teores de oxigênio, sendo reconhecido como importante barreira biogeoquímica e local adequado para estudos que permitam a constatação de problemas ambientais, pois sua riqueza – em material argiloso, matéria orgânica e organismos – permite diferentes tipos de abordagens científicas de pesquisa. Os metais são poluentes conservativos, e o acúmulo destes nos estuários representa, por um longo espaço de tempo, uma ameaça para esses ambientes, podendo atravessar todo o ciclo ecológico envolvido no ecossistema.

As indústrias de petróleo são consideradas altamente poluidoras, pois geram produtos que podem interferir nos processos naturais de ecossistemas. Na fase de perfuração, produção e refino, os maiores problemas são os lançamentos de efluentes gasosos e líquidos na atmosfera, e nos rios e mares, respectivamente. Vazamentos em poços petrolíferos marítimos, em terminais portuários, em

¹ O trabalho vem sendo desenvolvido em colaboração entre o Laboratório de Estudos em Meio Ambiente da UCSal, a Universidade Federal da Bahia - UFBA, a Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, contando com apoio financeiro do CNPq/FINEP-CTPETRO nº 2201074501.

² Professora, Doutora, do Instituto de Ciências Biológicas (ICB)/Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) da Universidade Católica do Salvador – UCSal, e do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia – UFBA.

³ Professor, Doutor, do Laboratório de Genética e Biologia Molecular/Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC.

⁴ Professores, Doutores do Curso de Pós-Graduação em Geoquímica e Meio Ambiente (POSGEMA)/Laboratório de Estudos Ambientais/Instituto de Geociências (IGEO) da Universidade Federal da Bahia – UFBA.

⁵ Biólogo do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) da Universidade Católica do Salvador – UCSal.

⁶ Química do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) da Universidade Católica do Salvador – UCSal.

⁷ Farmacêutico do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) da Universidade Católica do Salvador – UCSal.

⁸ Acadêmico do Curso de Biologia da Universidade Federal da Bahia, Bolsista de Iniciação Científica FAPESB/LEMA/UCSal.

⁹ Bióloga do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) da Universidade Católica do Salvador – UCSal, Bolsista Técnica FAPESB/LEMA/UCSal

¹⁰ Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Católica do Salvador – UCSal. Bolsistas de Iniciação Científica LEMA/UCSal.

navios petroleiros, ou mesmo limpeza de seus tanques, são responsáveis pelos despejos de óleos no oceano. Esses óleos espalham-se pela superfície e formam uma camada compacta, impedindo a oxigenação da água, além de aportarem elementos xenobióticos poluentes, que quase sempre podem provocar a destruição da fauna e da flora marinha e alterar vários ecossistemas associados. Os metais Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Ni, V e Zn, contidos em resíduos sólidos de uma refinaria, normalmente são colocados em aterros industriais.

No Estado da Bahia, a partir da década de 50, com a implantação da refinaria Landulpho Alves de Mataripe (RLAM), da Petrobras, instalada na região do Recôncavo Baiano, iniciou-se um processo de desenvolvimento econômico revolucionário para o Estado. Todo esse crescimento industrial tem sido acompanhado, entretanto, de uma série de impactos ambientais, com interferência direta nos processos naturais de ecossistemas estuarinos localizados nas proximidades dessas plantas que desenvolvem atividades petrolíferas. A região costeira que margeia o município de São Francisco do Conde tem sido uma das mais afetadas pelo intenso desenvolvimento industrial oriundo das atividades de produção e refino aí verificadas. O Município de São Francisco do Conde está localizado na região do Recôncavo Baiano, na foz dos rios Subaé, Dom João e Engenho d'Água e conta com uma área geográfica de 185 km², com clima do tipo tropical quente e úmido, com precipitação total anual entre 1750 – 1900 mm.

A identificação de vegetais e animais bioindicadores de poluição por elementos metálicos é extremamente importante, tanto para o uso direto no monitoramento e avaliação do impacto destes elementos no ambiente, ao longo do estuário, quanto como fonte de genes associados a mecanismo de tolerância a elevados níveis de metais por hiperacumulação. Considerando a biodiversidade disponível na região de São Francisco do Conde, é possível identificar espécies vegetais e animais que naturalmente demonstrem uma diferenciada adaptação à vida em ambientes poluídos por metais (EBBS et al., 1997), ou ainda considerar a identificação de vegetais e animais que demonstrem geneticamente a característica de hiperacumulação de metais, seguida pela transferência, via biotecnologia, para espécies já reconhecidamente de interesse econômico, com elevada produção de biomassa e apropriadas para uso de recomposição das zonas estuarinas. Neste caso, a probabilidade aumenta devido aos vegetais e animais aquáticos serem espécies de ciclo curto e que podem absorver metais tanto pelas raízes quanto pela parte aérea (GIORDANI et al., 2000), tornando mais fácil o aparecimento de genótipos tolerantes como resposta do impacto ambiental em questão.

Glutathione (GSH), seus derivados fitoquelatinas (PC) (ZENK, 1996; XIANG & OLIVER, 1998), metalotioninas (MT) (GARCIA-HERNANDEZ et al., 1998); (GIORDANI et al., 2000), catalase, peroxidases e dihidroascorbato redutase, são as principais classes de peptídeos, proteínas e enzimas, respectivamente, envolvidas na manutenção da homeostase de plantas e animais expostos a metais, dentre outras que vêm sendo mais recentemente estudadas e caracterizadas (GUERINOT & SALT, 2001). Uma característica comum desses compostos é a presença de aminoácidos contendo grupo tiol (SH), como, por exemplo, a cisteína (CYS), os quais são capazes de complexarem-se com metais. Dentre os metais que se destacam nesses estudos estão o Cu, Cd, Hg, Fe, Ni, Zn, Al e, em menor escala, o Cr. Outra importante característica observada nesses peptídeos e proteínas quelantes de metais refere-se ao fato de que os genes correspondentes invariavelmente constituem famílias gênicas, com isoformas de expressão diferencialmente regulada no espaço e no tempo (GARCIA-HERNANDEZ et al., 1998). Constata-se, portanto, a existência de uma gama de dados significativos e concepções a respeito de genes, processos bioquímicos e fisiológicos específicos relacionados à hiperacumulação de íons metálicos em tecidos vegetais e animais.

Este trabalho consiste na avaliação molecular da fauna e flora características de áreas impactadas ou não por metais, de regiões costeiras e estuarinas, considerando uma abordagem inter e multidisciplinar, a fim de estudar os mecanismos biológicos envolvidos e determinar o nível de comprometimento da fauna e da flora presentes em zonas localizadas em área de influência direta ou não por problemas provenientes de atividades antrópicas.

2. METODOLOGIA

Os trabalhos de campo vêm sendo efetuados em 10 estações na região do Recôncavo Baiano, localizadas em área de influência direta de problemas provenientes de atividades petrolíferas. Além dessas, está sendo utilizada uma outra estação, considerada como controle, localizada em região não exposta e impactada pelos contaminantes em estudo, e sim exposta a condições físico-químicas e biológicas semelhantes, mas que está situada em uma zona livre da influência direta das atividades petrolíferas. Os trabalhos experimentais envolvem as seguintes atividades:

▪ **Medições de Parâmetros Físico-Químicos nas Águas Superficiais** – Foram realizadas medições *in situ* dos seguintes parâmetros: pH, Eh, T(°), OD e salinidade.

▪ **Dimensionamento da cobertura vegetal da zona em estudo** – Em saídas de campo, foram tomadas coordenadas geográficas, com o uso de GPS, demarcando-se ‘manchas’ mistas e/ou mono-especificadas. Essas manchas serão caracterizadas e medidas, através dos métodos do transecto e do quadrado (parcela).

▪ **Identificação e coleta de amostras da biodiversidade** – A flora e a fauna foram identificadas e espécimes do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliiana* e das espécies vegetais *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa L* e *Rhizophora mangle L*. foram coletadas e enviadas ao LEMA/UCSal para as análises laboratoriais.

▪ **Trabalhos de Laboratório** – Inicialmente foram coletadas, na área em estudo, amostras de vegetais e animais para avaliar a capacidade de bioacumulação de poluição por elementos metálicos. Os espécimes selecionadas das diversas regiões de amostragem, que incluem áreas contaminadas e não-contaminadas com metais, estão sendo analisadas em relação aos metais Pb, Zn, Cr, Cu, Cd, Mn, Ni, Se, V, Fe, Al e Se no Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA/UCSal), com relação aos seguintes parâmetros: a) Cátions: Pb, Zn, Cr, Cu, Cd, Mn, Ni, V, Se, Fe e Al, b) nutrientes: Ca, Na, K e Mg. Após o resultado analítico quanto aos metais estudados será realizado o estudo bioquímico e molecular das espécies vegetais bioacumuladoras de metais e também no molusco bivalve *Anomalocardia brasiliiana*. O estudo vem sendo desenvolvido utilizando as técnicas analíticas a seguir:

(1) **Determinações Biogeoquímicas** para análise das amostras de água, solos e biota por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama e Forno de Grafite, Geração de Hidretos para a quantificação de metais e Cromatografia Gasosa acoplada a Detetor de Massa (CG-MS) para determinação de orgânicos;

(2) **Análises Bioquímicas e Moleculares** para extração, purificação, identificação, caracterização e quantificação de biomoléculas, possibilitando assim, conhecer os mecanismos de interação entre os compostos presentes no ambiente e as moléculas biológicas por meio de Espectrofotometria Molecular UV/Visível para quantificação de biomoléculas e análise enzimática; Eletroforese uni- e bi-dimensional (2DE) para estudo de Proteínas e DNA, como focalização isoelétrica de proteínas, análise genômica e proteômica; Cromatografia Líquida para purificação, determinação do peso molecular e outras análises de biomoléculas; PCR; Hibridização para caracterização de DNA, expressão gênica, dentre outros;

3. RESULTADOS

A análise dos parâmetros físico-químicos *in situ* (pH, temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade) demonstra que não há uma diferença significativa entre as 11 estações de amostragem. As espécimes do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* e das espécies vegetais *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* L e *Rhizophora mangle* L. coletadas nas 11 estações em estudo estão sendo analisadas quanto ao teor de metais presente e características bioquímicas e moleculares. Durante as atividades de coleta das espécies vegetais verificou-se alto índice de doenças nas folhagens e ataque por insetos, plantas geralmente muito jovens (baixa expectativa de vida), distribuição anormal das plantas (sem a separação comum por faixas de espécies), presença, às vezes, de apenas 1 ou 2 das espécies vegetais, como também presença de óleo no solo em alguns pontos. Quanto ao molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* não há uma diferença significativa em quantidade e tamanho da concha nos espécimes coletadas em 10 estações de amostragem, excetuando uma única estação em que o tamanho dos moluscos diferia das demais.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A presente pesquisa prevê um melhor conhecimento da região estuarina do Recôncavo Baiano com relação a aspectos físicos, químicos, biológicos, moleculares e biotecnológicos. Esse aprofundamento científico servirá para evidenciar problemas ambientais, notadamente aqueles provenientes do intenso desenvolvimento industrial oriundo das atividades de produção e refino de petróleo aí verificadas, que venham a provocar modificações estruturais nos vários compartimentos dos ambientes analisados. Além disso, pretende-se que os resultados originários deste estudo contribuam para que sejam implementadas ações de recuperação ambiental nessas zonas costeiras do estado da Bahia, inclusive, com medidas remediadoras que possam ser replicadas em outras regiões com problemáticas semelhantes.

5. REFERÊNCIAS

- EBBS, S.D.; LASAT, M.M.; BRADY, D.J.; CORNISH, J.; GORDON, R.; KOCHIAN, L.V. (1997). Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil. *J Env Qual*, 26:1424-30.
- GARCÍA-HERNANDEZ M.; MURPHY A.; TAIZ L. (1998). Metallothioneins 1 and 2 have distinct but overlapping expression patterns in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 118:387-397.
- GIORDANI T.; NATALI L.; MASERTI B.E.; TADDEI S.; CAVALLINI A. (2000). Characterization and expression of DNA sequences encoding putative type-II metallothioneins in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Plant Physiol*, 123:1571-81.
- GUERINOT, M.L.; SALT, D.E. (2001). Fortified Foods and phytoremediation. Two Sides of the Same Coin. *Plant Physiol*, 125:164-67.
- XIANG, C; OLIVER, D.J. (1998). Glutathione Metabolic Genes Coordinately Respond to Heavy Metals and Jasmonic Acid in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 10:1539-50.
- ZENK, M.H. (1996). Heavy metal detoxification in higher plants. *Gene*, 179:21-30.