

ESTUDO INVESTIGATIVO DA BIOINDICAÇÃO PARA O PEIXE *PHALLOCEROS CAUDIMACULATUS* (GUARUZINHU, BARRIGUDINHO) EM CROMO

PEREIRA, FRANCISCO OSVALDO PERES¹; SANCHES, PEDRO JOSE FILHO²

¹Acadêmico em Gestão Ambiental no IFSul; ²Prof. Dr. do departamento de química do IFSul.
frangian@terra.com.br / pjsans@ibest.com.br

1 INTRODUÇÃO

Este trabalho tem por escopo a utilização de uma espécie amplamente distribuída em diferentes ambientes aquáticos e bastante resistentes, o barrigudinho cujo nome científico é *Phalloceros caudimaculatus*. Observando-se que nada foi encontrado na bibliografia referente ao uso deste organismo como bioindicador da contaminação por metais pesados.

Para este propósito, os mais adequados são os peixes, assim como os mamíferos, pois sofrem bioacumulação, respondem a agentes mutagênicos em baixas concentrações e são capazes de ativar o citocromo P450 (enzima responsável pelo metabolismo oxidativo de compostos lipofílicos de origem endógena ou exógena como hormônios esteróides ou poluentes ambientais), em resposta a poluentes (GOKSOYR *et al.*, 1991; ABNT, 2003b e ABNT, 2004c).

No caso de ensaios com substâncias mutagênicas presentes na água ou em sedimentos, estes podem ser realizados em condições laboratoriais com o uso de vários tipos de animais como, por exemplo, anfíbios, moluscos e peixes, os quais servirão como bioindicadores da poluição do meio aquático (MINISSI; CICCOTTI; RIZZONI, 1996).

No entanto, deve-se ressaltar que devido à variedade de possíveis efeitos de um xenobiótico, um teste isolado não é suficiente para avaliar a atuação deste sobre um ser vivo. Também se deve considerar que os efeitos encontrados podem ficar restritos a espécie estudada bem como a efeitos sinérgicos ou antagônicos com outras substâncias disponíveis no meio (RABELLO-GAY; RODRIGUES; MONTELEONE-NETO, 1991 e FRENZILLI; NIGRO; LYONS, 2008).

Portanto, a utilização de animais como bioindicadores é extremamente útil, especialmente para a avaliação de impactos ambientais decorrentes de descargas de poluentes em biota aquática (IBAMA, 1987). Os 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 alvo.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Os experimentos foram realizados com o peixe *Phalloceros caudimaculatus*. Os peixes foram coletados com uma rede de mergulho feita de cetim, em córregos urbanos localizados no bairro Laranjal na cidade de Pelotas do estado do Rio Grande do Sul, após a coleta os corpos teste foram postos em um

recipiente contendo a água do córrego até sua ida ao laboratório de química do IFSul, onde se localiza o GPCA (Grupo de Pesquisa em Contaminantes Ambientais). No laboratório os peixes foram confinados em aquários de 30L em boas condições conforme as recomendações do IBAMA (1987) com bomba de oxigênio, termostato com aquecedor regulado a 27°C e pH regulado entre 8,0~5,0, para sua adaptação e procriação.

Os testes de toxicidade aguda foram realizados em triplicata, com dicromato de potássio, em ambiente estático, sem substituição e sinfonagem da água, com duração de 96 horas e sem alimentação (ABNT, 1993). Para esses testes, os peixes ficaram em confinamento em ambiente adequado por cerca de um a dois meses para sua recuperação, após esse período os corpos testes foram separados em 6 grupos, com 8 indivíduos cada, um grupo padrão, sem contaminante, e 5 grupos com concentrações de contaminante diferentes de forma crescente com 50 mg L⁻¹, 100 mg L⁻¹, 150 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹.

Os corpos teste foram posto em recipiente com capacidade de 4 L, contendo 8 indivíduos em cada recipiente, onde ficaram 24 horas em adaptação em águas com dureza total de 40 mg L⁻¹ de CaCO₃, oxigênio dissolvido entre 7,5 e 7,0, pH variando entre 7,10 e 6,90 e condutividade de 165,5 a 181,2 μs cm⁻¹ (GEORGETTI, 2010). Após essa adaptação os recipientes foram contaminados e passaram por 96 horas em teste. A cada 24 horas de teste, os indivíduos mortos eram quantificados e retirados do recipiente e os parâmetros eram quantificados e apontados. Para a análise estatística da CL50 foi utilizado o "Método Behrens-Karber" com a fórmula KLASSEN (1991).

Para a avaliação da bioacumulação foram utilizados 3 aquários com cerca de 25 corpos testes em cada aquário, um aquário padrão e dois aquários com contaminação de dicromato de potássio acima dos padrões de potabilidade definidos pela Portaria 1.469, de 29/12/2000, do Ministério da Saúde que são 0,05 mg L⁻¹ de cromo hexavalente. O primeiro aquário foi contaminado em dobro dos padrões com 0,09 mg L⁻¹ de cromo passando por um período confinado em cerca de 3 meses. Para o segundo aquário a contaminação ocorreu em 10 vezes acima dos padrões de potabilidade com 0,51 mg L⁻¹ de cromo hexavalente onde passou por cerca de 1 mês e 15 dias em ambiente contaminado. Já para o aquário padrão os peixes ficaram cerca de 3 meses confinados.

Após esses períodos de confinamentos, os indivíduos foram mortos e tiveram de ser submetidos ao método DURAL (2006) de digestão da massa corporal, onde foram secos em estufa a 105°C até peso constante, após as amostras secarem, foram pesadas 0,5 g de massa seca e posto em tubos de ensaio para serem digeridos com uma mistura de HNO₃ concentrado e HClO₄ (2:1 v/v), aquecida a 60°C por 12 horas. Para a determinação quantitativa dos metais nas amostras das águas e dos peixes, foi realizada por ICP-OES, com equipamento da marca Perkin Elmer, modelo Optima 3300, utilizando argônio como gás inerte.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de toxicidade aguda foram feitos em triplicata, obtendo os seguintes CL 50 de resultados: no primeiro teste chegou-se a 187,5 mg L⁻¹, o segundo foi de 162,5 mg L⁻¹ e o último teste chegou a 143,75 mg L⁻¹. A CL50 96h média no guaruzinhu foi de 164,58 mg/l de cromo, tendo uma RSD de 13,33%. No recipiente padrão não houve mortalidade. No recipiente com concentração de 50 mg L⁻¹ a mortalidade variou entre 0,0 % e 37,5 % dos indivíduos. Em 100 mg L⁻¹ a

mortalidade alterou entre 25,0 % e 50,0 %. Em 150 mg L⁻¹ variou entre 37,5 % e 50,0 %; em 200 mg L⁻¹ variou-se entre 50,0 % e 62,5 % e no de 300 mg L⁻¹ obteve uma mortalidade de 100% dos indivíduos em exposição. Os resultados obtidos nos testes foram similar ao alcançado no CRUZ (2008). Comparando aos resultados foram bem superiores ao espécime em estudo no ASHISH (2008).

Os parâmetros das águas se mostraram homogêneos nos testes, onde o oxigênio dissolvido variou-se entre 7,5 e 5,3, o oxigênio dissolvido foi decrescendo com o passar das 96 horas, onde foi constatado que os grupos que sobreviveram mais exemplares foram os grupos que tiveram o menor oxigênio dissolvido.

A dureza é um parâmetro que para ser medido deve-se retirar um volume da amostra, não foi possível fazer essa análise durante o ensaio, pois acabaria modificando o volume final. Mas a dureza foi analisada antes da adaptação dos peixes na água descontaminada e após as 96h em águas contaminadas, onde o resultado mostrou que não se alterou significativamente a dureza que esteve entre 40 e 45.

O pH foi um quesito a parte, pois quanto maior a concentração do metal mais baixo é o pH, mas com o passar das 96h o pH foi subindo, devido a concentração de matéria orgânica eliminada pelos peixes, variou entre 5,10 à 7,50.

A temperatura sempre esteve entre 19,5 a 22,7 °C, mostrando que não houve interferência com os fatores dos testes, mas sim com fatores externos, o clima.

A condutância da água alternou entre os valores de 220,4 a 260,1 $\mu\text{s cm}^{-1}$. A condutividade da água não foi constante durante o experimento, mostrou que quanto maior a concentração de metal, maior será sua condutância devido ao aumento de sólidos dissolvidos.

Os peixes que foram expostos as maiores concentrações mostraram mudanças comportamentais observadas como, o nado desequilibrado, próximo à superfície e batimento opercular elevado. Já os de menor concentração de metal demonstraram o mesmo comportamento mas ficaram mais ao fundo dos recipiente. Todos os peixes apresentaram um alto índice de estresse.

O ensaio da bioacumulação, foram feito com três grupos, o primeiro grupo ficou confinado cerca de 3 meses em aquário com 0,9 mg L⁻¹, o dobro de contaminação dos padrões de potabilidade definidos pela Portaria 1.469. Onde as amostras mostraram um acumulo de 7,8 mg kg⁻¹ de cromo.

O segundo grupo foi exposto ao um período aproximadamente de 1 mês e 15 dias com concentração de 10 vezes acima dos padrões com 0,51 mg L⁻¹, mostrando um enriquecimento das amostras digeridas em 32,0 mg kg⁻¹ do metal analisado.

Para o grupo padrão, onde não houve contaminação do metal, os exemplares ficaram confinados durante 3 meses. Na análise dos peixes digeridos foi de 2,4 mg kg⁻¹, essa concentra pode-se explicar pela possível acumulo do metal em seu habitat natural, os córregos urbanos que é possível a existência de metais devido a ações antrópicas.

4 CONCLUSÃO

Por conseguinte, a partir do bom embasamento teórico e metodológico desse estudo, e a multiplicidade dos testes é conclusivo afirmar que o desenvolvimento das experiências com os peixes *Phalloceros caudimaculatus* alcançou um excelente desempenho e resultados conclusivos, considerando

importante a utilização destes corpos teste como bioindicador de contaminação, mostrando-se um espécime adequado para o fenômeno da bioacumulação e sendo excelente para resistência no teste de toxicidade aguda.

5 REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – (2003b) Projeto 00:001.44-001 – **Ecotoxicologia aquática** – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 15p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – (2004c) **Ecotoxicologia aquática** – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 17p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – (1993) NBR 12715 – **Água, Ensaio de Toxicidade Aguda com Peixes. Parte I** – Sistema Estático. Rio de Janeiro.

ASHISH K. Mishra and Banalata Mohanty. 2008. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, Volume 26, Issue 2, September 2008, Pages 136-141

CRUZ C. DA, P. CUBO, GOMES G. R., VENTURINI F. P., GUILHERME P. E. & PITELLI R. A. 2008. **Sensibilidade de Peixes Neotropicais ao Dicromato de Potássio**. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 3, n. 1, 2008, 53-55 p.

DURAL, M.; Göksu, M.Z.L. & Özak, A.A. 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. ***Food Chemistry***. 102: 415-421.

FRENZILI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. (2008). The Comet Assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. ***Mutation Research – Reviews in Mutation Research***. Article in press (MUTREV-7886), 13p.

GEORGETTI, M. S., 2010 **Avaliação química e ecotoxicológica de efluentes químicos, visandando seu reuso**. São Carlos 168 p.

GOKSOYR, A. *et al.* (1991). Immunochemical cross-reactivity of 1-naphthoflavone – inducible cytochrome P450 in Liver Microsomes from Different Fish Species and Rat. ***Fish Physiology***. v. 9, p. 1-13

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasil, Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis***. In: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília, 14p., 1987.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasil, Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação da toxicidade aguda para peixes**.

In: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília, p.20-32, 1987.

KLASSEN, C.D., 1991. **Principles of toxicology**. In: Gilman, A.G., Tall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P. (Eds.), Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. McGraw Hill, pp. 49–61.

MINISSI, S.; CICCOTTI, E.; RIZZONI, M. (1996). Micronucleus Test in Erythrocytes of *Barbus plebejus* (Teleostei, Pisces) from Two Natural Environments: a Bioassay for the in Situ Detection of Mutagens in Freshwater. **Mutation Research – Genetic Toxicology**. v. 367, p. 245-251.

MINISTÉRIO DA SAÚDE **Portaria nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000**. (Republicada no DO nº 38 - E de 22/2/2001, Seção 1, pág. 39)

RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. R.; MONTELEONE-NETO, R. (Ed.). (1991). **Mutagenese Teratogenese e Carcinogenese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética.