Biomarcadores como ferramentas de monitoramento da contaminação aquática

Adalto Bianchini

Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Rio Grande, RS, Brasil
adaltobianchini@furg.br

FURG

Biomarcadores de contaminação aquática: conceitos e aplicações

Adalto Bianchini

Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Rio Grande, RS, Brasil
adaltobianchini@furg.br

FURG

Biomarcadores moleculares de contaminação aquática

Afonso Celso Dias Bainy

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Florianópolis, SC, Brasil
bainy@mbox1.ufsc.br

UFSC

Biomarcadores fisiológicos e genéticos de contaminação aquática

Cláudia Bueno dos Reis Martinez
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Ciências Fisiológicas
Londrina, PR, Brasil
cbueno@uel.br

Universidade Estadual de Londrina

Biomarcadores morfológicos de contaminação aquática

Marisa Narciso Fernandes
Universidade Federal de São Carlos
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Carlos, SP, Brasil
dmnf@ufscar.br

Biomarcadores de contaminação aquática: conceitos e aplicações

Adalto Bianchini

Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Rio Grande, RS, Brasil
adaltobianchini@furg.br

FURG

Aspectos abordados:

- Brasil como país em desenvolvimento

- Uso dos recursos hídricos: aspectos políticos, econômicos e ecológicos

- Alternativas para o monitoramento da qualidade das águas

Antes de 22 deAbril de 1500

Em 22 deAbril de 1500

Equilíbrio ecológico

Após 22 de Abril de 1500

Agricultura

Agricultura

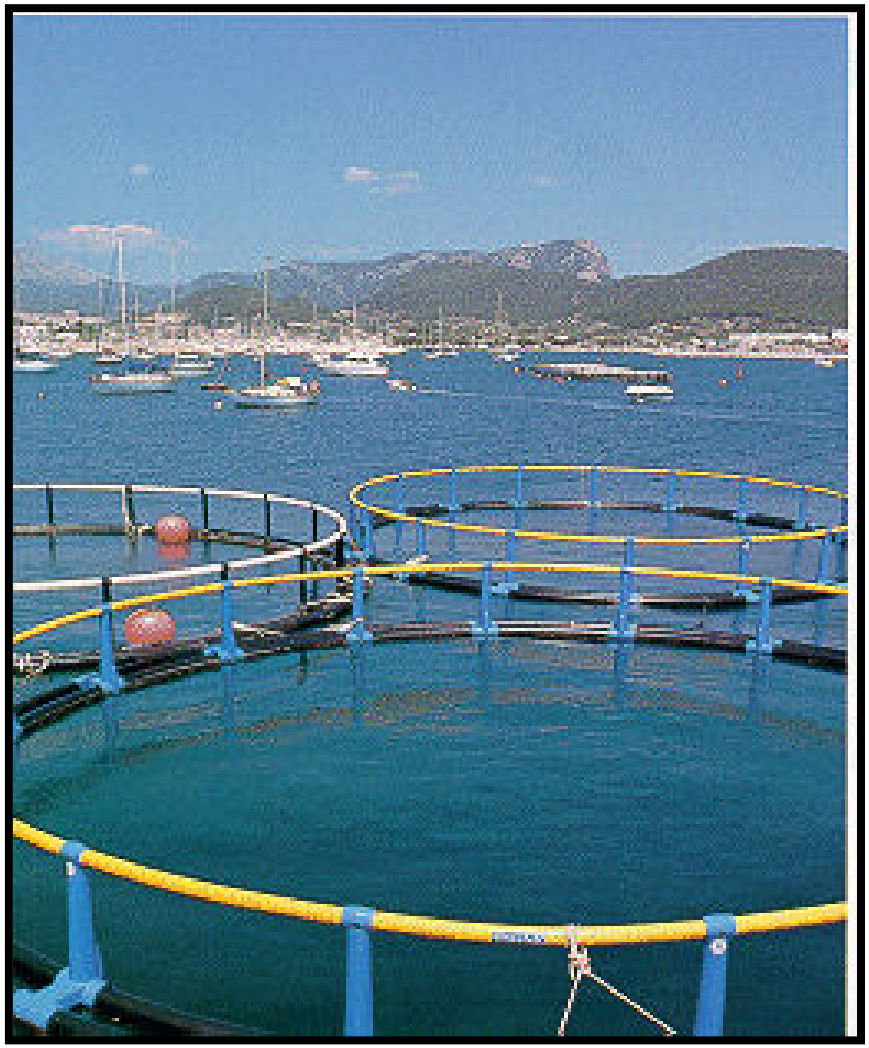
Pecuária

Atividades Industriais

Atividades Industriais e Portuárias

Exploração de Petróleo

Mineração

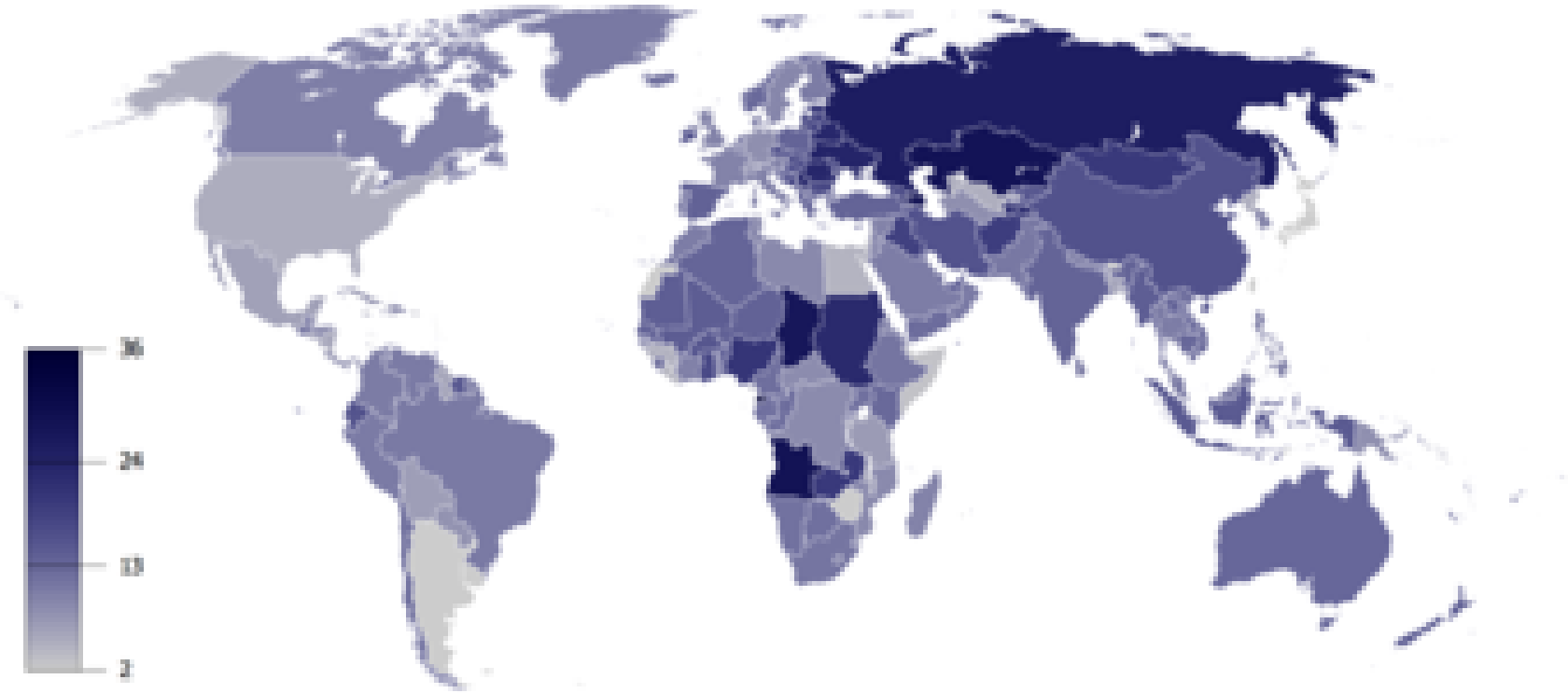


Aquicultura

Pescaria artesanal

Pescaria industrial

Crescimento do PIB 2000–2007



Divisão de Estatística da ONU (2008)

2000 - 2007 *Brasil – 11%*

Source: International Monetary Fund, *World Economic Outlook*, database, April 2008. www.imf.org.

Belém, PA

Fortaleza, CE

Recife, PE

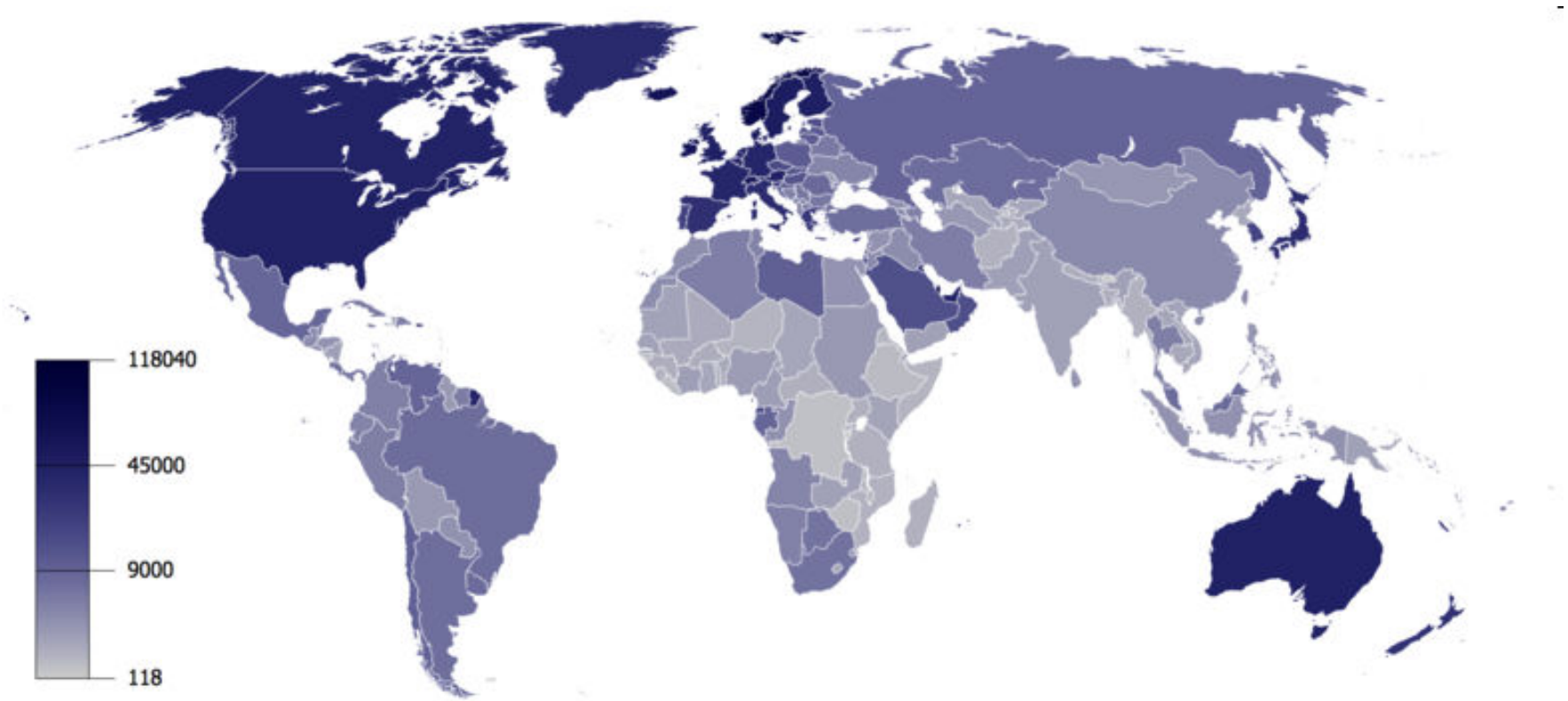
Vitória, ES

Rio de Janeiro, RJ

Florianópolis, SC

Porto Alegre, RS

Produto Interno Bruto per Capita



Países pelo PIB per capita em 2008 (ONU, estimado em Outubro de 2008)

Brasil – 64º

Esgoto doméstico

AMBIENTES AQUÁTICOS

Problemática da poluição

Principais contaminantes aquáticos

Metais (Cu, Cd, Zn e Pb)

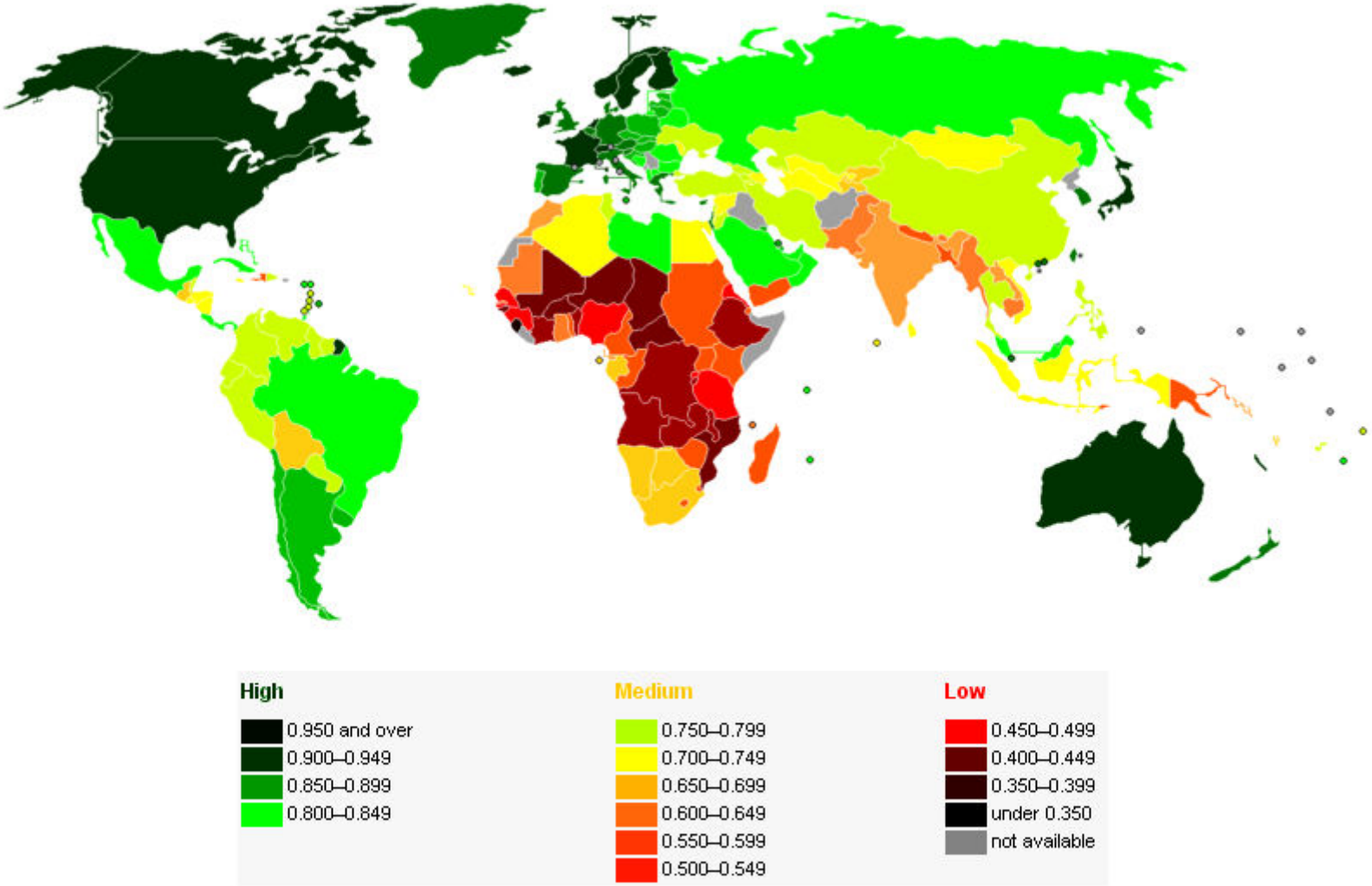
Esgoto doméstico

Hidrocarbonetos

Pesticidas

Impactos biológicos e ecológicos

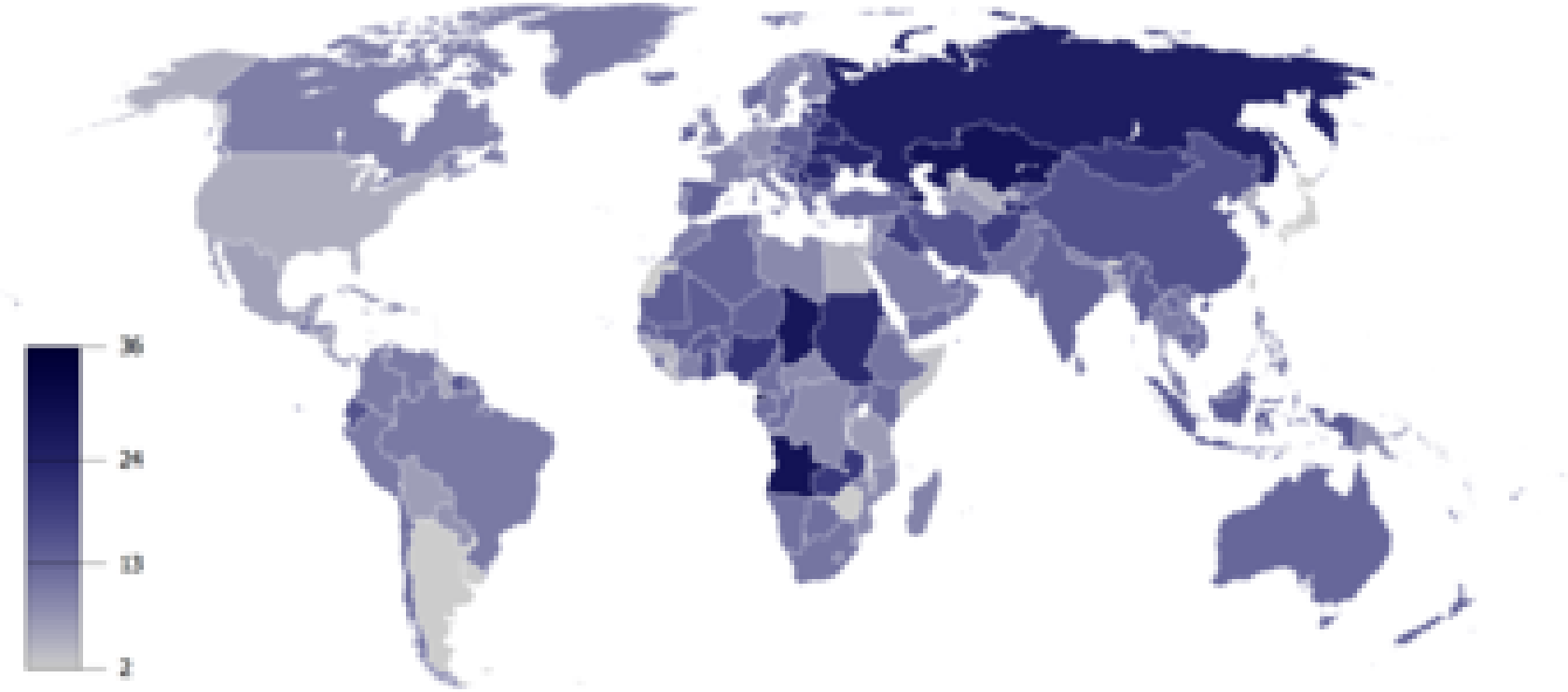
Branqueamento de corais (Recife, PE)



Índice de Desenvolvimento Humanao (baseado em dados de 2006)

Brasil - 70º

Crescimento do PIB 2000–2007



Divisão de Estatística da ONU (2008)

2000 - 2007 Brasil – 11%

Fundo Monetário Internacional (2008)

2008 - 2013 Brasil – 33%

Conclusão

O equilíbrio ecológico dos sistemas aquáticos do Brasil está severamente ameaçado pelo incremento da poluição orgânica e inorgânica associada ao crescimento urbano, agrícola e industrial. O monitoramento, preservação e restauração destes ecossistemas requer uma melhor compreensão de como as atividades naturais e antrópicas afetam este equilíbrio.

Problemática

A conservação dos recursos hídricos está se tornando progressivamente mais onerosa e problemática do ponto de vista político e ecotoxicológico.

Aves migratórias no Sul do Brasil

Legislação Ambiental

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA

RESOLUÇÃO Nº 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.

Legislação Ambiental

CAPÍTULO I

DAS DEFINIÇÕES

Art. 2º Para efeito desta Resolução são adotadas as seguintes definições:

I - águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰;

II - águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰;

III - águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰;

CAPÍTULO II

DA CLASSIFICAÇÃO DOS CORPOS DE ÁGUA

Art.3º As águas doces, salobras e salinas do Território Nacional são classificadas, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes, em treze classes de qualidade.

Legislação Ambiental

CAPÍTULO III

DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

Seção I

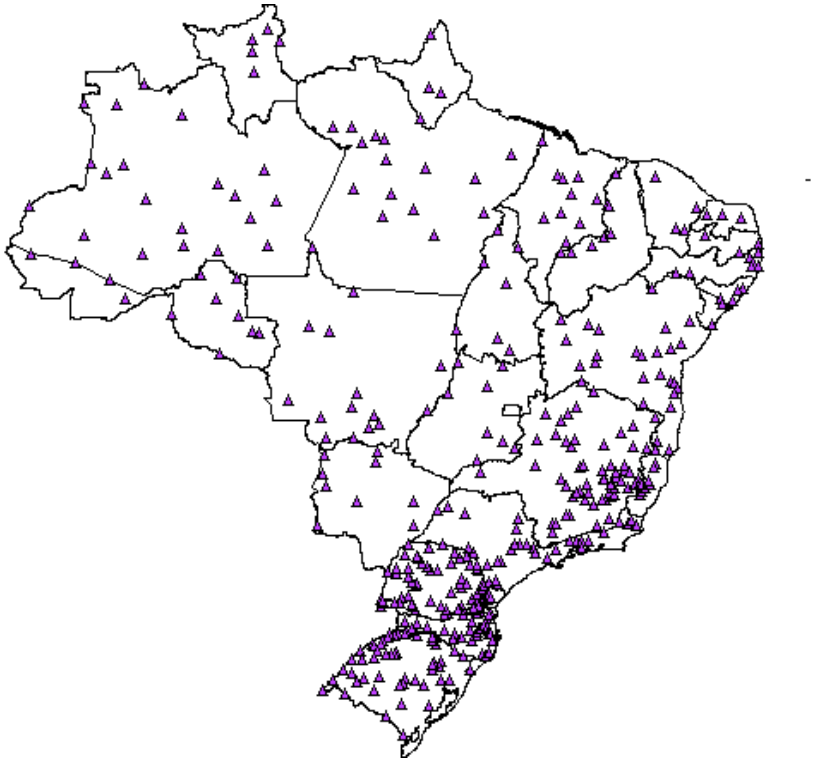
Das Disposições Gerais

Art. 7º Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Ferramentas para monitoramento da qualidade da água

- Medidas diretas

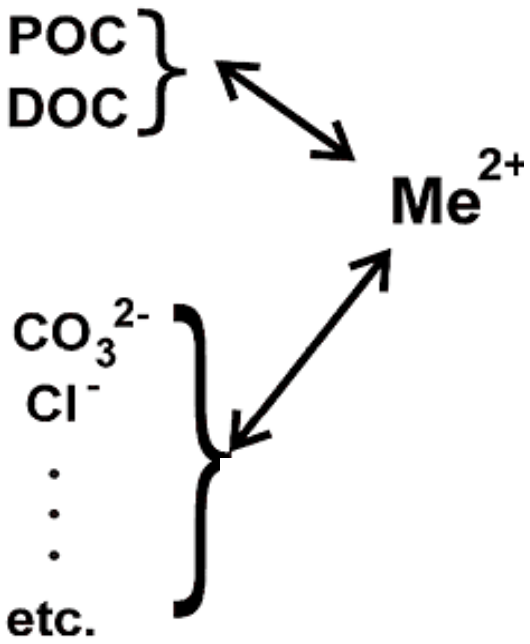
Rede Brasileira de Monitoramento de Água



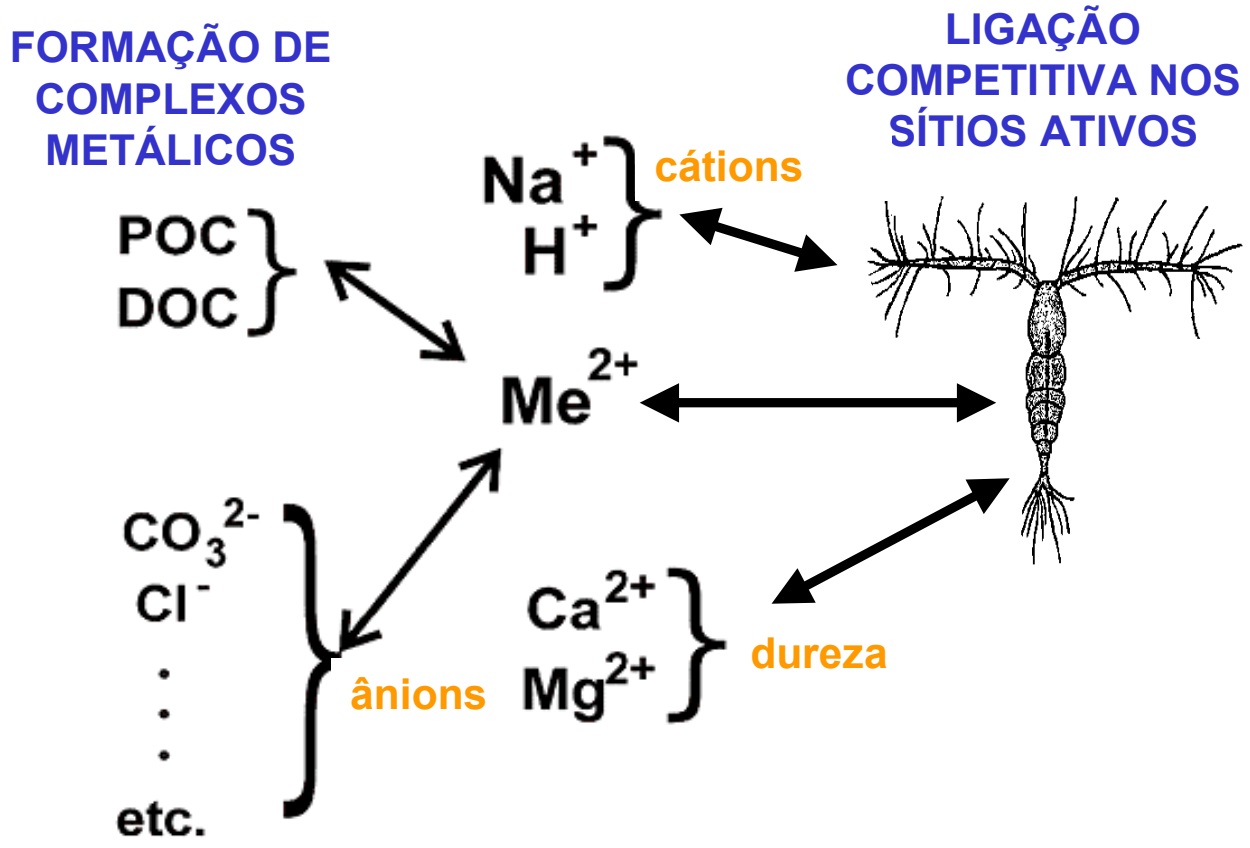
- 423 estações
- 4/5 amostragens por ano
- avaliação de diversos parâmetros de qualidade da água

Biodisponibilidade dos contaminantes

FORMAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS



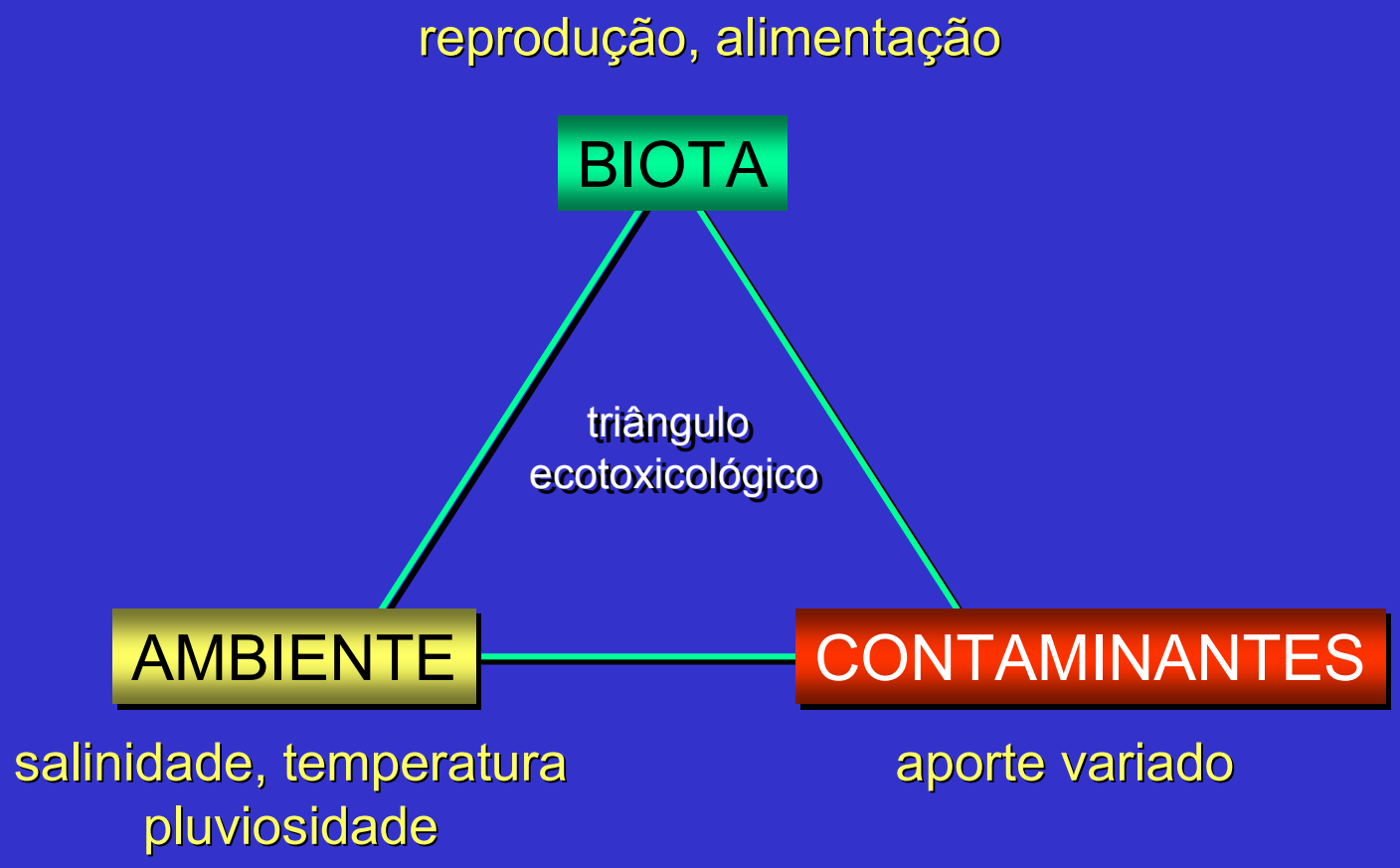
Biodisponibilidade, bioacumulação e toxicidade de metais



ECOTOXICOLOGIA

"Ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre a biota, em nível organísmico, populacional e de comunidades, nos ambientes terrestre e aquático."

O PARADIGMA DA ECOTOXICOLOGIA



Legislação Ambiental

CAPÍTULO III

DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

Seção I

Das Disposições Gerais

Art. 7º Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Parágrafo único. Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos, ressalvado o disposto no § 3º do art. 34, desta Resolução.

Art. 8º O conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Público.

Alternativas para o monitoramento da qualidade da água

- *Medidas diretas*
- *Testes toxicológicos*
- *Biomarcadores*

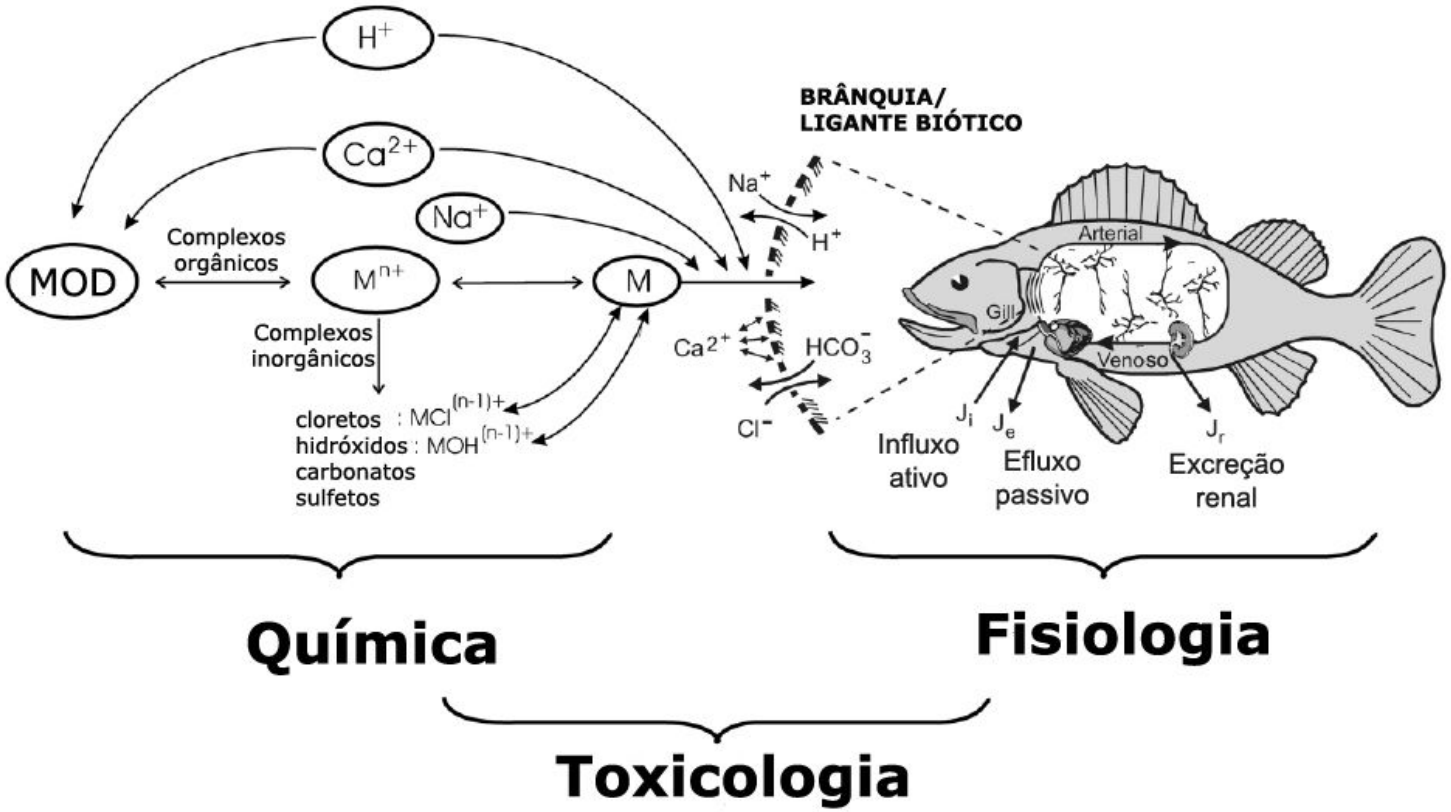
Alternativas para o monitoramento da qualidade da água

- *Medidas diretas*
- *Testes toxicológicos*

} *Modelagem ecotoxicológica*

Alternativas para o monitoramento da qualidade da água

- Modelagem ecotoxicológica



Paquin *et al.* (2002)

Alternativas para o monitoramento da qualidade da água

- *Medidas diretas*
- *Biomarcadores*

} *Modelagem ecotoxicológica*

BIOMARCADORES

Biomarcadores são alterações biológicas nos fluídos corporais, células ou tecidos indicativas da exposição a concentrações sub-letais de poluentes ambientais, detectadas em nível molecular, celular e fisiológico (Livingstone 1993; Walker et al., 1996).

Que biomarcadores utilizar?

I. **Citopatologia e Histopatologia (comprometimento estrutural de órgãos e sistemas)**

II. **Neurotoxicidade (alteração no funcionamento do sistema nervoso periférico e central)**

III. **Estresse Oxidativo (danos de macromoléculas: lipídios, proteínas e DNA)**

IV. **Osmoregulação e Nefrotoxicidade (perda parcial ou total de adaptação a variações de salinidade)**

V. **Genotoxidade (danos à estrutura do material genético)**

VI. **Imunologia Inespecífica (imunossupressão)**

Que biomarcadores são utilizados?

Biomarcadores Bioquímicos:

- Atividade da acetilcolinesterase
- Concentração de metalotioneínas
- Atividade da catalase
- Atividade da glutationa *S*-transferase
- Capacidade antioxidante total
- Lipoperoxidação

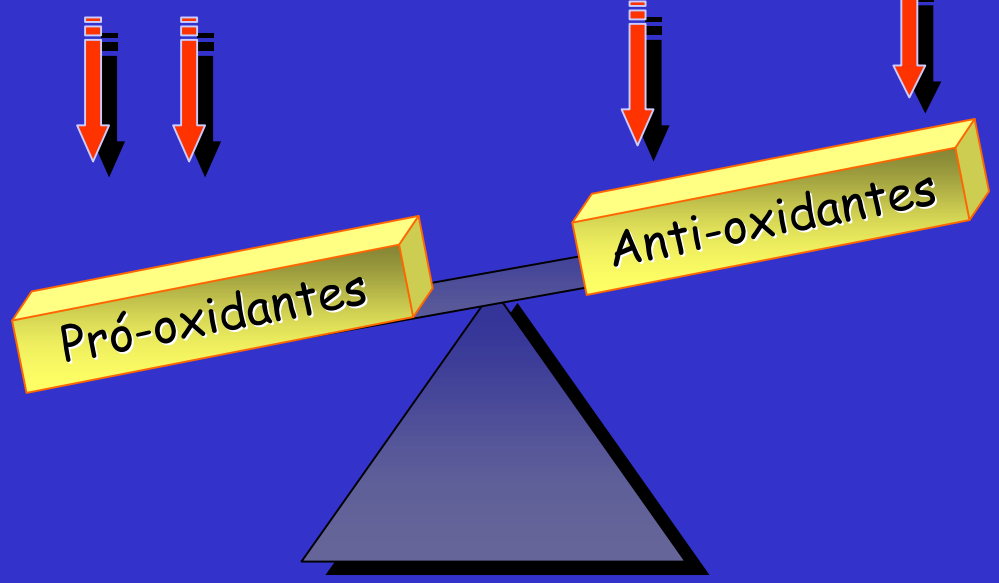
Uso de respostas antioxidantes e estresse oxidativo como biomarcadores de poluição aquática

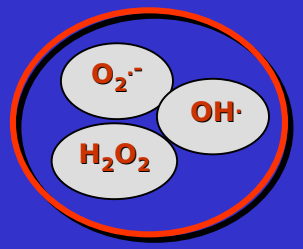
A relação entre as concentracões de agentes pró-oxidantes e anti-oxidantes determina a probabilidade de ocorrer estresse oxidativo em uma célula

- Metais
- Pesticidas
- Hidrocarbonetos
- Toxinas

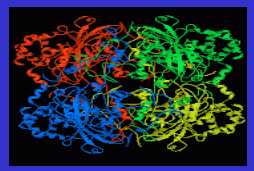
Enzimáticos
- Catalase
- GST
- GPx
- SOD

Não enzimáticos
- Vit. C
- Vit. E
- GSH





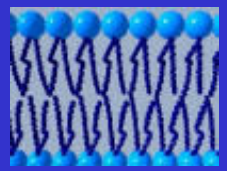
Estresse Oxidativo: um desequilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e anti-oxidantes, em favor dos pró-oxidantes



Proteínas

Oxidação de Aminoácidos

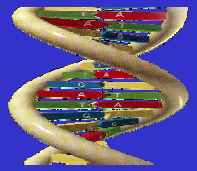
Inibição enzimática



Lipídios

Oxidação de ácidos graxos inssaturados

Redução da fluidez da membrana



DNA

Oxidação de bases

Mutações localizadas

Controle
Poluído I
Poluído II
Poluído III
Poluído IV

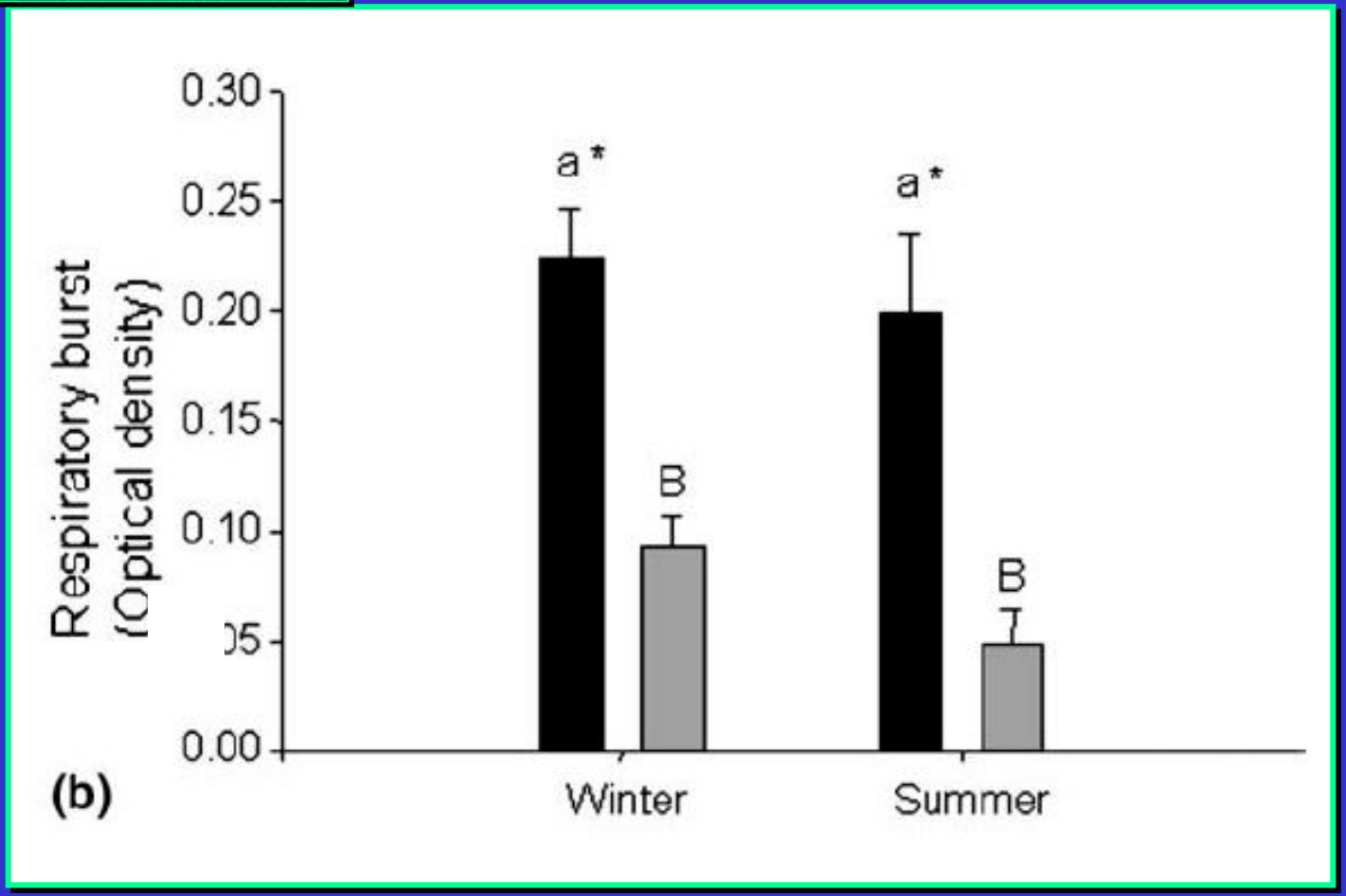
Fígado
MT

Fígado
Metais

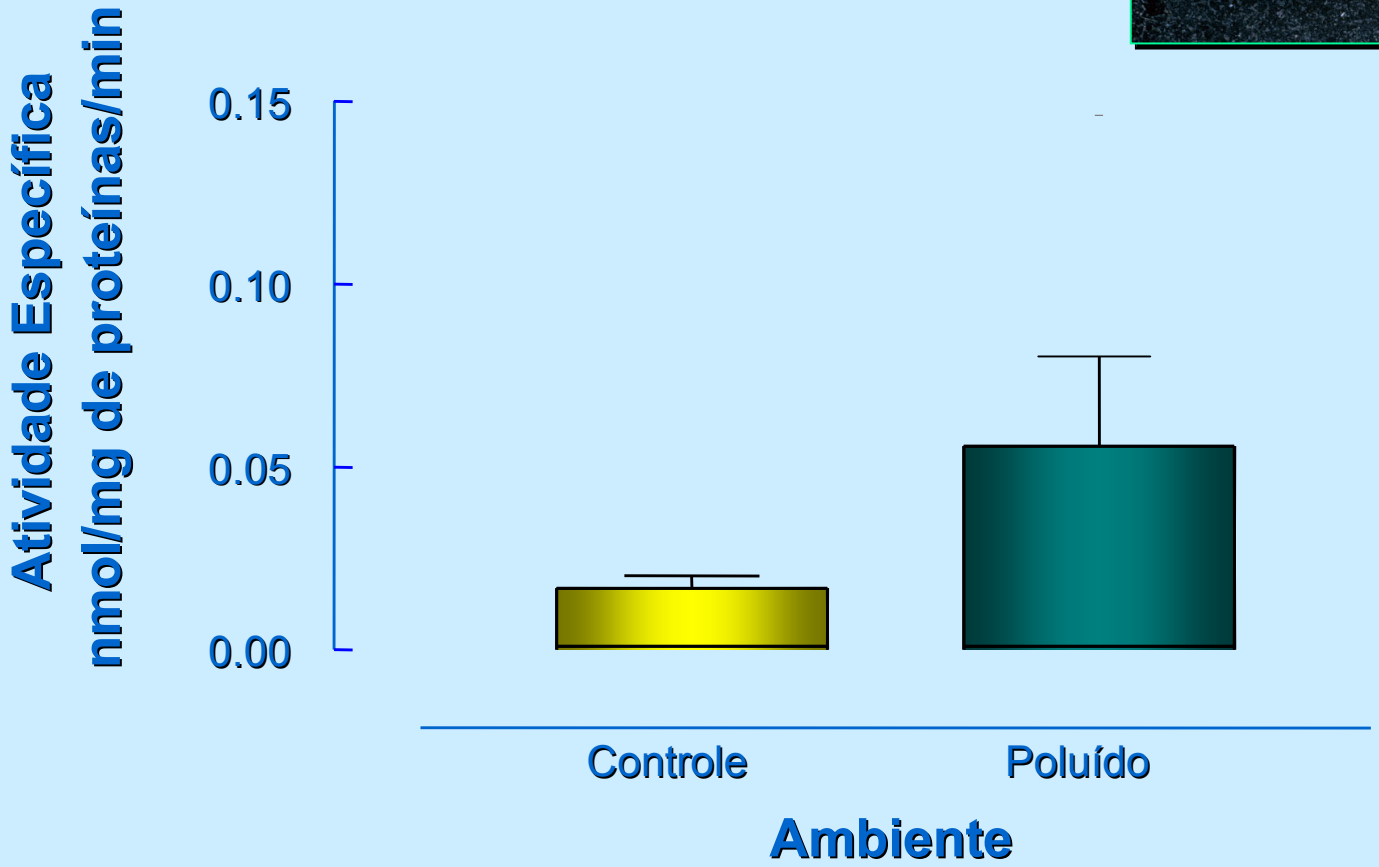
Sangue

Imunocompetência

Explosão respiratória



Atividade colinesterásica – *Micropogonias furnieri - RS*



Atividade Colinesterásica

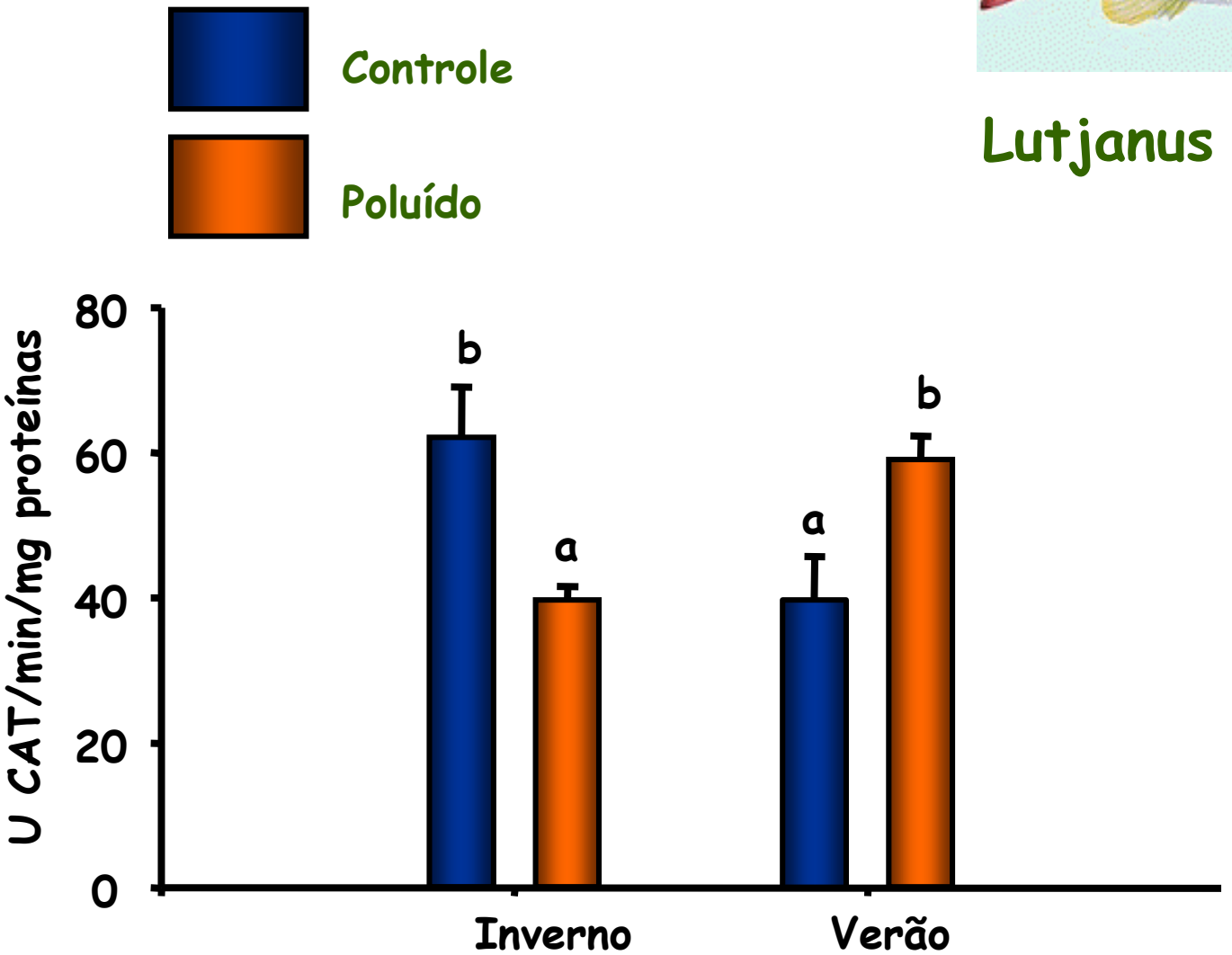
Table 2
Substrate affinity constant (K_m) and maximal activity (V_{max}) of brain cholinesterase from brain in *Cathorops spixii* and *Micropogonias furnieri*

Fish	Season	Site	K_m	V_{max}
Micropogonias furnieri.	Summer	Reference	0.201 ± 0.076a	18.6 ± 1.2a
		Polluted	0.158 ± 0.067a	12.5 ± 2.8b
	Winter	Reference	0.179 ± 0.039a	11.6 ± 4.6b
		Polluted	0.170 ± 0.029a	17.5 ± 5.3a
Cathorops spixii	Summer	Reference	0.196 ± 0.078a	21.1 ± 5.0a
		Polluted	0.155 ± 0.048a	31.0 ± 8.0b

K_m is expressed in mM and V_{max} in nmol min^{-1} mg of $proteins^{-1}$.
Values are expressed as mean ± 1 SD ($n = 4$–10). Equal letters indicate absence of significant differences ($P > 0.05$) for each kinetic parameter and fish species.

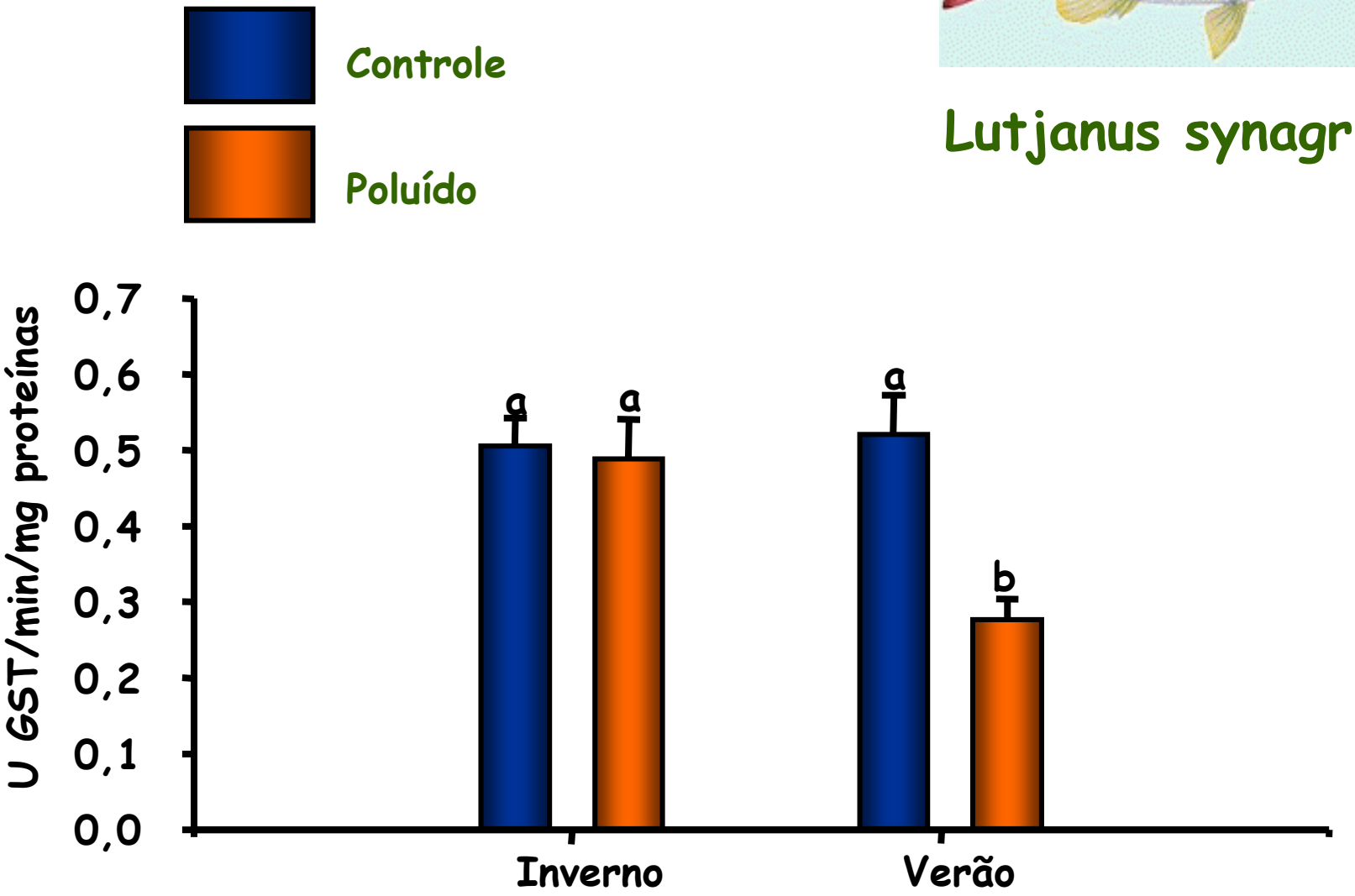
CATALASE

Lutjanus synagris



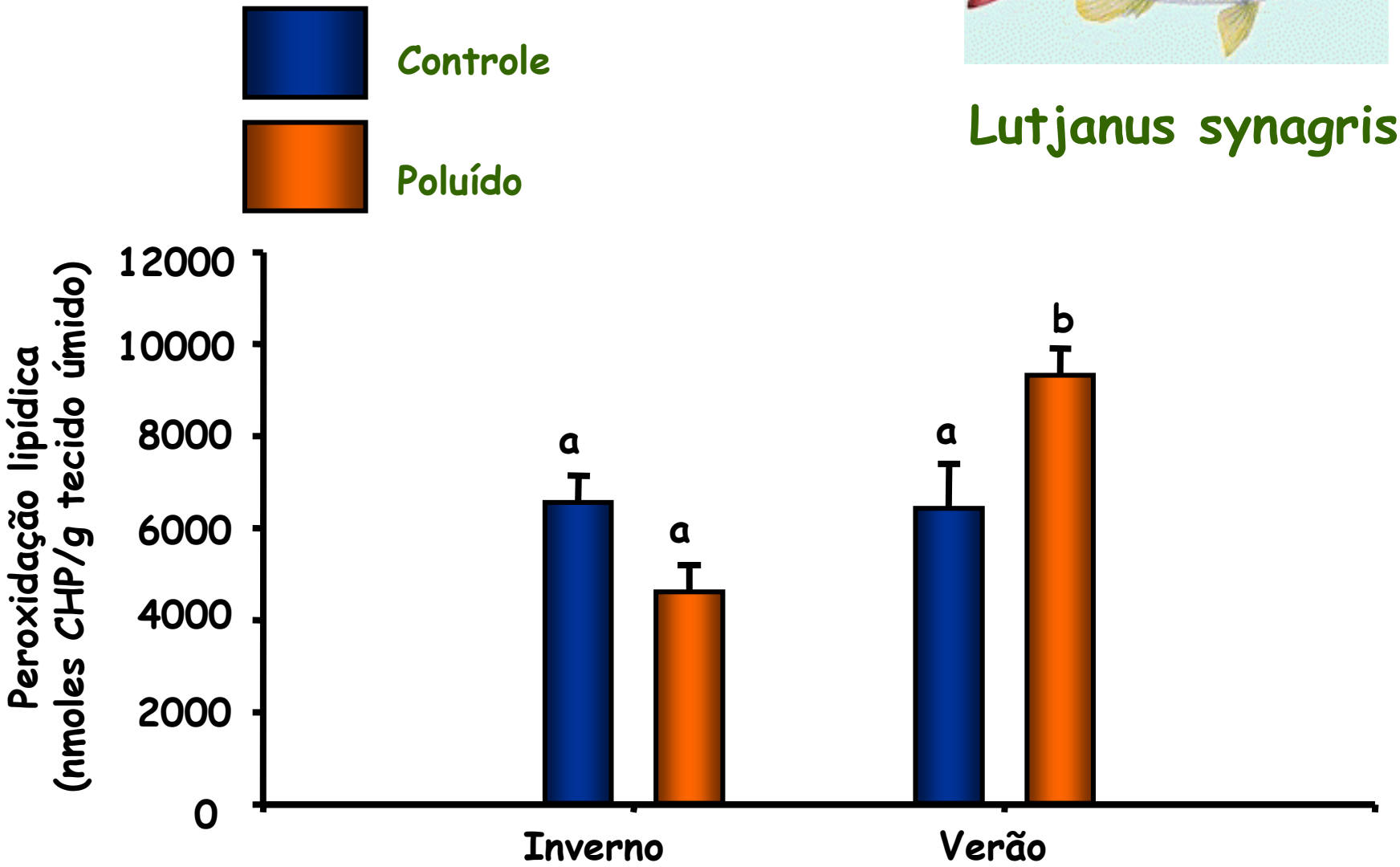
GST

Lutjanus synagris

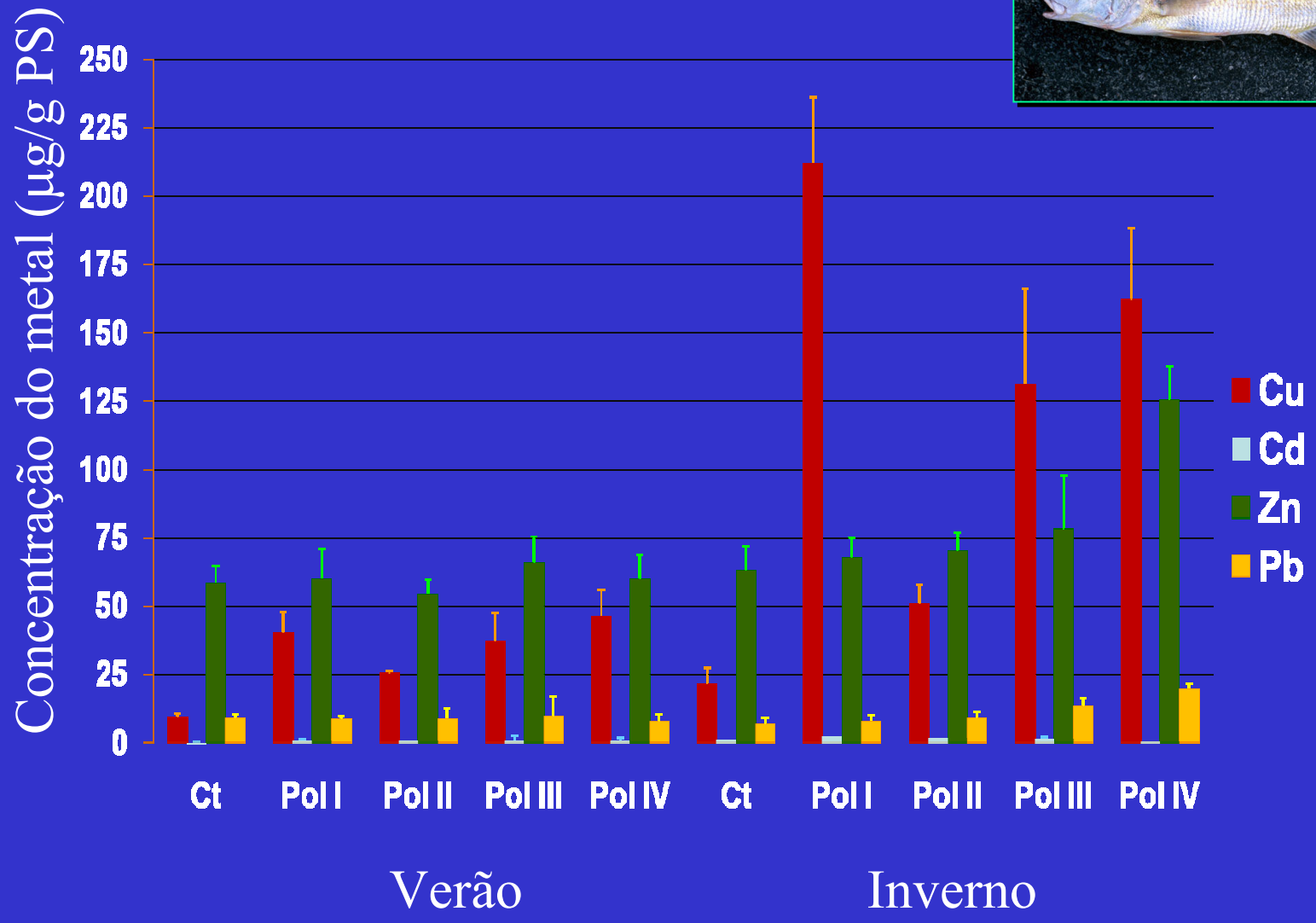


LPO

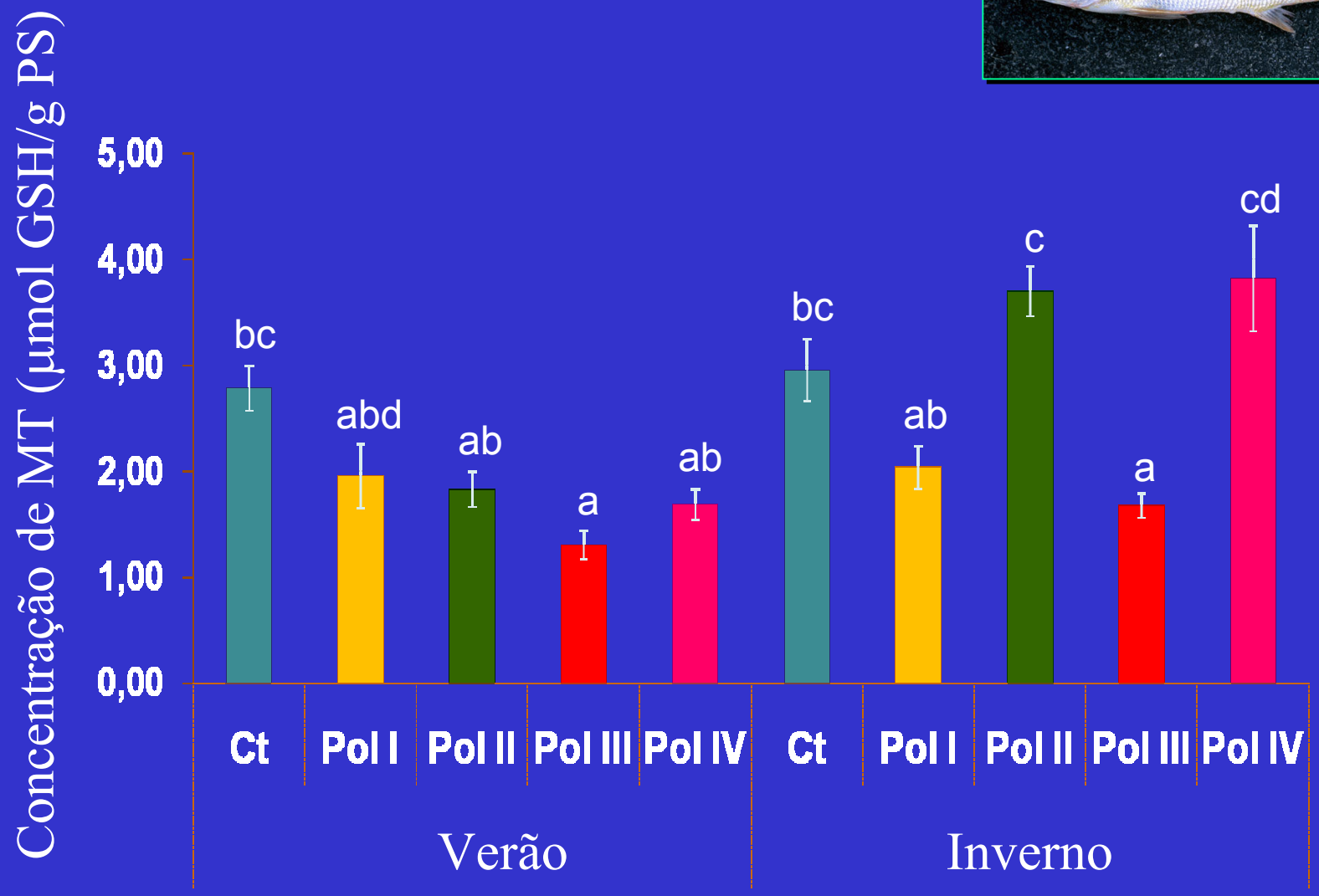
Lutjanus synagris



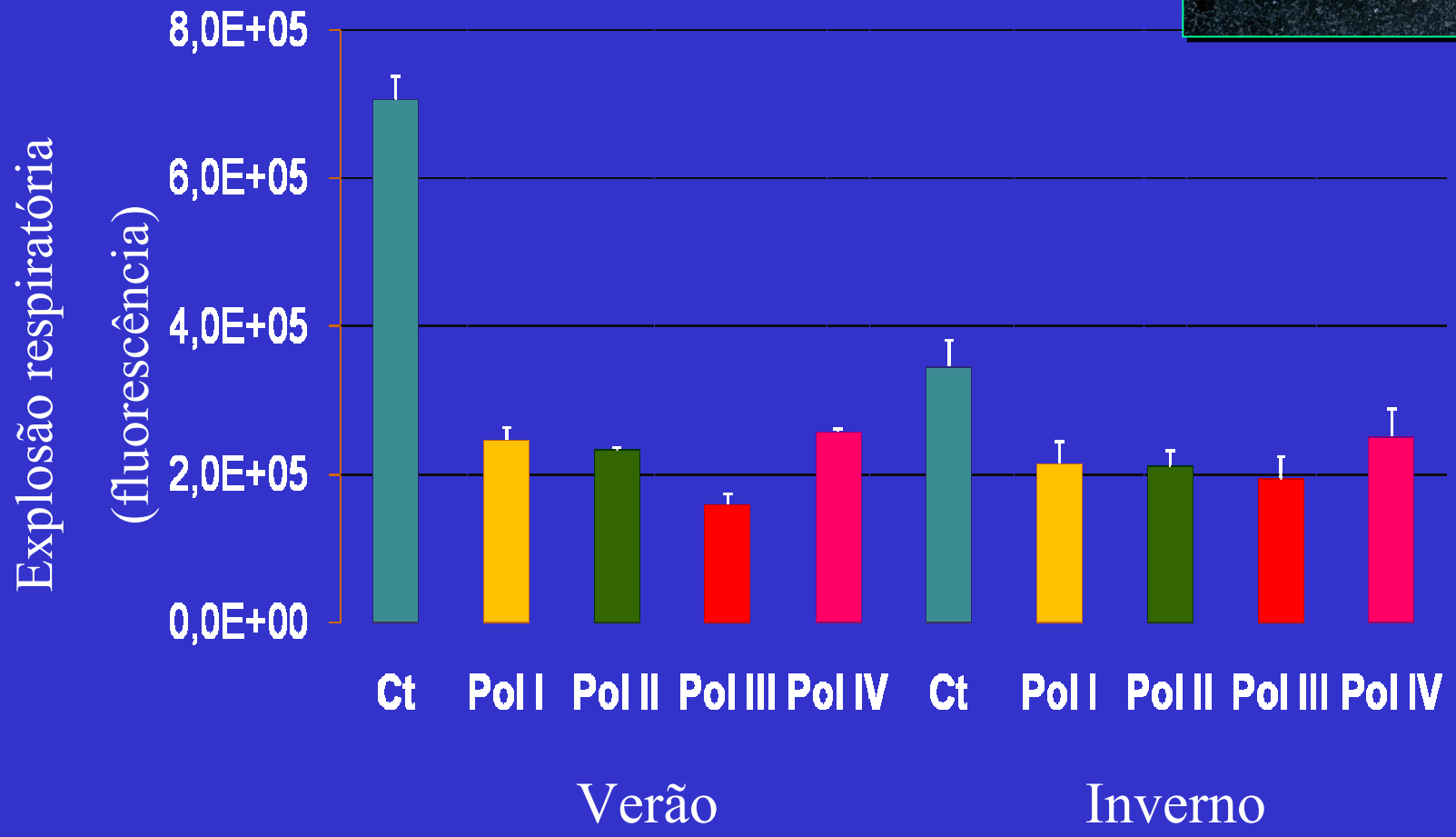
Contaminação por metais



Concentração de Metalotioneínas



Explosão respiratória



ESTUDOS EM LABORATÓRIO

Paralichthys orbignyanus

(335.7 ± 51.5 g; n=30; ambos sexos)

Sangue

Dano de DNA

Ensaio Cometa

Teste do Micronúcleo

Fígado

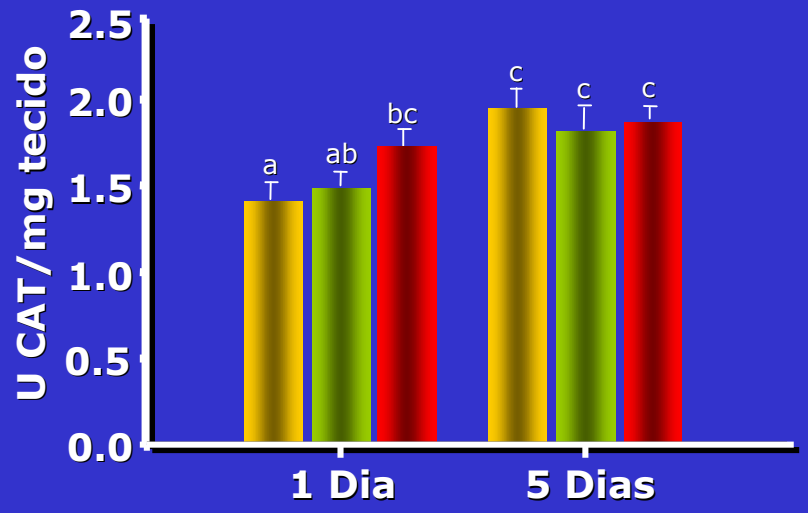
CAT

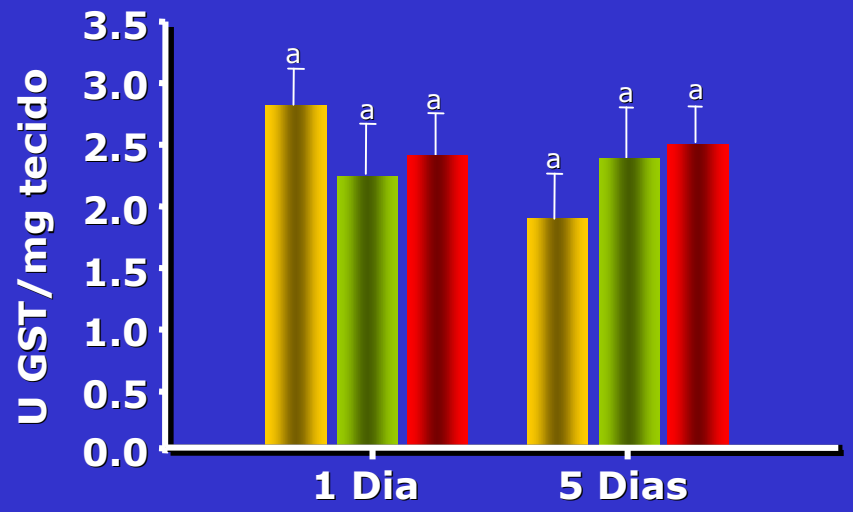
GST

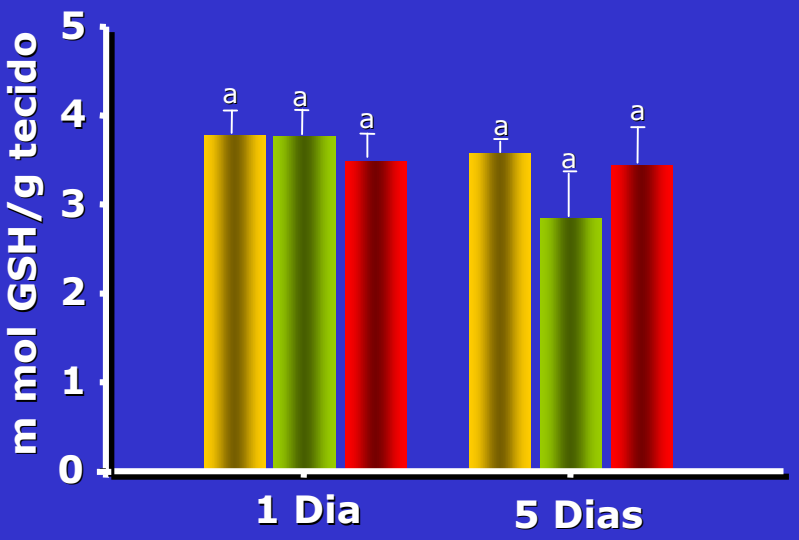
MT

LPO

Biomarcadores de exposição

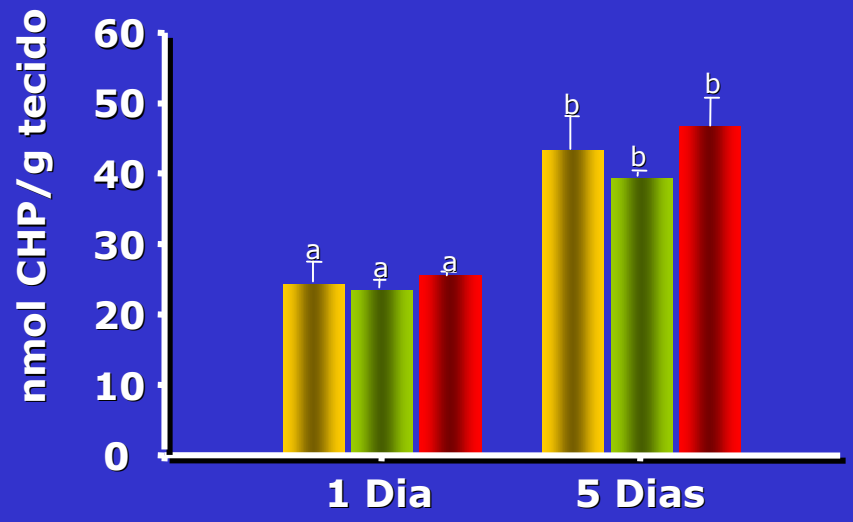


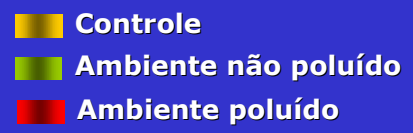


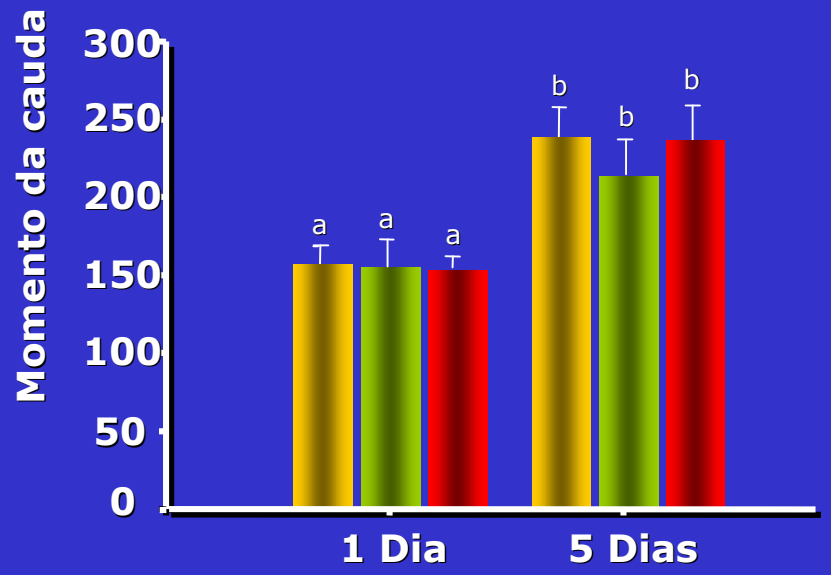


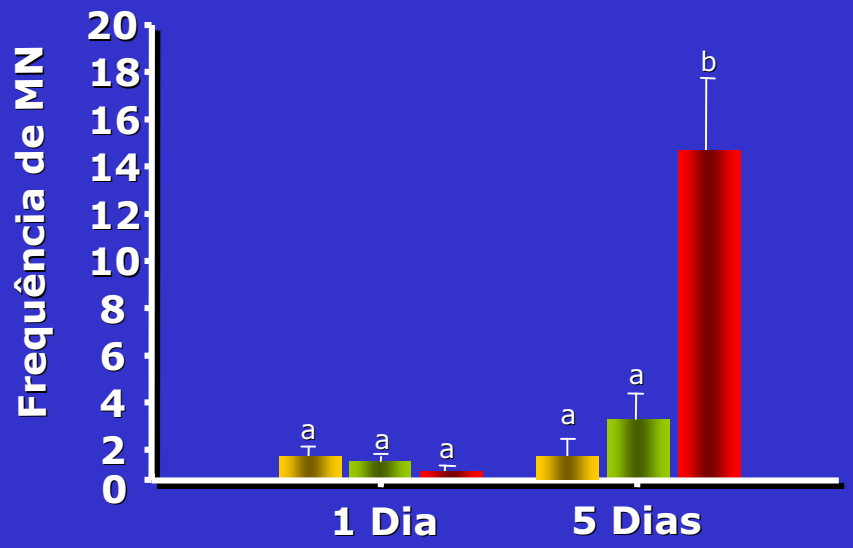
Controle
Ambiente não poluído
Ambiente poluído

Biomarcadores de efeito









Biomarcadores moleculares de contaminação aquática

Afonso Celso Dias Bainy

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Florianópolis, SC, Brasil
bainy@mbox1.ufsc.br

UFSC

Biomarcadores fisiológicos e genéticos de contaminação aquática

Cláudia Bueno dos Reis Martinez
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Ciências Fisiológicas
Londrina, PR, Brasil
cbueno@uel.br

Universidade Estadual de Londrina

Biomarcadores morfológicos de contaminação aquática

Marisa Narciso Fernandes
Universidade Federal de São Carlos
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Carlos, SP, Brasil
dmnf@ufscar.br

inct
institutos nacionais
de ciência e tecnologia

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Toxicologia Aquática (INCT-TA)

CNPq

FURG

UFSC

UFPR

Universidade Estadual de Londrina

ufsicat

VIRTUS IMPAVIDA
UFPE

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Toxicologia Aquática (INCT-TA)

Região Nordeste

Pernambuco
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

Região Sudeste

São Paulo
UFSCAR – Universidade Federal de São Carlos

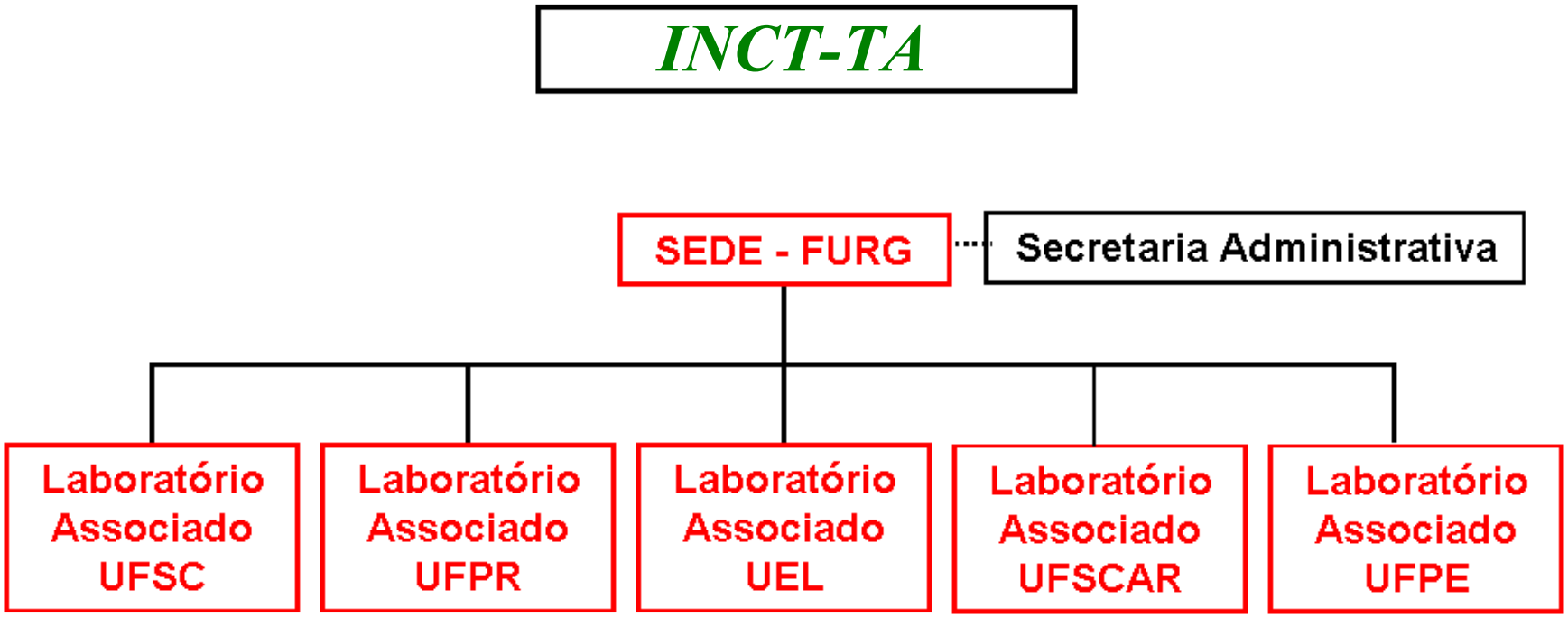
Região Sul

Paraná
UFPR – Universidade Federal do Paraná
UEL – Universidade Estadual de Londrina

Santa Catarina
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

Rio Grande do Sul
FURG – Universidade Federal do Rio Grande

INCT-TA: Estrutura Organizacional



INCT-TA: Laboratórios Associados

(1) Laboratório de Zoofisiologia - Instituto de Ciências Biológicas – FURG

(2) Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática – Instituto de Oceanografia – FURG

(3) Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica - Departamento de Bioquímica – UFSC

(4) Laboratório de Fisiologia Comparativa da Osmoregulação - Departamento de Fisiologia – UFPR

(5) Laboratório de Toxicologia Ambiental – Departamento de Farmacologia – UFPR

(6) Laboratório de Citogenética Animal – Departamento de Genética – UFPR

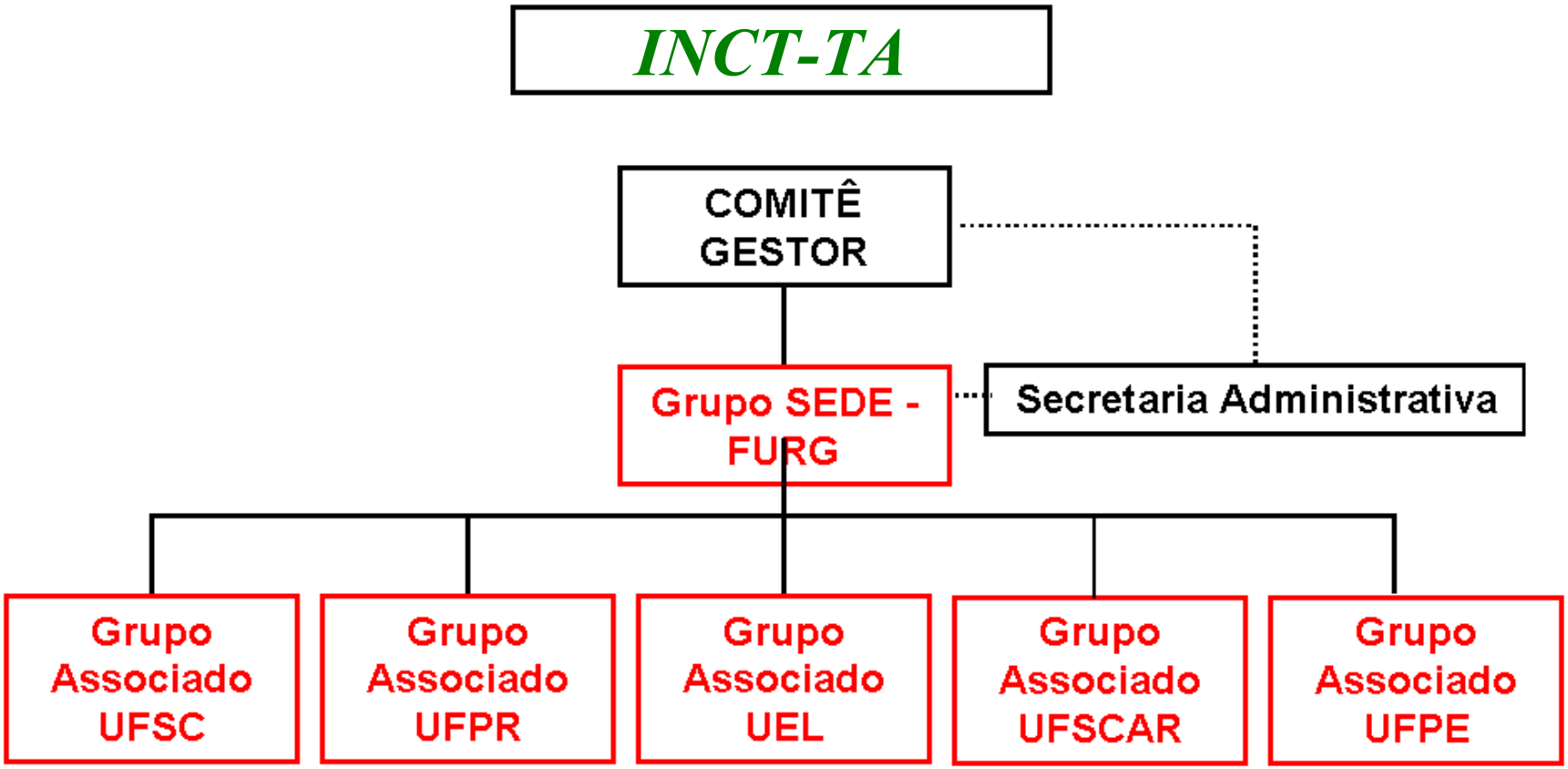
(7) Laboratório de Toxicologia Celular – Departamento de Biologia Celular – UFPR

(8) Laboratório de Ecofisiologia Animal - Departamento de Ciências Fisiológicas – UEL

(9) Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa - Departamento de Ciências Fisiológicas – UFSCAR

(10) Laboratório de Ecotoxicologia Aquática - Departamento de Zoologia – UFPE

INCT-TA: Estrutura Funcional



INCT-TA: Grupos Associados

Responsáveis pelos Grupos Associados:

- Grupo Sede – FURG – Prof. Dr. Adalto Bianchini
- Grupo Associado – UFSC – Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy
- Grupo Associado – UFPR – Profa. Dra. Helena Cristina da Silva de Assis
- Grupo Associado – UEL – Profa. Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez
- Grupo Associado – UFSCAR – Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes
- Grupo Associado – UFPE – Prof. Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho

INCT-TA: Comitê Gestor

- Prof. Dr. Adalto Bianchini – FURG (Coordenador do INTA)
- Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy – UFSC (Vice-Coordenador do INTA)
- Profa. Dra. Helena Cristina da Silva de Assis – UFPR
- Profa. Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez - UEL
- Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes – UFSCAR
- Prof. Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho – UFPE
- Dr. Ademilson Josemar Zamboni (Ministério do Meio Ambiente)
- Prof. Dr. Christopher M. Wood – McMaster University (Canadá)

INCT-TA

O INCT-TA tem como tema central a **Toxicologia Aquática**, com abordagem focada no uso de ferramentas químicas, biológicas e de modelagem ecotoxicológica, visando o desenvolvimento e aplicação de biomarcadores de contaminação de recursos hídricos por substâncias químicas oriundas das atividades humanas nos mais diferentes setores da produção, tais como na agricultura, pecuária, aqüicultura, pesca, indústria, portos e extração vegetal e mineral. Além disso, aborda os problemas da contaminação e saúde ambiental em função dos dejetos urbanos e daqueles oriundos do uso doméstico.

INCT-TA

O INCT-TA tem um programa bem definido, com metas quantitativas e qualitativas, compreendendo quatro missões: pesquisa, formação de recursos humanos, transferência de conhecimentos à sociedade e transferência de conhecimentos para o governo, com vistas ao estabelecimento de políticas públicas voltadas à preservação do meio ambiente.

INCT-TA

Formação de Recursos Humanos:

O INCT-TA visa contribuir na formação de recursos humanos de alta qualificação e capacidade para desenvolver estudos avançados em toxicologia aquática e atividades de vanguarda relacionadas ao desenvolvimento e aplicação de ferramentas químicas, biológicas e de modelagem ecotoxicológica, com vistas à conservação dos recursos hídricos brasileiros.

INCT-TA

Transferência de Conhecimentos à Sociedade:

O INCT-TA objetiva transferir conhecimentos para a sociedade sobre os diferentes aspectos da contaminação e poluição aquática, sobretudo de seus prejuízos para a saúde ambiental e humana, bem como sobre a necessidade de preservação dos recursos hídricos para o bem-estar da sociedade como um todo.

INCT-TA

Transferência de Conhecimentos para o Governo:

O programa do INCT-TA contempla a transferência de conhecimentos para os órgãos governamentais, visando a implementação de programa de monitoramento e controle da qualidade dos recursos hídricos brasileiros com base na aplicação de ferramentas modernas de detecção de efeitos biológicos de microcontaminantes na água.

INCT-TA

Pesquisa:

O programa de pesquisa do INCT-TA pretende, de forma inédita, realizar a avaliação integrada de um grande número de biomarcadores morfológicos, bioquímicos, fisiológicos, genéticos, imunológicos e comportamentais, visando à identificação, calibração e aplicação dos mais adequados, práticos e econômicos em políticas públicas relacionadas ao monitoramento da qualidade ambiental, conservação dos recursos hídricos e estabelecimento de critérios de qualidade de água para preservação da biota aquática.

Legislação Ambiental

CAPÍTULO III

DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

Seção I

Das Disposições Gerais

Art. 7º Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Parágrafo único. Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos, ressalvado o disposto no § 3º do art. 34, desta Resolução.

Art. 8º O conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Público.

BIOMARCADORES COMO FERRAMENTAS COMPLEMENTARES DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ÁGUAS

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
de Toxicologia Aquática (INCT-TA)

INCT-TA

Coordenação do INCT:

Coordenador: Dr. Adalto Bianchini

Contato:

Universidade Federal do Rio Grande (FURG)
Instituto de Ciências Biológicas
Av. Itália km 8 – Campus Carreiros
96.201-900 – Rio Grande – RS
Fone: (53) 3233-6853
FAX: (53) 3233-6848
E-mail: inct.ta@furg.br
http://www.cnpq.br/programas/inct/_apresentacao/inct_toxicologia_aquatica.html

Obrigado