



Universidade Federal de Minas Gerais



**Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida
Silvestre**

TESE DE DOUTORADO

**O uso de peixes em estudos experimentais ecotoxicológicos "*in situ*",
avaliando os efeitos da poluição aquática urbana em reservatórios.**

Luis Alberto Sáenz Isla

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Motta Pinto-Coelho

Co-orientador: Prof. Dr. Kleber Campos Miranda

Belo Horizonte,

2016

LUIS ALBERTO SÁENZ ISLA

**O uso de peixes em estudos experimentais ecotoxicológicos "*in situ*",
avaliando os efeitos da poluição aquática urbana em reservatórios.**

Tese apresentada ao Programa de PósGraduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Motta Pinto-Coelho
Co-orientador: Prof. Dr. Kleber Campos Miranda

**Belo Horizonte,
2016**

Sáenz Isla, Luis Alberto

O uso de peixes em estudos experimentais ecotoxicológicos "in situ", avaliando os efeitos da poluição aquática urbana em reservatórios.

88 páginas

Tese de Doutorado em Ecologia, Conservação e manejo da Vida Silvestre. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais.

2016

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Motta Pinto-Coelho

Co-orientador: Prof. Dr. Kleber Campos Miranda

Palavras chaves: peixe, tilápias, biomarcadores, metais pesados, poluição aquática urbana, bioacumulação.

***“O ouro tem muito valor e pouca utilidade,
comparado à água,
que é a coisa mais útil do mundo
e não lhes dão valor”
Platão (426 – 348 a.C)***

Esta tese é dedicada às pessoas mais importantes da minha vida:

Para DEUS.

e

**Para Marina e Alberto, meus pais, e as
minhas filhas, Ana Camila (*Camã*) e
Martha Lucia (Malú). Obrigado pela
paciência de esperar eu terminar este
curso.**

Pelo amor que nos une.

**Essa força ajudou muito para eu
continuar batalhando dia a dia. Vocês
estão no meu coração todos os dias.**

Gostaria de agradecer à CAPES PECPG (Processo PECPG 5879116); à empresa NEOENERGIA por financiar a pesquisa com biomarcadores nas usinas hidroelétricas de pequeno porte no estado de Rio de Janeiro; à SUDECAP-Prefeitura de Belo Horizonte (MG) e ao consorcio CONSOMINAS por me apoiar na realização do projeto de bioacumulação de metais em peixes na Lagoa da Pampulha; à empresa consultora ICATU MEDIO AMBIENTE Ltda por me apoiar logisticamente na realização de todos esses projetos.

Pessoalmente gostaria de agradecer à Juliana, minha parceira, quem com muito amor me guiou no entendimento da filosofia deste doutorado e da minha vida.

Também agradeço ao Prof. Ricardo e ao Dr Wanderley, à Angélica e minhas filhas, Iain & Pablo Barrett, Felipe, Kele, Juliana, Janaina, Gustavo e aos meus professores do curso de Ecologia da UFMG e dos outros cursos, para cada um dos amigos do curso (e de outros também), aos meus parceiros do laboratório LGAR: ao Técnico do laboratório Cid Morais, aos meus colegas doutorandos (Irineu Feiden, Rogério Fonseca, Fernanda Freitas e Rangel Santos), às colegas mestrandas (Simone Santos, Denise Pires) e aos estagiários que passaram pelo laboratório durante meu doutorado (Leila, Gabriela, Aloisio, Felipe, Bruna, Rogéria, Daniela, Ana Clara); e ao pessoal do laboratório LABCAI - UFSC.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	04
LISTA DE TABELAS	06
LISTA DE ABREVIATURAS	07
RESUMO	09
ABSTRACT	10
PREÂMBULO	11
CAPÍTULO 1	
Peixes: “sentinela” do monitoramento ambiental?	18
Resumo	19
Abstract	20
1 Contaminação Aquática	21
1.1 Poluição urbana: doméstica ou industrial?	21
1.2 Principais poluentes:	22
1.2.1 Metais pesados	23
1.2.2 Esgoto urbano	25
2 Programas de Biomonitoramento	26
3 O emprego de organismos “sentinela” na avaliação ambiental	29
3.1 Organismos “sentinela”: Tipos e características	29
3.2 Peixes como ferramenta de avaliação ambiental	31
4 Uso de respostas biológicas para avaliação ambiental	34
4.1 Biomarcadores	34
4.1.1 Tipos de biomarcadores	36
4.2 Bioacumulação	39
5 Conclusões	40
6 Bibliografia	41

CAPÍTULO 2

Use of Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) as bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil.

	51
CAPA DO ARTIGO	52
<i>Abstract</i>	53
<i>1 Introduction</i>	54
<i>2 Methodology</i>	55
<i>2.1 Exposure sites</i>	55
<i>2.2 Animals</i>	56
<i>2.3 Water quality</i>	56
<i>2.4 Biometric assessment of fish</i>	56
<i>2.5 Assessment of biomarkers</i>	57
<i>2.5.1 Homogenization and centrifugation of the samples</i>	57
<i>2.5.2 Analysis of enzyme activity and protein dosage</i>	57
<i>2.6 Statistical Analysis</i>	57
<i>3 Results</i>	58
<i>3.1 Water physical-chemical evaluation</i>	58
<i>3.2 Biometric analyzes of fish</i>	58
<i>3.3 Analysis of enzyme activity</i>	60
<i>4 Discussion</i>	60
<i>4.1 Water quality of the river Itabapoana</i>	60
<i>4.2 Assessment of Biomarkers</i>	61
<i>5 Conclusions</i>	62
<i>6 Recommendations</i>	62
<i>7 Acknowledgements</i>	62
<i>8 Bibliography</i>	63

CAPÍTULO 3

Bioacumulação de metais chumbo e zinco em peixes durante o Programa de Biomonitoramento Ecotoxicológico na represa da Pampulha, Belo Horizonte

(MG).	65
Resumo	66
Abstract	67
1 Introdução	68
2 Materiais e Métodos	69
2.1 Locais de exposição	69
2.2 Animais em estudo	71
2.3 Amostragem	71
2.3.1 <i>Experimento com os organismos “sentinela”</i>	71
2.3.2 Coleta de água e sedimento	73
2.4 Análises Estatísticas	74
3 Resultados	74
3.1 Concentração de metais na água	74
3.2 Concentração de metais no sedimento	74
3.3 Concentração de metais (brânquias e músculo)	74
3.4 Análise de Componentes Principais (PCA)	77
4 Discussão	78
4.1 Poluição de metais na água e no sedimento	78
4.2 Poluição de metais no tecido dos peixes	79
5 Conclusões	81
6 Recomendações	82
7 Agradecimentos	83
8 Bibliografia	82
CONCLUSÕES FINAIS	86
POSSÍVEIS APLICAÇÕES	87

LISTA DE FIGURAS

Figura P.1.- Relação entre o compartimento biótico e abiótico em um ecossistema aquático sem poluição urbana (A) e com influência da poluição urbana (B)	12
Figura P.2.- Aplicação dos estudos ecotoxicológicos no ecossistema aquático em relação ao monitoramento ambiental tradicional	13
Figura 1.1.- Peixes como organismos “sentinela”. Laboratório de biotransformação e fonte de informação ambiental para programas de biomonitoramento (Fonte própria)	32
Figura 1.2.- Modelo geral que descreve a origem e o destino dos xenobióticos lipofílicos nos peixes. Figura adaptada de Walker <i>et al.</i> (2012)	33
Figura 1.3.- Relação esquematizada das ligações entre as respostas biológicas em diferentes níveis organizacionais (Walker <i>et al.</i> , 2012)	35
Figura 1.4.- Relações entre a doses e exposição externa, monitoramento ambiental, biomonitoramento (BM), e respostas (i.e. ocorrência doenças). A importância da toxicocinética (TK) para as relações entre doses interna e externa e entre biomarcadores de doses internas. Relação fechada entre a absorção no órgão crítico e a dose alvo para efeito crítico, tanto como a importância da susceptibilidade para efeitos adversos (críticos) como indicado pelos biomarcadores de susceptibilidades (BS) (Fonte: Nordberg, 2010).	37
Figure 2.1- Location of the PCHs on Itabapoana river (RJ/ES, Brazil)	55
Figure 2.2 - Variations in markers of water quality at reservoirs PCH1 and PCH2 in Itabapoana river, over the years 2011 to 2013 (Source Neoenergy). Differences in parameters were compared using Student's t-test: a) dissolved oxygen (p= 0.000002); b) electrical conductivity (p= 0.002316); c) pH (p= 0.073506); d) ammonia (p= 0.007973); e) nitrate (p= 0.447107); f) chlorophyll-a (p= 0.075106). * Indicates a significant difference (p <0.05) between the reservoirs.	59

Figure 2.3 - Changes in enzyme activities of EROD and GST biomarkers 60 respectively; comparing the results between sampling sites (A and C) and between PCH1 and PCH2 reservoirs (B and D).

Figura 3.1.- Carta batimétrica do Reservatório da Pampulha – 2010 70 (Resck *et al.*, 2010). Área dos locais de exposição (estrelas vermelhas).

Figura 3.2.- Esquema de experimentos “in situ” para o estudo de 72 bioacumulação de Pb e Zn na Represa da Pampulha (MG-Brasil)

Figura 3.3.- Variação da concentração de chumbo (mg/kg de tecido) nas 76 brânquias (a) e no músculo (b) de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014).

Figura 3.4.- Variação da concentração do zinco (mg/kg de tecido) nas 77 brânquias (a) e no músculo (b) de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014)

Figura 3.5.- PCA dos dados das concentrações dos metais nas amostras 78 de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Efeitos dos metais pesados em peixes de água doce	25
Tabela 1.2.- Tipos de biomonitoramento ambiental ecotoxicológico de ecossistemas aquáticos, usados para avaliação da qualidade dos corpos de água no mundo.	28
Tabela 1.3.- Requisitos necessários para considerar um ser vivo como organismo “sentinela” (National Research Council, 1991)	30
Table 2.1 - Biometric changes data obtained from fish in the reservoirs studied PCH1 and PCH2, and the control group (C).	58
Tabela 3.1.- Relação das amostragens realizadas durante o presente projeto. Destacando-se as datas de exposição e o número de peixes que foram retirados de cada tanque rede em cada amostragem. Assim como as datas das dragagens na lagoa da Pampulha.	73
Tabela 3.2.- Resultados da análise da concentração de chumbo e zinco, em brânquias e músculo (mg/k de tilápia) nos grupos experimentais e as amostragens na represa da Pampulha.	75

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
Pb	Chumbo
Zn	Zinco
Cd	Cádmio
As III	Arsênio III – Arseniato (AsO_4^{-3})
Cu	Cobre
Hg	Mercúrio
Fe	Ferro
PCB	Bifenilos Policlorados
USEPA	United States Environment Protection Agency
UNEP	United Nations Environment Programme
WHO	World Health Organization
PCH	Pequena Central Hidroelétrica
UHE	Usina Hidreletrica
TR	Tanque Rede
MT	Metaloteoneinas
D-ALAD	Delta aminolevulinarto desidratase
GST	Glutaciona S-transferase
EROD	Etoxiresorufin O-dietilase
AChE	Acetilcolinesterase
CAT	Catalase
DNA	Ácido Dexorribonucleico
HSI	Índice Hepatosomático
GSI	Índice Gonadosomático
LAQUA	Laboratório de Aquicultura
LGAR	Laboratório de Gestão Ambiental de Reservatórios
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
LABCAI	Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica
CCA	Centro de Ciências Agrarias

UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
HCl	Ácido clorídrico
PMSF	PhenylMethylSulfonyl Fluoride
NADPH	β -Nicotinamida Adenina di-nucleotídeo Fosfato: forma reduzida
CNDB	1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
mM	mili Molar
mU	mili Unidades
nm	nanômetros
ton	Tonelada
μ mol	micro mol
ANOVA	Análise de Variância
NH ₄	Amônia ionizada
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
AM	Amostragem do experimento na Pampulha

RESUMO

Os estudos experimentais ecotoxicológicos *in situ* são usados para demonstrar a eficácia do uso do peixe como uma ferramenta de avaliação ambiental em programas de biomonitoramento. Nesta tese são apresentadas pesquisas e conceitos de como os peixes são usados como organismos “sentinelas”, expressando o grau de exposição e de toxicidade dos poluentes antropogênicos sobre estes organismos, assim como o impacto, que estes podem gerar sobre a saúde humana. Destaca-se também o impacto da poluição urbana sobre os ecossistemas aquáticos naturais e artificiais. Para demonstrá-lo esta tese foi dividida nos seguintes capítulos:

Capítulo 1 - Peixes: “sentinelas” do monitoramento ambiental?, o qual apresenta alguns conceitos ecotoxicológicos de importância para o desenvolvimento de experimentos de avaliação ambiental *in situ*.

Capítulo 2 - *Use of Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) as bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil*, que consiste num experimento *in situ*, usando biomarcadores bioquímicos em tilápias expostas por curtos períodos a condições ambientais naturais em reservatórios hidrelétricos.

Capítulo 3 - Bioacumulação de metais chumbo e zinco em peixes durante o Programa de Biomonitoramento Ecotoxicológico na represa da Pampulha, Belo Horizonte (MG), que trata de um experimento *in situ* executado na Represa da Pampulha para determinar se existe bioacumulação de metais pesados nos tecidos das tilápias, durante o processo de dragagem da represa.

Os resultados evidenciaram que os peixes são ótimos organismos sentinelas, e que podem ser usados em programas de biomonitoramento ambiental para ecossistemas aquáticos.

ABSTRACT

Experimental studies ecotoxicological *in situ* are used to demonstrate the effectiveness of using fish as an environmental assessment tool in biomonitoring programs. In this thesis are shown researches and concepts of how the fish are used as organisms "sentinels", expressing the degree of exposure and toxicity of anthropogenic pollutants on these organisms and the impact they can generate on human health. It also emphasizes the impact of urban pollution on natural and artificial aquatic ecosystems. To demonstrate it, this thesis was divided into the following chapters:

Chapter 1 - Fish: "sentinels" of environmental monitoring?, this section show some important ecotoxicologic concepts to the development of *in situ* experiments of environmental assessment

Chapter 2 - Use of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil, that consist in an *in situ* experiments using biochemical biomarkers in tilapias exposed by short time periods to natural environmental conditions in hydroelectric reservoirs.

Chapter 3 - Bioaccumulation of metals lead and zinc in fishes during the Ecotoxicologic Biomonitoring Programm in the Pampulha Reservoir, Belo Horizonte (MG-Brazil), this part of the thesis present an *in situ* experiment carried out in the Pampulha Reservoir to determine if there is bioaccumulation of heavy metals in tilapia tissues during a dredging operations in the reservoir.

The results evidenced that the fish are great sentinels organisms, and can be used in environmental biomonitoring programs for aquatic ecosystems.

PREÂMBULO

Desde os primórdios da civilização, os homens têm conseguido se adaptar às mudanças ambientais e socioeconômicas ocorridas nos diferentes pontos do planeta. Como consequência disso, e com os avanços tecnológicos pós-Revolução Industrial, o homem têm introduzido matéria e energia de diversas formas e níveis nos ecossistemas, especificamente nos ambientes aquáticos.

Com a aparição de uma sociedade pós-moderna, agrupada em grandes cidades e com uma insaciável sede de consumo, o homem acostumou-se a despejar os esgotos urbanos nos corpos de água mais próximos, contaminando-os e, em muitos casos, extinguindo a vida aquática que neles proliferam, sendo os peixes um dos alvos críticos a serem atingidos na cadeia trófica. (Figura P.1)

Esta contaminação pode ser diferenciada em dois grandes tipos de esgoto: urbano de natureza doméstica, e os efluentes industriais. Segundo Ferreira (2005), a degradação dos ecossistemas aquáticos está diretamente relacionada à combinação de industrialização e urbanização. Assim, os processos de desenvolvimento econômico e político são fatores determinantes na ocupação de terras. Os usos variados dos recursos ambientais em estados e cidades colocam, muitas vezes, uma pressão que ultrapassa a *capacidade de resiliência* desses sistemas. Estes efluentes urbanos, na grande maioria de cidades nos países em desenvolvimento como o Brasil, são descarregados nos rios, lagos e mar sem nenhum ou com pouco tratamento, gerando assim impactos ambientais cada vez mais severos.

O tipo de esgoto urbano que a civilização atualmente gera difere muito daquele do início do século XX. Na atualidade, são criados mais de mil de novos compostos químicos anualmente (Walker *et al.*, 2012). Essas substâncias são lançadas no mercado, sendo importante destacar que a ciência não consegue determinar, ainda, quais os possíveis efeitos tóxicos desses químicos xenobióticos nos organismos aquáticos.

Estes compostos ingressam, segundo Walker *et al.* (2012), na cadeia trófica através de sua absorção pelos organismos aquáticos mais simples (plâncton), para depois serem biomagnificados nos organismos maiores, ao longo da cadeia alimentar. Assim, dependendo do tipo de xenobiótico e da sua concentração no meio e do tempo de exposição, os efeitos tóxicos desses químicos podem variar, o que é agravado com o agrupamento destes químicos, formando compostos novos, podendo os efeitos deletérios e sinérgicos serem ainda superiores aos compostos originais, se considerados isoladamente (Lam, 2009).

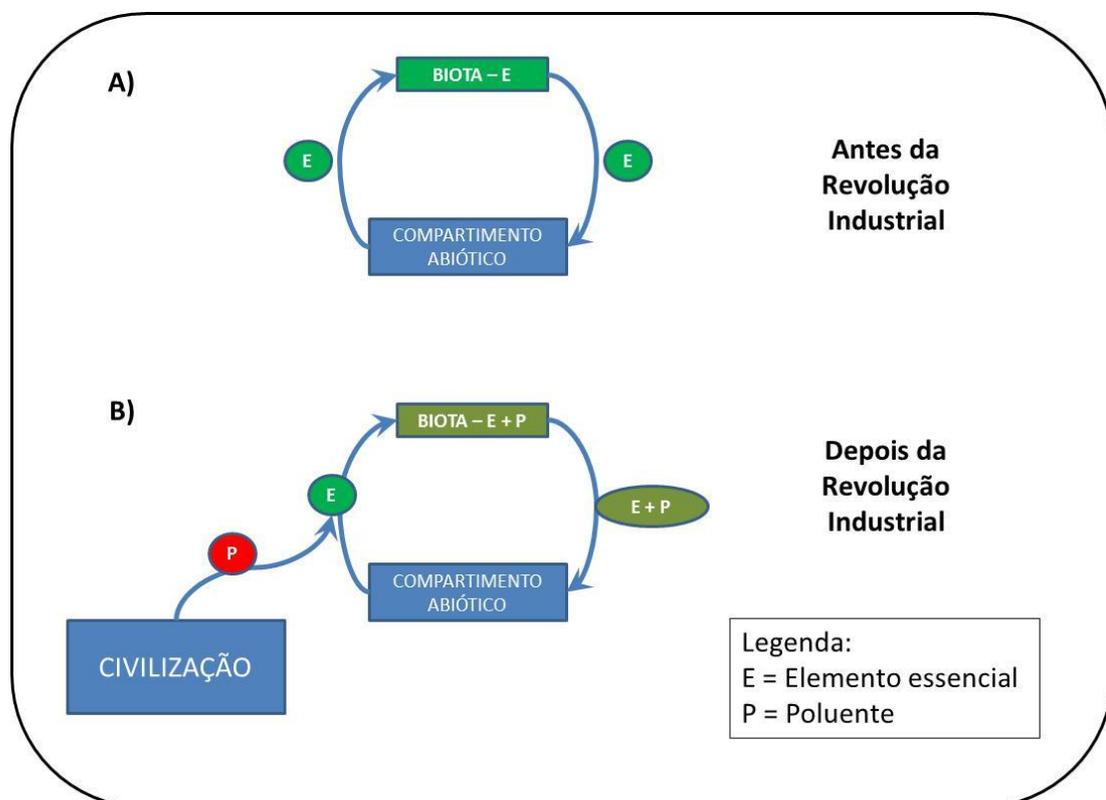


Figura P.1.- Relação entre o compartimento biótico e abiótico em um ecossistema aquático sem poluição urbana (A) e com influência da poluição urbana (B)

Enquanto o monitoramento ambiental abrange apenas um compartimento (abiótico), diferentemente, os estudos ecotoxicológicos abrangem todos os compartimentos e rotas metabólicas existentes no ecossistema aquático. (Figura P.2)

Esses estudos ecotoxicológicos têm como finalidade, segundo Lam (2009), avaliar os efeitos dos tóxicos sobre o ecossistema aquático (compartimento abiótico e biótico), ou também o nível de bioacumulação de químicos nos organismos aquáticos (ver figura P.2), usando biomarcadores. No Brasil, foram realizados alguns programas de biomonitoramento com estudos ecotoxicológicos que utilizaram peixes (Pessoa *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012; Salvo *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2014).

Segundo Arana (1999), a visão sustentável aponta que o principal problema no uso dos ecossistemas aquáticos está relacionado à deposição de resíduos, gerando impacto ecossistêmico de alcance global e afetando todos os compartimentos ecológicos presentes. Assim, para executar atividades sustentáveis nesses ambientes e conservá-los, é necessário determinar seu nível de poluição capaz de gerar impactos ambientais. Hoje, é uma prioridade global o desenvolvimento e aplicação de “ferramentas” necessárias para a recuperação e gestão dos corpos de água.

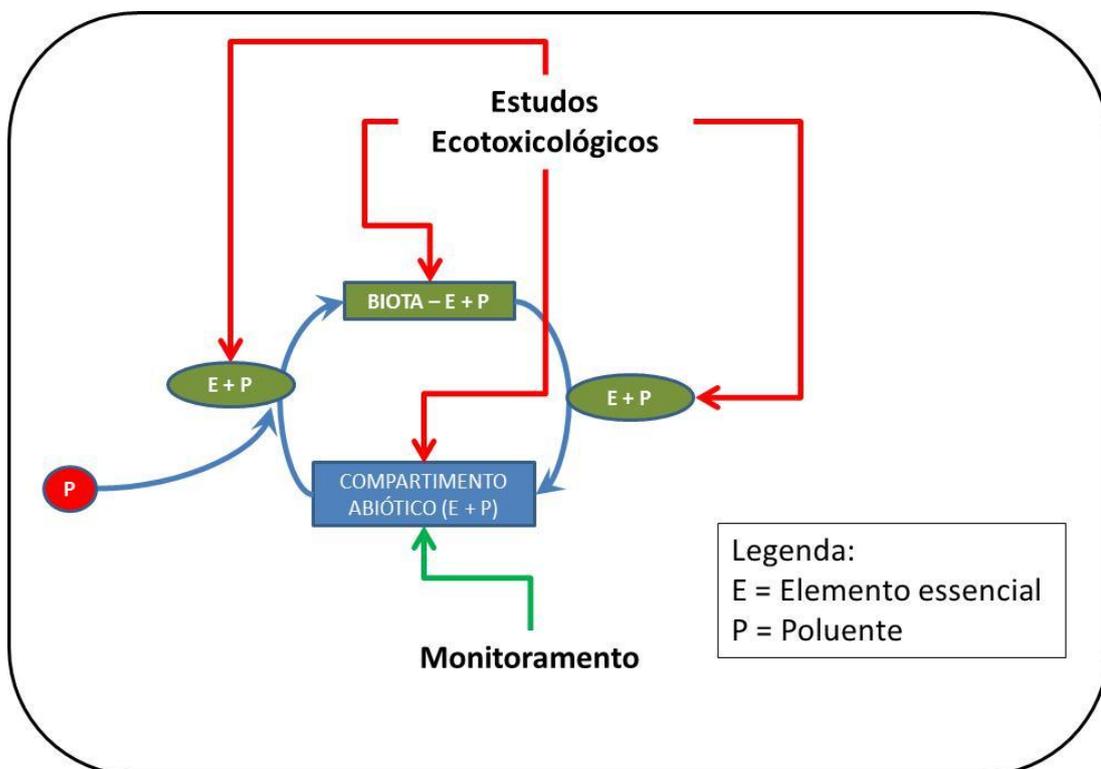


Figura P.2.- Aplicação dos estudos ecotoxicológicos no ecossistema aquático em relação ao monitoramento ambiental tradicional

Atualmente, para se determinar a ocorrência desses impactos ambientais no meio ambiente aquático são utilizados os programas de biomonitoramento ambiental. Esses programas baseiam-se no uso de organismos “sentinela”.

Esses organismos são capazes de responder biologicamente à exposição aos mais importantes contaminantes, mostrando seus efeitos e o grau de poluição gerada nos ecossistemas aquáticos (Gabbott, 1976; Viarengo & Canesi, 1991; Sheehan & Power, 1999; Schlenk, 1999; Walker *et al.*, 2012). Essas respostas podem mudar por variações sazonais e fisiológicas próprias desses bioindicadores. (Walker *et al.*, 2012). Dessa forma, torna-se importante a escolha do organismo “sentinela” que possa fornecer informação sobre o efeito tóxico no ecossistema aquático (Viarengo & Canesi, 1991).

Os principais bioindicadores utilizados atualmente nos diferentes programas de biomonitoramento ambiental aquático são os bivalvos e os teleósteos, os quais possuem características especiais (Viarengo *et al.*, 2000) que serão esclarecidas no capítulo 1 desta tese (pag 18). Os peixes tradicionalmente são usados em pesquisas de avaliação ambiental (Bainy *et al.*, 1996; Van der Oost *et al.*, 2003; Barsiene *et al.*, 2006; Kubota *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2014). Nesses estudos, os tecidos dos peixes servem para determinar o grau de bioacumulação de poluentes ou para fornecer informações sobre os efeitos tóxicos desses químicos nos peixes.

Esta tese trata de estudos ecotoxicológicos experimentais “*in situ*”, como ferramenta de avaliação ambiental, usando peixes como bioindicadores de poluição aquática. No primeiro capítulo, serão apresentados alguns conceitos ecotoxicológicos que serão utilizados nos dois capítulos posteriores. Pretende-se mostrar as bases para o uso dos peixes como bioindicadores, identificando os principais poluentes, definindo a poluição urbana, e abordando os conceitos de programas de biomonitoramento ambiental. Será feita também a diferencia entre os termos bioindicadores e organismos sentinela, e de biomarcadores, como ferramentas ambientais, valorizando os atributos que os peixes oferecem na avaliação e gestão ambiental.

No segundo capítulo será apresentado um estudo ecotoxicológico experimental *in situ* realizado em dois reservatórios hidroelétricos de pequeno porte no rio Itabapoana (Rio

de Janeiro-Brasil), avaliando a variação de biomarcadores bioquímicos (enzimas do metabolismo intermediário) em peixes expostos à poluição urbana.

No último capítulo, também será apresentado um estudo experimental *in situ* que teve por objetivo central a avaliação dos possíveis impactos gerados pelos trabalhos de despoluição da Represa da Pampulha (Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil). Nesse estudo, foi determinando o grau de bioacumulação de metais pesado em dois tecidos de peixes durante o período de realização das obras de dragagem nesse reservatório urbano.

Em ambos os estudos foi avaliado, o possível efeito tóxico da poluição urbana e industrial sobre as tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Esses peixes previamente criados em locais isentos de poluição, foram introduzidos nos locais de estudo, por períodos de exposição variados, para avaliar os efeitos da poluição nos tecidos desses peixes.

Bibliografia

- Arana, L.V., 2004. **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. 2a Ed.** UFSC. Florianópolis, 231pp.
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M., Junqueira, V.B.C., 1996. **Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site.** Aquatic Toxicology. 34 (2) 151-162.
- Barsiene, J, Lehtonen, KK, Koehler, A, Broeg, K, Vuorinen, PJ, Lang, T, Pempkowiak, J, Syvokiene, J, Dedonyte, V, Rybakovas, A, Repecka, R, Vuontisjarvi, H, Kopecka, J. 2006. **Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipeda-Butinge area (Baltic Sea).** Marine Pollution Bulletin 53, 422–436
- Ferreira RS, Monserrat JM, Ferreira JLR, Kalb AC, Stegeman JJ, Bainy ACD, Zanette J. 2012. **Biomarkers of Organic Contamination in the South American Fish *Poecilia vivipara* and *Jenynsia multidentata*.** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. 75 (16-17), 1023-1034.
- Franco J, Trevisan R, Posser T, Trivella D, Hoppe R, Rosa J, Dinslaken D, Decker H, Tasca C, Bainy R, Marques M, Bainy A.C.D., Dafre A. 2010. **Biochemical**

alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73. 864–872

- Gabbott, PA. 1976. **Energy metabolism.** In: **Marine Mussels: Their ecology and physiology.** Ed. Bayne BL. Cambridge: Cambridge University Press. pp 293-355.
- Kubota, A., Bainy, A.C.D., Woodin, B.R., Goldstone, J.V., Stegeman, J.J. 2013. **The cytochrome P450 2AA gene cluster in zebrafish (*Danio rerio*): Expression of *CYP2AA1* and *CYP2AA2* and response to phenobarbital-type inducers.** *Toxicology and Applied Pharmacology, Volume 272(1); 172-179*
- Lam, PKS. 2009. **Use of biomarkers in environmental monitoring.** *Ocean & Coastal Management* 52. 348–354
- Pereira, C.D.S., Abessa, D;M;S., Choueri, R.B., Almagro-Pastor, V., Cesar, A., Maranhão, L.A., Martín-Díaz, M.L., Torres, R.J., Gusso-Choueri, P.K., Almeida, J.E., Cortez, F.S., Mozeto, A.A., Silbiger, H.L.N., Sousa, E.C.P.M., Del Valls, T.A., Bainy, A.C.D. 2014. **Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach.** *Marine Environmental Research, Volume 96; 118-126*
- Pessoa, P.C., Luchmann, K.H., Ribeiro, A.B., Veras, M.M., Correa, J.R.M.B., Nogueira, A.J., Bainy, A.C.D., Carvalho, P.S.M. 2011. **Cholinesterase inhibition and behavioral toxicity of carbofuran on *Oreochromis niloticus* early life stages.** *Aquatic Toxicology, 105 (3–4), 312-320*
- Salvo LM, Bainy AC, Ventura EC, Marques MR, Silva JR, Klemz C and Silva de Assis HC. 2012. **Assessment of the sublethal toxicity of organochlorine pesticide endosulfan in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*).** *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances and environmental engineering* 47(11) 1652-8.
- Schlenk, D. 1999. **Necessity of defining biomarkers for use in ecological risk assessments.** *Marine Pollution Bulletin* 39:48-53.
- Sheehan, D., Power, A., 1999. **Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs.** *Comp. Biochem. Physiol. C* 123, 193–199.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. 2003. **Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review.** *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13; 57_/149

- Viarengo A, Burlando B, Ceratto N, Panfoli I. 2000. **Antioxidant role of metallothioneins: a comparative overview.** *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 46(2):407-17
- Viarengo, A., Canesi, L. 1991. **Mussels as biological indicators of pollution.** *Aquaculture* 94. 225-243
- Walker, C.H. Sibly, R.M. Hopkin, S.P. Peakall D.B. 2012. **Principles of Ecotoxicology, Fourth Edition.** Londres: Taylor & Francis Group. New York
- Zhao S, Feng C, Quan W, Chen X, Niu J, Shen Z. 2012. **Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China.** *Mar Pollut Bull*; 64:1163e71.

Capítulo 1

Peixes: sentinelas do monitoramento ambiental?

Peixes: “sentinelas” do monitoramento ambiental?

L. Alberto Sáenz Isla & Ricardo M. Pinto-Coelho

Resumo

O objetivo deste capítulo é mostrar como os peixes são usados como organismos sentinelas da exposição e da toxicidade dos poluentes antropogênicos, assim como na determinação do impacto sobre a saúde humana. Destacam-se os atributos necessários para ser considerado como um organismo sentinela, indicando as diferenças com os outros bioindicadores ambientais. Previamente será esclarecido o conceito de poluição urbana e a ação dos esgotos industriais ou domésticos nos corpos de água. São discutidos criterios de como esses esgotos ingressam nos ecossistemas aquáticos, de como são lançados sem tratamento apropriado, identificando alguns desses poluentes ou xenobióticos (químicos orgânicos e inorgânicos), destacando os efeitos do esgoto doméstico (Cap 2) assim como dos metais pesados (Cap 3) nos peixes. Mostram-se as rotas de ação dos xenobióticos nos organismos (absorção), como estas substâncias geram respostas biológicas precoces e até alterações populacionais ou ecossistêmicas. Mostrando-se também como essas respostas podem ser registradas cientificamente na execução dos programas de biomonitoramento ambiental. Enfatizando em estudos ecotoxicológicos *in situ*. Primeiramente, aqueles que usam enzimas como biomarcadores bioquímicos e, posteriormente, aqueles que determinam os possíveis níveis de bioacumulação de xenobióticos nos organismos sentinelas utilizados. Finalmente, este capítulo pretende mostrar que os peixes podem servir como uma ferramenta ambiental, valorizando os atributos que estes organismos oferecem na avaliação e gestão ambiental dos ecossistemas aquáticos no Brasil.

Fish: “sentinel” of environmental monitoring?

L. Alberto Sáenz Isla & Ricardo M. Pinto-Coelho

Abstract

The objective of this chapter is to show how the fish are used as sentinel organisms of exposure and the toxicity of anthropogenic pollutants, as well as in determining the impact on human health. Noteworthy are the attributes needed to be considered as a sentinel organism, indicating the differences with other environmental bioindicators. Previously it will be clarified the concept of urban pollution and the action of industrial and domestic sewage into water bodies. Criterias are discussed of how these sewage entering aquatic ecosystems, how are released without proper treatment, identifying some of these pollutants or xenobiotics (organic and inorganic chemicals), highlighting the effects of domestic sewage (Chapter 2) as well as the trace metals (Chapter 3) in fish. Action routes of xenobiotics in organisms (absorption) are shown, as these substances produce precocious biological responses and even population or ecosystem changes. Showing is also, how these responses can be scientifically registered in the implementation of biomonitoring programs. It emphasizing on ecotoxicological studies *in situ*. First, those that uses enzymes as a biochemical biomarker, and subsequently those that determine the potential for xenobiotic's bioaccumulation levels in sentinel organisms used. Finally, this chapter intends to show that fish can serve as an environmental tool, valuing the attributes that these organisms provide in the environmental assessment and management of aquatic ecosystems in Brazil.

1. - Contaminação aquática

1.1.- Poluição urbana: doméstica ou industrial?

Na grande maioria de cidades nos países em desenvolvimento, são descarregados efluentes domésticos e industriais sem tratamento apropriado, dentro de rios, lagos e reservatórios (Franco *et al.*, 2010). Essa poluição é caracterizada por xenobióticos representados por metais pesados, compostos orgânicos persistentes, hidrocarbonetos, pesticidas, detergentes, medicamentos, e a combinação destes compostos (Lam, 2009).

No Brasil, esta realidade não é diferente. Segundo Pinto-Coelho & Havens (2015), muitas cidades surgiram ao longo dos rios e seus habitantes foram acostumados a vê-lo como via de transporte e como um depósito no qual podiam ser lançados todos os tipos de dejetos e descartes produzidos. Os administradores locais vêem as águas urbanas como um “problema” a ser tratado pelo saneamento, muito mais do que como um recurso e um patrimônio a ser preservado. Muitas vezes, as “soluções” (ex: canalizações e dragagens) acabam por gerar novos problemas ambientais, ainda piores, aumentando ainda mais o desequilíbrio dos ecossistemas aquáticos urbanos.

Os poluentes desempenham um papel determinante nos tempos modernos, tanto nas regiões urbanas quanto nas regiões rurais, onde novas fórmulas de xenobióticos são introduzidas com influência destrutiva sobre o ecossistema aquático (Franco *et al.*, 2010). Na maioria dos casos, esses efeitos são traduzidos por uma poluição sub-letal, contribuindo também para o estabelecimento de condições de “estresse crônico”.

Segundo Jernberg *et al.* (2013), a acelerada urbanização promove o aumento não somente das fontes, mas também de novas rotas através das quais os contaminantes orgânicos terminarão depositados nos ecossistemas aquáticos em praticamente toda a biosfera.

1.2.- Principais poluentes

A ecologia, cada vez mais, enfatiza o conhecimento do destino e os efeitos dos xenobióticos na biota devido ao reconhecimento de que a poluição e a contaminação ambiental estão afetando não somente o indivíduo, mas também o metabolismo ecológico das comunidades e dos ecossistemas inteiros. Conseqüentemente, a poluição está mudando o trajeto evolutivo de toda biosfera. Fala-se mesmo, hoje, de uma nova era geológica, a era antropocênica (Bhaduri *et al.*, 2014)

Diversos xenobióticos (químicos orgânicos e inorgânicos) ingressam nos ecossistemas aquáticos através de esgotos industriais ou domésticos. Estes compostos são absorvidos nos tecidos dos vertebrados e invertebrados por várias rotas (respiração, osmorregulação e/ou alimentação) não somente bioacumulando nessas estruturas, mas também gerando variações metabólicas (enzimas ou genéticos) (Belgiorno, 2007). Os principais contaminantes, segundo Zagrebín *et al.* (2016), podem dividir-se em inorgânicos (metais e ânions) e orgânicos (hidrocarbonetos, bifenilos policlorados, dibenzodioxinas policlorados, dibenzofuranos policlorados, bifenilos polibrominados, inseticidas organoclorados, inseticidas organofosforados, inseticidas carbamatos, inseticidas piretróides, herbicidas fenoxi, raticidas anticoagulantes, detergentes, clofenóis, compostos organometálicos).

Assim, todos estes compostos, separados ou em conjunto, geram distintos efeitos tóxicos sobre os organismos aquáticos em função da sua concentração (dose) e do tempo de exposição. Eles são classificados pela origem (urbano, industrial e rural) ou pelo efeito (letal ou sub-letal) (Ferreira, 2005; Franco *et al.*, 2010).

Estes contaminantes podem se concentrar no fundo (sedimentos) dos reservatórios, lagos, rios, baías, etc onde são depositados, por efeito do lançamento de esgoto e resíduos sólidos urbanos (Cantinho *et al.*, 2016). Estes sedimentos representam o histórico de poluição que esses corpos de água têm recebido por décadas por parte da civilização e tem que ser retirados por operações de dragagem (Yee *et al.*, 2011).

Nesse sentido, segundo Torres (2000) essas operações de dragagem geram a ruptura e desagregação dos sedimentos de fundo, o que pode causar uma grande variedade de impactos ambientais. Os problemas aparecem principalmente quando os sedimentos estão contaminados por compostos químicos, metais, resíduos domésticos, óleos e graxas. Os produtos tóxicos e contaminantes liberados pelos solos perturbados, durante a dragagem segundo Torres (2000) e Yee *et al.* (2011), podem se

dissolver ou entrar em suspensão e contaminar ou causar grande mortalidade de espécies aquáticas a dragagem. Esses mesmos autores mencionam que as partículas em suspensão podem redepositar no fundo sufocando os animais bentônicos ou forçando-os a migrar para outras regiões; assim como os compostos orgânicos em suspensão podem consumir o oxigênio disponível na água e temporariamente causar condições de estresse para muitos animais aquáticos. Se os sedimentos em suspensão estiverem em alta concentração de metais e persistirem por um longo período, o qual geralmente está relacionado com o tempo destinado à operação de dragagem, a penetração de luz na coluna d'água pode reduzir-se, causando danos a algas fotossintetizantes e outros organismos aquáticos.

Segundo Torres (2000) a ressuspensão dos sedimentos ocorre principalmente no início da escavação e durante sua transferência para os locais de despejo. As dragas hidráulicas introduzem no ambiente uma quantidade menor de material em suspensão que as dragas mecânicas, porém ainda podem causar impactos no local de dragagem, principalmente devido à prática do "overflow". O conhecimento prévio da hidrografia (fluxos de correntes e marés) da área a ser dragada é essencial para a identificação de locais mais suscetíveis aos efeitos destes trabalhos. A escavação de fundos moles remove os organismos que vivem no sedimento. Se a taxa de sedimentação nesta área for grande, os sedimentos de fundo recentemente depositados podem formar e restaurar estes habitats quando o trabalho estiver terminado.

Segundo Zhou *et al.* (2008), elevados níveis de poluentes rejeitados pelas cidades são reportados nos ecossistemas aquáticos, sendo importante destacar que a poluição por metais aumenta a cada ano e que novos efeitos tóxicos também são reportados. Por isso, o monitoramento e a prevenção da poluição por metais é um dos tópicos mais importantes nas pesquisas ambientais ao redor do mundo.

1.2.1. Metais pesados

Os ecossistemas aquáticos são o último recipiente de quase todas as substâncias usadas ou produzidas pelo homem, incluindo os metais pesados, que são moléculas não biodegradáveis na natureza. Dessa forma, segundo Malik *et al.* (2010), a poluição por metais nos ecossistemas aquáticos cresce numa taxa alarmante e é considerada como um problema de ordem mundial.

Existem várias fontes de metais, tais como as naturais (rochas, vulcões, etc) e aquelas originadas por atividades antropogênicas (Indústria, mineração, cidades, etc) (Fernandez & Olalla 2000; Malik *et al.*, 2010; Walker *et al.*, 2012). Os metais pesados atuam sobre os organismos aquáticos isoladamente ou como a mistura de mais de um metal ou em combinação com poluentes orgânicos (Pandey *et al.*, 2008). Como os metais pesados não podem ser degradados, eles são depositados, e assimilados na água, nos sedimentos e nos animais aquáticos, causando poluição nos corpos de água (Linnik & Zubenko 2000; Malik *et al.*, 2010)

Estes metais, que são depositados no meio aquático, podem se bioacumular e biomagnificar ao longo da cadeia trófica, causando vários danos ecológicos e até doenças nos organismos aquáticos (DNA *adducts*, câncer, etc) (Meche *et al.*, 2010; Elnabris *et al.*, 2013). De acordo com a literatura, a bioacumulação de metais pesados (Tabela 1.1) pelos peixes e a posterior distribuição nos órgãos é altamente específica. Além disso, muitos fatores podem influenciar na absorção dos metais tais como o sexo, a idade, o tamanho, o ciclo reprodutivo, os padrões de nado, os hábitos alimentares e o *habitat* (Mustafa & Guluzar, 2003; Zhao *et al.*, 2012).

Nas últimas décadas, a concentração de metais em peixes está sendo extensivamente estudada em diferentes partes do mundo, e muitos destes estudos se concentram principalmente nas partes comestíveis (músculo) (Damodharan & Reddy, 2013; Elnabris *et al.*, 2013; Leung *et al.*, 2014). Não obstante, outros estudos reportaram a distribuição de metais em diferentes órgãos como as brânquias, fígado, rins, coração, gônadas, ossos, trato digestivo e cérebro (Pourang, 1995; Abdel-Baki *et al.*, 2011; El-Moselhy *et al.*, 2014).

O problema da poluição provocada por metais não é restrito a áreas ocupadas pela mineração ou indústria. Existem áreas nas cidades que despejam grandes quantidades de metais, tais como o zinco, cádmio, chumbo, arsênio e ferro, entre outros nas águas urbanas. Essa poluição decorre de atividades comuns tais como a construção civil, veículos motorizados, baterias, etc (Pinto-Coelho & Havens, 2015).

Tabela 1.1.- Efeitos de alguns metais pesados essenciais e não-essenciais em peixes de água doce. Fonte própria.

Chumbo (Pb)
Lesões histopatológicas nas brânquias de peixes neotropicais (Martinez <i>et al.</i> , 2004), distúrbios temporários na regulação do sódio, hiperglicemia associada à queda dos teores de lipídeos e proteínas. Inibição da enzima δ -ALAD (enzima do ciclo das proferinas) gerando um quadro de anemia nos peixes expostos (Schmidt <i>et al.</i> , 2001). A magnitude do estresse é dependente da dose do metal. Em elevadas concentrações, os peixes expressam esgotamento, diminuindo a habilidade de sobreviver dos organismos, especialmente se existem outros estressores no meio.
Zinco (Zn)
Metal essencial para humanos e animais. Possui efeito protetor contra a toxicidade do Cd e do Pb (Malik <i>et al.</i> , 2010), contribui à estabilidade da membrana e ótimo anti-oxidante (Bray & Bettger, 1990), restaura a atividade da ALAD na produção dos precursores da hemoglobina (Schmidt <i>et al.</i> , 2001), redutor da toxicidade de outros elementos, tais como Cu, Hg e Cd (Fraysse <i>et al.</i> , 2002). Elevados níveis de Zn no fígado estão relacionados à metalotetoninas (MT) (El-Moselhy <i>et al.</i> , 2014)
Cádmio (Cd)
Metal não essencial considerado como um dos mais tóxicos para a biota de água doce (Ramade, 1987). Induz a síntese das MT, que são proteínas com função no transporte e estocagem dos metais (Fraysse <i>et al.</i> , 2002). Elevados níveis no fígado estão relacionados à atividade das MT na estocagem dos metais (Zn e Fe) nos peixes (El-Moselhy <i>et al.</i> , 2014)
Mércurio (Hg)
A exposição ao Hg pode causar efeitos adversos para a saúde humana. Os efeitos do metilmercúrio sobre a vida-selvagem podem incluir a mortalidade, reduzir a fertilidade e o crescimento, e comportamento anormal que afeta a sobrevivência (Kim <i>et al.</i> , 2004; EPA, 2005). Na bacia amazônica a contaminação por Hg nos peixes é gerada pela mineração de ouro, biomagnificando nas espécies carnívoras e atingindo às populações humanas desta bacia (Uriyu <i>et al.</i> , 2001; UNEP, 2004)
Arsênio (As)
As é encontrado em todos os organismos aquáticos e seus efeitos sobre a biota variam segundo as condições ambientais do corpo de água (menos tóxicos que o Hg e Cd). Este metal é bioacumulado nos tecidos dos organismos aquáticos (Spehar <i>et al.</i> , 1980), atravessando a cadeia trófica até chegar ao homem, gerando graves problemas sanitários (El-Moselhy <i>et al.</i> , 1987). A toxicidade é manifestada através de diferentes mecanismos. As _(III) altera a atividade da GST acrescentando-lhe como medida de proteção oxidativa (Allen & Rana, 2004)
Ferro (Fe) – Cobre (Cu)
Excessos em alguns metais essenciais como Fe e Cu nas brânquias induzem reações REDOX e causam danos peroxidativos severos na membrana celular e outras macromoléculas incluindo DNA. Causa danos celulares, induz o estresse oxidativo e danifica as brânquias (Pandey <i>et al.</i> , 2008)

1.2.2. Esgoto urbano

O esgoto urbano (*wastewater*) é uma mistura complexa de materiais naturais orgânicos e inorgânicos combinados com substâncias antropogênicas. Contendo tudo aquilo lançado para o sistema de esgoto, incluindo materiais lavados desde as estradas,

rodovias e pisos em geral durante as chuvas (Stackelberg *et al.*, 2004; Cantinho *et al.*, 2016). Estes mesmos autores descrevem a composição do esgoto atualmente, mostrando que esses compostos podem vir de diferentes fontes, tais como locais industriais, casas (heces e urina, alimento, amalgamas, detergentes, água potável, cafeína, fármacos de uso comum, etc), comércio/negócios (água de lava jatos, dentistas, grandes empresas), hospitais agentes de diagnóstico, desinfetantes, farmacêuticos), sedimentos de tubulações e escoamento superficial de materiais de construção, matérias galvanizados, trânsito urbano (líquido e desgaste de freio, desgaste de pneus, desgaste do asfalto, vazamentos de gasolina/óleo) e agricultura (pesticidas, adubos orgânicos e inorgânicos):

Esta situação é acrescentada principalmente pela acelerada urbanização observada no mundo todo, onde os ecossistemas aquáticos estão constantemente sofrendo os lançamentos de efluentes antropogênicos, sendo os peixes e outros organismos aquáticos os maiores afetados pelas poluídas; podendo conduzir que esses organismos sofram de diferentes mudanças, oscilando desde alterações bioquímicas nas células até mudanças nas populações inteiras (Silva & Martinez, 2007 ;Jerberng *et al.*, 2013). Dentro desse contexto, as cidades brasileiras carecem de sistemas apropriados para lidar com seus efluentes e os mesmos muitas vezes são lançados sem tratamento diretamente nos ecossistemas (Medeiros, 2008).

Como foi mencionado anteriormente são os organismos aquáticos os principais afetados por esta poluição urbana. Por esse motivo, de acordo com Silva e Martinez (2007), são necessários estudos de campo para avaliar estes efeitos, nos quais é recomendável usar peixes como uma ferramenta de monitoramento da qualidade desses ecossistemas aquáticos. Estes mesmos autores concluem que o uso de peixes nesses estudos ambientais fornecem informação sobre o grau de estresse ambiental que esses organismos sofrem. Embora o fator responsável da alteração monitorada fosse desconhecido esses estudos tem demonstrado a utilidade dos peixes como indicador da qualidade geral do ecossistema aquático.

2. Programas de Biomonitoramento

A expansão das atividades antropogênicas industriais a partir do início do século XX tem gerado um impacto negativo sobre todos os compartimentos ecológicos, especialmente no ecossistema aquático (Alonso & Camargo, 2005; Kolpin *et al.*, 2013).

Em contraste, a carência de estudos e monitoramento contínuo ou restrições legais para algumas variáveis ambientais é uma realidade em muitos países sub-desenvolvidos ou em desenvolvimento, a exemplo do Brasil (Franco *et al.*, 2010).

Os programas de biomonitoramento ambiental, segundo Zhou *et al.* (2008), são definidos como a técnica científica para a avaliação ambiental, incluindo a exposição experimental aos produtos químicos naturais e sintéticos, com base na amostragem e análise de tecidos e fluidos de um organismo individual (Tabela 2). Esta técnica parte da hipótese de que os produtos químicos que entram nos organismos deixam “marcas” que refletem essa exposição. Walker *et al.* (2012) mencionou que estes programas de biomonitoramento formam parte das abordagens da ecotoxicologia.

Segundo Burgeot *et al.* (1996), no hemisfério norte, os programas de biomonitoramento usam organismos aquáticos para detectar a exposição dos químicos xenobióticos no ecossistema, avaliando possíveis mudanças biológicas que podem ser induzidas pela contaminação desses compostos.

Os resultados desses estudos (Tabela 1.2) fornecem informações sobre as quantidades de substâncias químicas naturais ou liberados pelo homem que tenham ingressado e acumulado nos organismos e quais os efeitos tóxicos correspondentes induzidos. Segundo Zhang (2004), estes estudos apresentam grandes vantagens tais como ser amplamente executáveis, de elevada sensibilidade e altamente integrados, quando comparadas com as análises químicas convencionais.

Na hora de classificar as técnicas de biomonitoramento, devem-se considerar os objetivos e as demandas do estudo. Por exemplo, a análise da dinâmica dos organismos poluídos; a determinação do conteúdo de metais pesados nos organismos específicos; a medição da atividade das enzimas nos bioindicadores poluídos e todas as alterações nas funções fisiológicas, abundância de espécies, que afetam às populações e comunidades aquáticas podem também corresponder às condições ambientais do ecossistema aquático (Inza *et al.*, 1998; Rodtti, Fisher, Wilhelmy, 2000; Fraysse *et al.*, 2002).

No Brasil, existem alguns estudos de biomonitoramento ambiental, tais como aqueles conduzidos na cidade de São Paulo, a maior cidade da América do Sul. Esta cidade descarrega continuamente, na represa Billings, poluentes urbanos tais como metais pesados e compostos orgânicos (PCBs, pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), provocando a mortalidade de peixes (Bainy *et al.*, 1996; Costa

et al., 1998; Franco *et al.*, 2010). Nesses estudos, o monitoramento clássico desses poluentes na água e sedimentos determinou somente a presença deles. Porém, foi a partir do uso dos peixes como bioindicadores que foi possível determinar o efeito tóxico desses poluentes sobre a biota aquática e assim entender as mortalidades registradas nesse reservatório.

Tabela 1.2.- Tipos de biomonitoramento ambiental ecotoxicológico de ecossistemas aquáticos, usados para avaliação da qualidade dos corpos de água no mundo.

Tipos de monitoramento ambiental	Referencia bibliográfica
Análise da concentração de xenobióticos na água	Boyd, 2000; Mustafa & Guzular, 2003; Ferreira, 2003; Baun <i>et al.</i> , 2006; Zhou <i>et al.</i> , 2008; Ferreira, 2005; Wang & Gardinali, 2012; Jernberg <i>et al.</i> , 2013; Kolpin <i>et al.</i> , 2013
Análise da concentração de xenobióticos no sedimento	Zhou <i>et al.</i> , 2008; Abdel-Baki <i>et al.</i> , 2011; Zhi-Hua <i>et al.</i> , 2011; Zhao <i>et al.</i> , 2012; Kolpin <i>et al.</i> , 2013; Riccardi <i>et al.</i> , 2013
Avaliação da presença ou ausência de espécies (efeito comunitário) Bioindicadores.	Fausch <i>et al.</i> , 1990; National Research Council, 1991; Niemi & McDonald, 2004; Gerhardt, 2002; Dudgeon, 2006; Jenkins, 2004; Baptista, 2008; Oliveira & Callisto, 2010; Sedeño-Diaz & Lopez-Lopez, 2012; Tosti & Gallo, 2012;
Análise da concentração de xenobióticos em organismos sentinela: plâncton, peixes, moluscos, crustáceos, etc	Moscoso & Nava, 1984; Inza <i>et al.</i> , 1998; Roditi <i>et al.</i> , 2000; Almeida <i>et al.</i> , 2003; Mustafa <i>et al.</i> , 2003; Van der Oost <i>et al.</i> , 2003; Malik <i>et al.</i> , 2010; Meche <i>et al.</i> , 2010; Moya <i>et al.</i> , 2010; Zhao <i>et al.</i> , 2012; Jernberg <i>et al.</i> , 2013;
Avaliação das respostas dos xenobióticos nos organismos (biomarcadores) – Bioquímicas, expressão genômica e efeitos tóxicos.	Sheehan & Power, 1999; Fossi <i>et al.</i> , 2002; Almeida <i>et al.</i> , 2003; Lüchmann <i>et al.</i> , 2003; Fuentes-Rios <i>et al.</i> , 2005; Sarkar <i>et al.</i> , 2006; Monserrat <i>et al.</i> , 2007; Otitoju & Onwurah, 2007; Viarengo <i>et al.</i> , 2007; Altı & Canli, 2010; Franco <i>et al.</i> , 2010; Tsangaris <i>et al.</i> , 2010; Nogueira <i>et al.</i> , 2011; Pessoa <i>et al.</i> , 2011; Zanette <i>et al.</i> , 2011; Gonçalves-Soares <i>et al.</i> , 2012; Santos-carvalho <i>et al.</i> , 2012; Kubota <i>et al.</i> , 2013; Pereira <i>et al.</i> , 2014;

3. O emprego de organismos sentinela na avaliação ambiental

3.1. Organismos sentinela: tipos e características

Segundo o National Research Council (1991), os animais serviram durante muito tempo como indicadores de riscos ambientais. Um exemplo clássico desse uso é a presença de canários nas minas para detectar excessos do monóxido de carbono e desta maneira avisar de perigo iminente. Esses bioindicadores são organismos ou comunidades de organismos, através dos quais são observadas reações para avaliar uma situação específica, dando pistas sobre a condição do ecossistema inteiro e reagem a efeitos antropogênicos sobre seu ecossistema (Gerhardt, 2002; Jenkins, 2004). Estes autores concluíram que um bioindicador biológico poderia ser:

- (a) Uma espécie ou grupo de espécies que reflitam facilmente o estado biótico e abiótico de um ecossistema;
- (b) Espécie ou grupo de espécies que representem o impacto de mudanças ambientais sobre os *habitats*, comunidades ou ecossistemas, ou seja, indicadores da biodiversidade desse ecossistema.

Nesse sentido, o papel principal dos bioindicadores é medir a resposta do ecossistema aos distúrbios antropogênicos (Niemi & McDonald, 2004). Jenkins (2004) menciona que os bioindicadores são úteis em três situações: a) quando o fator ambiental indicado não pode ser medido (paleo-monitoramento); b) quando o fator ambiental é difícil de medir (pesticidas e seus resíduos); c) quando o fator ambiental é fácil de medir, porém difícil de interpretar (mudanças ecológicas). Os organismos bioindicadores mais utilizados são organismos comuns presentes no corpo de água em estudo ou que sejam transferidos para este, mas que possuam características especiais para o biomonitoramento (Zhou *et al.*, 2008).

Por outro lado uma espécie sentinela, segundo Sedeño-Díaz & López-López (2012), pode ser definida como qualquer micro-organismo, planta ou animal doméstico ou selvagem, que possa ser usado como um indicador da exposição e da toxicidade dos xenobióticos. Podendo ser usado na determinação do impacto sobre a saúde humana ou ambiental devido a algumas características desses organismos, tais como: sensibilidade, posição na comunidade, probabilidade de exposição, distribuição ou abundância geográfica e ecológica.

A agência National Research Council (1991), menciona que em algumas situações, as espécies mais desejáveis não estão presentes na área de estudo. Assim, torna-se

apropriado colocar deliberadamente uma espécie “sentinela” na área de estudo (Tabela 1.3).

Tabela 1.3.- Requisitos necessários para considerar um ser vivo como organismo “sentinela” (National Research Council, 1991)

<i>Exibir respostas mensuráveis (incluindo acúmulo de resíduos nos tecidos) para o agente ou classe de agente em estudo.</i>
Possuir um <i>habitat</i> que sobreponha a área monitorada
Ser facilmente enumerado e capturado
Possuir uma população com um tamanho e densidade suficientes para permitir a enumeração

Segundo Van der Oost *et al.* (2003), nos peixes podem ser observadas várias respostas biológicas, tais como a bioacumulação de químicos, uso de biomarcadores na avaliação dos riscos ambientais pela exposição aos metais pesados, variações fisiológicas e até morfológicas. Posteriormente, Zhou *et al.* (2008), destacaram que os peixes atraem muita atenção no biomonitoramento da poluição da água devido a características biológicas especiais intrínsecas específicas. Dentre elas destacam-se: (a) tamanho relativamente grande, (b) longo ciclo de vida, (c) facilidade de crescimento, etc. Paralelamente, este mesmo autor também ressalta que os peixes têm uma posição privilegiada na cadeia alimentar aquática e podem afetar diretamente a saúde dos humanos, o que aumenta ainda mais a sua importância.

As dificuldades em estudar os peixes consistem basicamente no fato deles alimentarem-se de uma ampla gama de organismos. Além disso, eles são nômades e não são longevos (Jenkins, 2004). Sedeño-Díaz & López-López (2012) concluem que o uso apropriado dos organismos sentinela em estudos ambientais nos ecossistemas aquáticos

Nesse sentido, a utilização dos peixes como organismo sentinela é viável para o monitoramento da poluição em sistemas aquáticos. No entanto, as pesquisas devem considerar a aplicação de um conjunto de respostas mensuráveis (biomarcadores) para identificar potenciais fontes de estresse e os danos aos quais os organismos estão expostos. O conjunto de biomarcadores deve também considerar vários níveis de organização biológica, a fim de identificar os efeitos do estresse ambiental, tendências

espaço-temporal das condições ambientais e identificar os sinais de alerta precoce para evitar que o dano continue.

3.2.- Peixes como “ferramenta” de avaliação ambiental

A existência de peixes em um corpo de água, segundo Rocha *et al.* (1985), é considerada como um excelente “termômetro” do real estado de pureza da água. No trabalho destes autores, foi demonstrado que, na represa Billings (São Paulo), os peixes aí existentes, com ressaltado da grande abundância da tilápia (*Tilapia rendalli*), apresentaram contaminação por metais, o que foi conferido com a presença de metais na água. Isto demonstrou que o ecossistema dessa represa tinha problemas sérios de contaminação, e que a pesca devia restringir-se nas cabeceiras das represas.

Como consequência desse estudo, foram desenvolvidos outros projetos ambientais para recuperar a qualidade deste ecossistema, e foram exigidos pelo governo de Estado estudos de impacto ambiental para todo futuro projeto na área da represa. Observando esta pesquisa, concluímos que a atitude tomada pelas autoridades de São Paulo em prol da saúde ambiental e da população dependente deste reservatório, através do uso de peixes como organismos sentinela e de enzimas como biomarcadores, favoreceu, sobretudo, na tomada de decisões das autoridades.

Segundo Esteves (2011), os peixes são alvo de pesquisas sendo utilizados como sentinelas do estado de conservação das águas continentais, dada sua importância ecológica como elos fundamentais nas cadeias alimentares aquáticas. Possuindo uma estreita relação entre as respostas dos peixes com a condição ambiental do meio aquático. Este mesmo autor também menciona que os peixes neotropicais representam um indicador importante do comportamento dos rios no Brasil.

Assim, segundo Abell *et al.* (2008), os peixes neotropicais da América do Sul possuem características reprodutivas muito importantes. Essas características estão mais relacionadas com a hidrologia dos ecossistemas aquáticos (chuvas, secas, enchentes), do que com as variações de parâmetros físico-químicos dos mesmos (temperatura, fotoperíodos, pH, etc). As chuvas e as enchentes determinam a expansão do ambiente aquático, e com ela a maior disponibilidade de recursos alimentares, relaxamento das pressões de predação e competição, e a oportunidade de realizar curtos deslocamentos pelo sistema.

A maioria dos peixes neotropicais exibem hábitos sedentários, e outra parcela menor de espécies são migradoras de longas distâncias (piracema), sendo que o período de cheia está associado também com a sua reprodução. Durante a piracema, os peixes precisam direcionar maiores recursos energéticos para estas funções, do que para seu crescimento (Arrington *et al.*, 2006).

A grande maioria de poluentes, segundo Walker *et al.* (2012), são de características lipofílicas (Figura 1.2), o que favorece sua ligação com moléculas lipídicas e sua rápida absorção pelas células e posterior bioacumulação nos tecidos. Segundo Esteves (2011), os peixes acumulam energia temporária na forma de ácidos graxos.

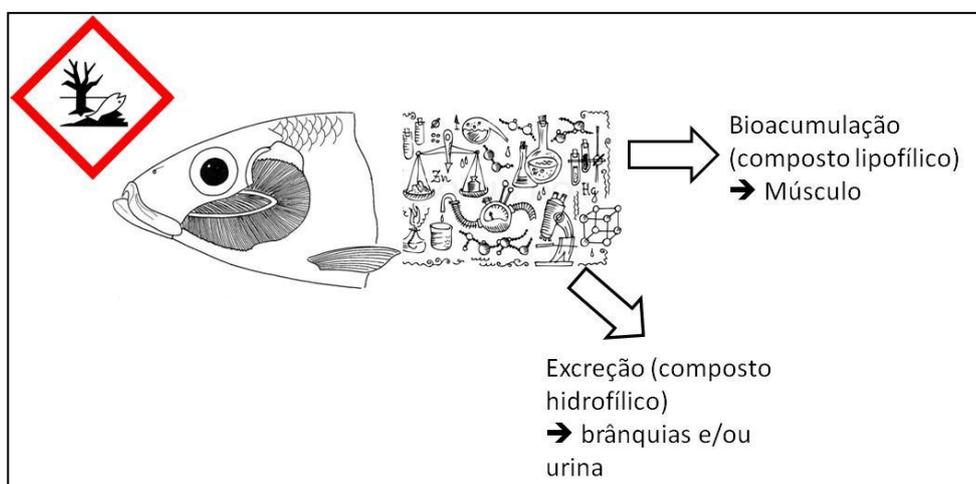


Figura 1.1.- Esquema do funcionamento do mecanismo de biotransformação, e posterior bioacumulação e/ou excreção dos poluentes nos peixes (Fonte própria)

Em algumas espécies, a estocagem de lipídeos na forma de triacilgliceridos e de vitelogenina ocorre primariamente no fígado, enquanto que em outras espécies pode ser armazenados entre os músculos. As possíveis variações no conteúdo lipídico muscular podem estar relacionadas à deposição sazonal do armazenamento de energia, na forma de lipídeos e são consumidos tipicamente durante períodos de déficit de energia de curta duração (ex. natação violenta) ou de longa duração (ex. migrações de longas distancia) (Jobling, 1994; Mommsen, 1998; Arrington *et al.*, 2006). Segundo Arrintong *et al.* (2006), todas as espécies de peixes neotropicais podem armazenar lipídios. Entanto que nas espécies não migratórias a estocagem lipídica pode estar relacionada com outras características da história de vida dela.

Além de servir como um depósito de armazenamento, o fígado é o principal local de biossíntese de lipídeos, assim como o órgão encarregado da biotransformação de

xenobióticos (Walker *et al.*, 2012), e como tal pode mostrar teor de lipídios mais dinâmico do que o tecido muscular. (Allen & Rana, 2004; Arrington *et al.*, 2006; El-Moselhy *et al.*, 2010; Abdel-Baki *et al.*, 2011)

É possível que os peixes neotropicais, durante a piracema e em situações de estresse, acumulem maior teor de gorduras e junto com elas os xenobióticos presentes nos rios contaminados. Sendo que os xenobióticos são de caráter altamente lipofílico e, portanto, tendem a se bioacumular nos tecidos dos peixes, especialmente no fígado e nos músculos.

Segundo Walker *et al.* (2012) a acumulação de substâncias tóxicas nos tecidos dos peixes depende tanto do químico e do tempo de exposição, como das características metabólicas dos peixes para biotransformar esses xenobióticos em compostos hidrofílicos e assim facilitar sua excreção (Figura 1.3).

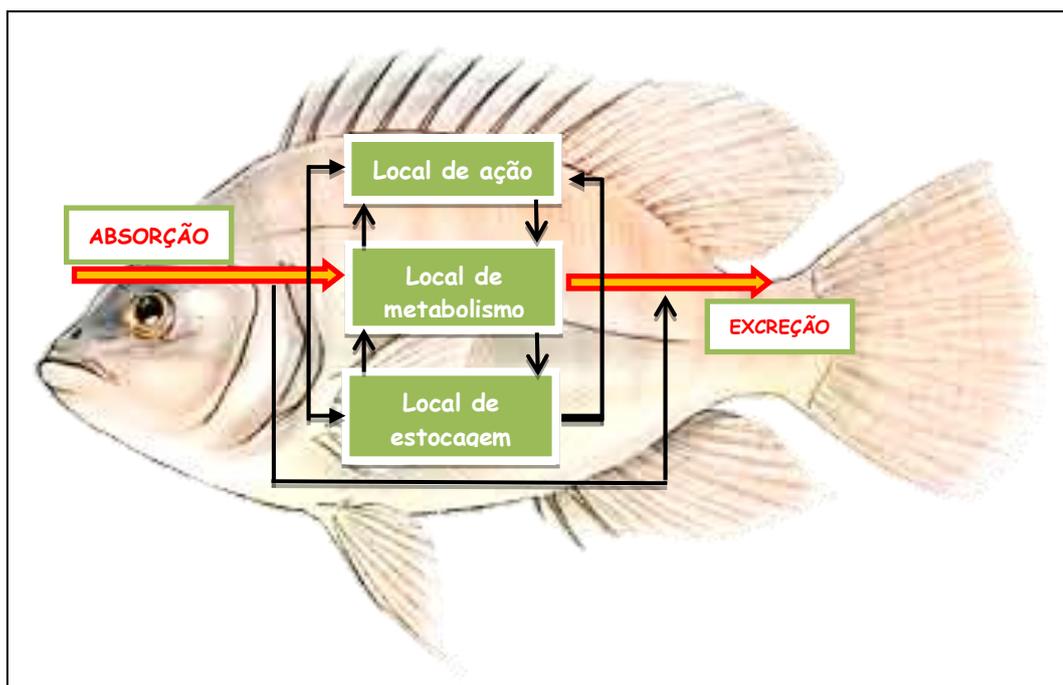


Figura 1.2.- Modelo geral que descreve a fonte (absorção) e o destino dos xenobióticos lipofílicos nos peixes. Figura adaptada de Walker *et al.* (2012)

O tipo de peixe para ser usado nestes estudos também é muito importante, como foi mencionado anteriormente, de preferência tem que ser resistente a variações ambientais bruscas. A tilápia é considerada como um organismo altamente resistente à presença de poluentes (Pereira & Lapolli, 2009), sendo até cultivadas nas lagoas de

estabilização da estação de tratamento de esgoto urbano da cidade de Lima (Peru) (Moscoso & Nava, 1984). A tilápia é utilizada como uma espécie indicadora para avaliar os efeitos da poluição ambiental em regiões tropicais (Ueng *et al.*, 1995; Bainy *et al.*, 1996).

Paralelamente, é necessário contar com outra “ferramenta” biológica para avaliar as respostas que esses peixes vão oferecer, após um tempo de exposição, sobre o estado de saúde dos peixes e do seu *habitat*. Esta “ferramenta” é denominada de biomarcador (Zanette *et al.*, 2010; Tsangaris *et al.*, 2010; Nogueira *et al.*, 2011; Tosti & Gallo, 2012; Kubota *et al.*, 2013).

4. Uso de respostas biológicas para avaliação ambiental:

4.1. Biomarcadores

Este conceito foi definido, segundo Walker *et al.* (2012), como toda resposta biológica que os organismos vivos expressam quando estão expostos a um ou vários químicos orgânicos ou inorgânicos (xenobióticos), sendo que esta resposta expressa o grau de exposição submetido e/ou o efeito que estes xenobióticos causam sobre os organismos.

Nesse sentido, é importante incluir as características ecológicas mensuráveis e respostas comportamentais dos organismos, populações ou comunidades no momento de avaliar as mudanças no meio ambiente Peakall (1994). Segundo este mesmo autor, os níveis de resposta biológica que podem ser considerados, oscilam desde a estrutura molecular até a comunitária e mesmo para as funções e estrutura dos ecossistemas (figura 1.4).

O termo biomarcador, segundo Fossi *et al.* (2002) está relacionado aos processos biológicos, aprovendo efeitos ecologicamente relevantes, fornecendo informações sobre a qualidade ambiental através de reações identificáveis (moleculares, bioquímicas, fisiológicas e/ou morfológicas).

Os aspectos moleculares e bioquímicos são os primeiros em serem alterados quando um xenobiótico ingressa ao organismo. Portanto, esta resposta poderia ser considerada como um alerta precoce do risco no interior dos organismos expostos. Nesse sentido, conforme se acrescenta o risco até os níveis mais elevados da estrutura populacional, também aumenta a importância ecológica e o tempo em que os

organismos responderiam para essa exposição (Alti & Canli, 2010; Franco *et al.*, 2010; Nogueira *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012; Kubota *et al.*, 2013).

Assim, os biomarcadores podem ser definidos como medidas funcionais de exposição de estressores ambientais, que são usualmente expressados no nível sub organizacional da estruturação celular. A magnitude das mudanças é mensurável e frequentemente relacionada à severidade da exposição (Figura 1.4).



Figura 1.3.- Relação esquematizada das ligações entre as respostas biológicas em diferentes níveis organizacionais (Walker *et al.*, 2012)

Segundo Decaprio (1997), um efeito tóxico resultante a partir de uma exposição estressora pode ser definida como um evento adaptativo não patogênico primário, ou como um evento funcional alterado de maior seriedade, dependendo da toxicocinética e do mecanismo de ação dos estressores. Assim, o estresse sub-letal é geralmente o primeiro manifestado no nível sub-organizacional, onde os efeitos podem ser medidos via alguns componentes celulares, tal como enzimas. Dependendo da severidade, o estresse sub-letal pode limitar sistemas fisiológicos, reduzir o crescimento, ou inviabilizar a reprodução.

O grau de intoxicação que um organismo, ou um grupo deles, pode atingir em um determinado tempo de exposição é muito variável. Essa intoxicação irá progressivamente dificultar a mesma, e impedir a sua eficiência para realizar processos

metabólicos necessários para o seu desenvolvimento (crescimento basal e seu investimento na reprodução). Isto acarreta, como consequência, que o organismo expresse sinais de estresse e doença, o que, em alguns casos, pode terminar na morte do indivíduo. Estas definições propõem o uso de tipos específicos de biomarcadores, com o objetivo de determinar a dose interna ou a concentração biologicamente ativa (exposição), o efeito adverso, e até o nível de susceptibilidade das populações ou indivíduos, em um esforço de predizer e possivelmente prever doenças clínicas, especialmente em humanos (National Research Council, 1991). Baseados nesta definição são classificados os biomarcadores em função das suas capacidades individuais ou em conjunto.

4.1.1. Tipo de biomarcadores

Na atualidade, existem segundo Nordberg (2010) são usados três categorias de biomarcadores: os biomarcadores de exposição, biomarcadores de efeitos e biomarcadores de susceptibilidade.

Biomarcadores de exposição, são aqueles que mostram a exposição de um poluente para o nível de que esse poluente (ou seus metabolitos, ou o produto da interação com moléculas-alvo) esta em um tecido do corpo ou fluidos (compartimento). Esta definição inclui as medições de produtos de interação entre os poluentes e as moléculas-alvo, ou seja, a dose-alvo (Aitio *et al.*, 2007)

Biomarcadores de efeito. Este biomarcador esta associado a um efeito de saúde mais cedo (possível deterioração da saúde; efeito crítico) ou um efeito clínico (doença). Este tipo de biomarcador pode estar relacionado ao nível de mudança de uma substância endógena no sangue ou urina (Aitio *et al.*, 2007)

Biomarcador de susceptibilidade: biomarcador de uma capacidade inerente ou adquirida do organismo para responder à exposição a uma substância específica. Biomarcadores de susceptibilidade indicam indivíduos com maior sensibilidade de moléculas-alvo e, em outros casos, indivíduos com alterações no metabolismo / toxicocinética que dão origem a uma maior dose-alvo (Aitio *et al.*, 2007; Nordberg, 2010).

Portanto, é possível definir os biomarcadores funcionam como respostas bem caracterizadas que levam em conta as propriedades farmacodinâmicas e físico-

químicas dos organismos biológicos e dos agentes químicos, respectivamente (Sheehan & Power, 1999; Nordberg, 2010).

Essas respostas, tanto dos parâmetros antioxidantes como do sistema de biotransformação, são usadas em estudos ecotoxicológicos. Essas mudanças iniciais são detectadas precocemente nos níveis bioquímicos e moleculares, com a ativação do sistema de defesa celular e de biotransformação fornecendo de dados sensitivos sobre o estresse que os peixes experimentaram (Atli *et al.*, 2016; Adeogun *et al.*, 2016). Estes mesmos autores indicam que é o fígado o sitio de reações oxidativas multiplex, de máxima geração de radicais livres e é o órgão para eliminar xenobióticos.

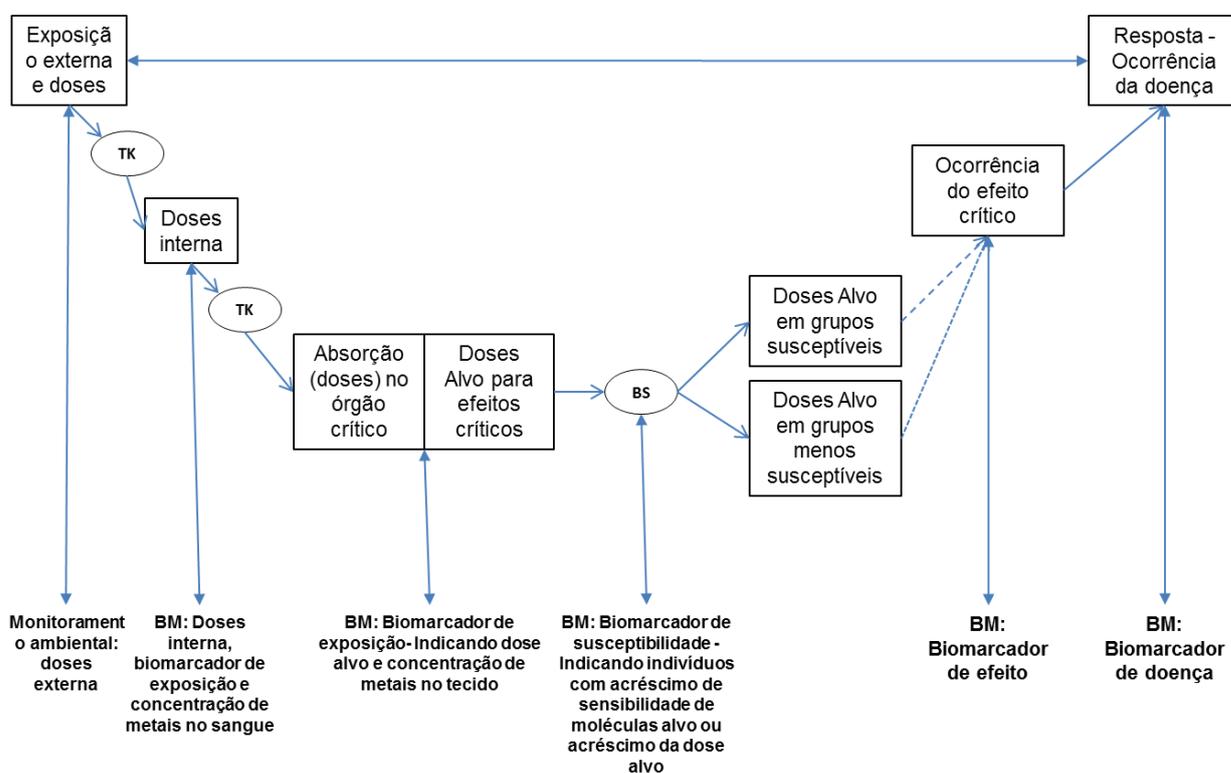


Figura 1.4.- Relações entre a dose e a exposição externa, monitoramento ambiental, biomonitoramento (BM), e respostas (i.e. ocorrência de doenças). Importância da toxicocinética (TK) para as relações entre doses interna e externa e entre biomarcadores. Relação entre a absorção no órgão crítico e a dose para efeito crítico, tanto como a importância da susceptibilidade para efeitos adversos (críticos) como indicado pelos biomarcadores de susceptibilidade (BS) (Fonte: Nordberg, 2010)

O papel dos biomarcadores também é explicado na figura 1.5; assim como os efeitos adversos dos químicos sobre estas moléculas. Mostra também que existem

organismos com maior habilidade de biotransformar xenobióticos do que outros, reduzindo a susceptibilidade de desenvolver efeitos adversos nesses tecidos (Nordberg, 2010).

Alguns biomarcadores de exposição (altamente sensíveis e específicas) são a indução do Citocromo P450-1A (CYP1A) monooxigenase e EROD pela exposição aos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAH's), a inibição da acetilcolinesterase (AChE) para pesticidas organosfosforados e carbamatos, e a indução das metalotioneínas para a toxicidade dos metais pesados (Sarkar *et al.*, 2006; Tsangaris *et al.*, 2010).

Os biomarcadores de efeito não específicos podem incluir sítios ativos que podem ser alterados por um variado número de estressores, os quais podem se relacionar a efeitos fisiológicos, tais como taxa de crescimento de um organismo, ou processos reprodutivos destes (Mayer *et al.*, 1992; Adeogun *et al.*, 2016). Este fato pode ser reduzido com o uso de biomarcadores específicos que possam ser órgãos-específicos. Dentre os principais marcadores deste tipo temos os relacionados ao estresse oxidativo (GST entre outros) e à peroxidação lipídica, os quais podem fornecer maior informação sobre o mecanismo do dano original observado a partir das avaliações não patológicas (Adeogun *et al.*, 2016).

Nesse sentido, existe uma relação potencial entre as respostas no nível celular e do ecossistema, e os mecanismos adaptativos compensatórios, nos quais um efetivo conjunto de biomarcadores de efeito forneceria maior percepção sobre a causalidade do efeito adverso observado no nível superior, como foi mencionado anteriormente na figura 1.4.

Por outro lado, sem importar o tipo de biomarcador usado, as respostas encontradas para cada um destes ou as mudanças no estado de saúde do organismo se relacionam tanto ao acréscimo na concentração do xenobiótico como no tempo de exposição, mostrando a tendência à especificidade que alguns biomarcadores expressam e a relação dose-resposta na qual se baseia a toxicologia.

As análises bioquímicas devem ser acompanhadas de análises químicas para elucidar assuntos relacionados aos efeitos dos xenobióticos sobre os biomarcadores, devido ao que existem outras variáveis que podem alterar a atividade enzimática deles. Estas variáveis podem ser internos ou externos aos organismos ou do ecossistema.

Pode ser observado que o uso desta “ferramenta” serve para medir o grau de mudança da resposta biológica que um xenobiótico geraria em um organismo durante um período de exposição. A principal razão para recomendar o uso dos biomarcadores na avaliação ambiental é que estes podem oferecer informação sobre os efeitos dos contaminantes.

4.2. Bioacumulação

O termo bioacumulação, segundo Zhou *et al.* (2008) refere-se a um importante processo através do qual os químicos podem afetar os organismos vivos, pelo aumento da concentração destes compostos nos tecidos ao longo do tempo, e pode se relacionar com a concentração do químico no ambiente. Segundo Zhou *et al.* (2008), a bioacumulação ocorre quando um organismo absorve uma substância química a uma taxa superior àquela em que a substância é eliminada, envolvendo vários processos, incluindo a absorção, a biotransformação, o armazenamento e a eliminação. Alguns autores (Mustafa & Guluzar, 2003; Zhao *et al.*, 2012; El-Moselhy *et al.* 2014) mencionam que a bioacumulação dos metais pelos peixes, e a subsequente distribuição no organismo destes, é altamente interespecífica.

Abdel-Baki *et al.* (2011), determinaram concentrações de alguns metais (Pb, Cd, Hg, Cu, Cr) na água, sedimentos e em alguns tecidos de tilápias no vale Wadi Hanifah (Arábia Saudita). Neste estudo foi demonstrado que as tilápias, embora interatuem com o fundo, tiveram maior taxa de transferência dos metais a partir da água para os tecidos dos peixes do que pelos sedimentos. Concluindo que os níveis de metais no músculo destes peixes foram inferiores à concentração permitida sugerida pela WHO (2005), e que não apresentavam ameaça alguma para a saúde pública. Este estudo também indicou que a água do Wadi Hanifah é muito apropriada para a atividade de pesca e segura para o consumo dos peixes. Porém, é evidente que houve bioacumulação de metais pesados nos tecidos das tilápias estudadas e que esta situação poderia piorar. Por esse motivo os autores recomendaram que fosse realizado um biomonitoramento periódico para regular os níveis de metais pesados nos peixes deste vale.

5. – Conclusões

A contaminação aquática representa uma ameaça direta na conservação e manejo dos ecossistemas aquáticos, e reduz drasticamente a disponibilidade de espaços para o desenvolvimento sustentável de uma grande variedade de atividades antropogênicas, tais como a aquicultura.

São necessários esforços coordenados entre os governos e a sociedade civil para realizar manejos adequados dos ecossistemas aquáticos, principalmente nesses tempos de crise das águas. Estes esforços deverão focar na conservação dos ecossistemas aquáticos limpos que existem e o desenvolvimento de se torna necessário contar com instrumentos de controle e vigilância desses processos ecológicos, como são os programas de monitoramento ambiental desses corpos de água.

Como mencionado neste capítulo, os peixes podem ser considerados como uma ótima ferramenta nesses programas, podendo oferecer informação sobre o real estado de saúde do ecossistema aquático. A tilápia cumpre vários de los requisitos antes mencionados neste capítulo, para ser considerada um organismos “sentinela”. Ampla distribuição geográfica (existem muitas pisciculturas espalhadas no Brasil). Possui uma elevada resistência a condições ambientais desfavoráveis e ao estresse de ficar confinada em espaços reduzidos e altamente poluídos. A biologia desta espécie é demais conhecida, com muitos estudos sobre a fisiologia, metabolismo, reprodução, assim como diversos estudos ecotoxicológicos ao redor do mundo. A tilápia é uma espécie omnívora e filtradora de hábitos alimentares variados. Sedentária, a tilápia não realiza migrações.

6. - Bibliografía

- Abdel-Baki AS, Dkhil MA & Al-Quraishy S. 2011. **Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah, Saudi Arabia.** African Journal of Biotechnology Vol. 10(13), pp. 2541-2547.
- Abell, R, Thieme, ML, Revenga, C, Bryer, M, Kottelat, M, Bogutskaya, N, Coad, B, Mandrak, N, Balderas, SC, Bussing, W, Stiassny, MLJ, Skelton, P, Allen, GR, Unmack, P, Naseka, A, Ng, R, Sindorf, N, Robertson, J, Armijo, E, Higgins, JV, Heibel, TJ, Wikramanayake, E, Olson, D, López, HL, Reis, RE, Lundberg, JG, Pérez, MHS, Petry, P. 2008. **Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation.** BioScience. 58 (5). 403-414
- Adeogun, AO, Ibor, OR, Onoja, AB, Arukwe, A. 2016. **Fish condition factor, peroxisome proliferator activated receptors and biotransformation responses in Sarotherodon melanotheron from a contaminated freshwater dam (Awba Dam) in Ibadan, Nigeria.** Mar. Env. Res. (2016) <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.02.002>
- Aitio, A., Bernard, A., Fowler, B.A., Nordberg, G.F., 2007. **Biological monitoring and biomarkers.** In: Nordberg, G.F., et al. (Eds.), **Handbook on the Toxicology of Metals**, 3rd ed. Academic Press/Elsevier, pp. 65–78 (Chapter 4).
- Allen T & Rana SVS. 2004. **Effect of Arsenic (AsIII) on Glutathione-Dependent Enzymes in Liver and Kidney of the Freshwater Fish *Channa punctatus*.** *Biological Trace Element Research.* 100, 39-48
- Almeida EA, Bainy ACD, Medeiros MHG, Di-Mascio P. 2003. **Effects of trace metal and exposure to air on serotonin and dopamine levels in tissues of the mussel *Perna perna*.** *Marine Pollution Bulletin* 46; 1485–1490
- Alonso, A, Camargo, JA. 2005. **Estado actual y perspectivas en el empleo de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos como indicadora del estado ecológico de los ecosistemas fluviales españoles.** *Ecosistemas* 14 (3): 87-99.
- Altı G, Canlı M. (2010). **Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures.** *Ecotox. and Env. Safety* 73, 1884–1889

- Atli, G, Canli EG, Eroglu, A, Canli, M. 2016. **Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species.** *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 126. 30–37
- Arrington DA, Davidson BK, Winemiller KO & Layman CA. 2006. **Influence of life history and seasonal hydrology on lipid storage in three neotropical fish species.** *Journal of Fish Biology.* 68, 1347–1361
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M., Junqueira, V.B.C., 1996. **Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site.** *Aquatic Toxicology.* 34 (2) 151-162.
- Baptista DF. 2008. **Uso de macroinvertebrados en procedimientos de biomonitoramento em ecossistemas aquáticos.** *Oecol. Bras.* 12 (3): 425-441.
- Baun A, Eriksson E, Ledin A, Mikkelsen P.S. 2006. **A methodology for ranking and hazard identification of xenobiotic organic compounds in urban stormwater.** *Science of the Total Environment* 370 29–38
- Belgiorno V, Rizzo L, Fatta D, Rocca CD, Lofrano G, Nikolaou A, Naddeo V, Meric S. 2007. Review on endocrine disrupting-emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination* 215. 166–176
- Bhaduri, A., Bogardi, J., Leentvaar, J., Marx, S. 2014. **The Global Water System in the Anthropocene. Challenges for Science and Governance.** Book. Springer Water. ISBN:978-3-319-07547-1 (Print), 978-3-319-07548-8 (Online)
- Burgeot, T., Bocquené, G, Porte, C, Dimeet, J, Santella, R, Garcia, L, Pfohl-Leszkowicz, A, Raoux, C, Galgani, F. 1996. **Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea.** *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 131 (1-3), 287-305
- Boyd CE. 2001. **Methods for improving shrimp farming in Central. Management practices for reducing the environmental impacts of shrimp farming.** Manágua: UCA University Press, 292p.
- Cantinho, P., Matos, M., Trancoso, M. A., Correia dos Santos, M. M. 2016. **Behaviour and fate of metals in urban wastewater treatment plants: a review.** *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 13:359–386. DOI 10.1007/s13762-015-0887-x
- Decaprio, AP. 1997. **Biomarkers: Coming of Age for Environmental Health and Risk Assessment.** *Environ. Sci. Technol.*, 31 (7), 1837–1848

- Dudgeon D, 2006. **The impacts of human disturbance on stream benthic invertebrates and their drift in North Sulawesi, Indonesia.** Freshw. Biol. 51, 1710–1729.
- El-Moselhy KM, Othman AI, El-Azem HA, El-Metwally MEA. 2014. **Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt.** Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences 1 (2014) 97 e105.
- Esteves, FA. 2011. **Fundamentos de Limnologia.** 3ª. Edição ISBN: 9788571932715
- Fausch KD, Lyons J, Karr JR and Angermeier PL. 1990. **Fish Communities as Indicators of Environmental Degradation.** American Fisheries Society Symposium 1990; 8:123-144.
- Fernandez, LG, Olalla, HY. 2000. **Toxicity and bioaccumulation of lead and cadmium in marine protozoan communities.** Ecotoxicology and Environmental Safety. 47: 266–276. doi:10.1006/eesa.2000. 1944.
- Ferreira AP. 2005. **Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 21(6):1884-1892
- Fossi MC, Casini S, Marsili L, Neri G, Mori G, et al. (2002) **Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish.** Mar Environ Res 54: 667-671.
- Franco J, Trevisan R, Posser T, Trivella D, Hoppe R, Rosa J, Dinslaken D, Decker H, Tasca C, Bainy R, Marques M, Bainy A.C.D., Dafre A. 2010. **Biochemical alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*.** Ecotoxicology and Environmental Safety 73. 864–872
- Fraysse B, Baudin JP, Garnier-Laplace J, Adam C, Boudou A. 2002. **Effects of Cd and Zn waterborne exposure on the uptake and depuration of ⁵⁷Co, ^{110m}Ag and ¹³⁴Cs by the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) and the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*)—whole organism study.** Environmental Pollution 118; 297–306
- Fuentes-Rios D, Orrego R, Rudolph A, Mendoza G, Gavilan J & Barra R. (2005). **EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): Biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South Pacific Ocean.** Chemos. 61. 192–199

- Gerhardt A. 2002. **Bioindicator species and their use in biomonitoring.** *Environmental Monitoring I. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO Eolss Publishers, Oxford.*
- Gonçalves-Soares D, Zanette JJ, Yunes JS, Yepiz-Plascencia GM, Bainy ACD. 2012. **Expression and activity of glutathione S-transferases and catalase in the shrimp *Litopenaeus vannamei* inoculated with a toxic *Microcystis aeruginosa* strain.** *Marine Environmental Research* 75; 54-61
- Inza, B., Ribeyre, F., Boudou, A. 1998. **Dynamics of cadmium and mercury compounds (inorganic mercury or methylmercury): uptake and depuration in *Corbicula fluminea*. Effects of temperature and pH.** *Aquatic Toxicology.* 43; 273–285.
- Jenkins, J.A., 2004, **Fish bioindicators of ecosystem condition at the Calcasieu Estuary, Louisiana: USGS Open-File Report 2004-1323,** 47p.
- Jernberg J, Pellinen J, Rantalainen A. 2013. **Identification of organic xenobiotics in urban aquatic environments using time-of-flight mass spectrometry.** *Science of the Total Environment* 450–451: 1–6
- Jobling, M. 1994. **Fish Bioenergetics.** New York: Chapman & Hall.
- Kim D, Wang Q, Sorial G, Dionysiou D & Timberlake D. 2004. A Model Approach for Evaluating Effects of Remedial Actions on Mercury Speciation and Transport in a Lake System. *Science of the Total Environment* (327) 1–15.
- Kolpin DW, Blazer VS, Gray JL, Focazio MJ, Young JA, Alvarez DA, Iwanowicz LR, Foreman WT, Furlong ET, Speiran GK, Zaugg SD, Hubbard LE, Meyer MT, Sandstrom MW, Barber LB. 2013. **Chemical contaminants in water and sediment near fish nesting sites in the Potomac River basin: Determining potential exposures to smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*).** *Science of the Total Environment.* 443. 700–716
- Kubota, A., Bainy, A.C.D., Woodin, B.R., Goldstone, J.V., Stegeman, J.J. 2013. **The cytochrome P450 2AA gene cluster in zebrafish (*Danio rerio*): Expression of *CYP2AA1* and *CYP2AA2* and response to phenobarbital-type inducers.** *Toxicology and Applied Pharmacology, Volume 272(1);* 172-179
- Lam, PKS. 2009. **Use of biomarkers in environmental monitoring.** *Ocean & Coastal Management* 52. 348–354

- Leung, H.M., Leung, A.O.W., Wang, H.S. Ma, K.K., Liang, Y., Ho, K.C., Cheung, K.C., Tohidi, F. Yung, K.K.L. 2014. **Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China.** *Marine Pollution Bulletin* 78 (2014) 235–245
- Linnik PM, Zubenko IB (2000). **Role of bottom sediments in the secondary pollution of aquatic environments by heavy metal compounds.** *Lakes and Reservoirs Res. Manage.* 5 (1): 11-21.
- Lüchmann, K.H., Mattos, J.J., Siebert, M.N., Granucci, N., Dorrington, T.S., Bicego, M.S., Taniguchi, S., Daura-Jorge, F.G., Bainy, A.C.D. 2003. **Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliensis* following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction.** *Aquatic Toxicology* 105; 652– 660
- Malik, N., Biswas, A.K., Qureshi, T.A., Borana, K., Virha, R. 2010. **Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal.** *Environ Monit Assess.* 160:267–276
- Martinez CBR, Nagae MY, Zaia CTBV & Zaia DAM. 2004. **Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*.** *Braz J Biol.* 64(4). 797-807
- Meche A, Martins MC, Lofrano BESN, Hardaway CJ, Merchant M, Verdade L. 2010. **Determination of heavy metals by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry in fish from the Piracicaba River in Southern Brazil.** *Microchem J.* 94:171e4.
- Medeiros, DI. 2008. **Expressão gênica diferencial em ostras *Crassostrea gigas* expostas a esgoto doméstico** Tese Doutor em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba
- Mommsen, T. P. 1998. **Growth and metabolism.** In *The Physiology of Fishes (Evans, D. H., ed.)*, pp. 65–100. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Monserrat, J.M., Martínez, P.E., Geracitano, L.A., Amado, L.L., Gaspar Martins, C.M., Leães Pinho, G.L., Chaves, I.S., Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., Bianchini, A. 2007. **Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives.** *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 146; 221–234

- Moscoso, J. & Nava, H. L. 1984. **Reuse of treated pond effluents for fish culture in Lima, Peru. Preliminary results of current experiments.** p 147-162. *In: Edwards, P & Pullin, R.S.V. (eds) 1988. Wastewater-fed Aquaculture, Proceedings of the international Seminar on Wastewater Reclamation and Reuse for Aquaculture, Calcutta, India, 6-9 December 1988. Environmental Sanitation Information Center, Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.*
- Moya, N., Hughes, R.M., Dominguez, E., Gibon, F.M., Goita, E., Oberdorff, T., 2010. **Macroinvertebrate-based multimetric predictive models for evaluating the human impact on biotic condition of Bolivian streams.** *Ecol. Indic.* 11, 840–847.
- Mustafa C, Guluzar A. 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ Pollut.* 121:129e36.
- National Research Council. 1991. **Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards Committee on Animals as Monitors of Environmental Hazards, Board on Environmental Studies and Toxicology, ISBN: 0-309-59489-8, 176 pages.**
- Niemi GJ, McDonald ME. 2004. **Application of Ecological Indicators. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics; 35: 89–111.**
- Nogueira L, Sanches A, Humberto da Silva D, Ferrizi V, Moreira A & Alves de Almeida, E (2011). **Biochemical biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends.** *Chemos.* 85; 97–105
- Nordberg GF. 2010. **Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China.** *Toxicology Letters* 192. 45–49
- Oliveira, A., Callisto, M. 2010 **Benthic macroinvertebrates as bioindicators of water quality in an Atlantic forest fragment.** *Iheringia, Sér. Zool.*, 100 (4): 291-300,
- Otitoju O & Onwurah I. (2007). **Glutathione S-transferase (GST) activity as a biomarker in ecological risk assessment of pesticide contaminated environment.** *African J. of Biotech.* Vol. 6 (12), pp. 1455-1459
- Pandey S, Parvez S, Ansari RA, Ali M, Kaur M, Hayat F, Ahmad F, Raisuddin S. 2008. **Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological**

and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions* 174 (2008) 183–192

- Peakall, D.B. 1994 **The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction.** *Ecotoxicology* 3, 157-160 (1994)
- Pereira, CM, Lapolli, FR. 2009. **Criação de tilápias no efluente doméstico tratado em lagoas de estabilização.** *Biotemas*, 22 (1): 93-102
- Pereira, C.D.S., Abessa, D;M;S., Choueri, R.B., Almagro-Pastor, V., Cesar, A., Maranhão, L.A., Martín-Díaz, M.L., Torres, R.J., Gusso-Choueri, P.K., Almeida, J.E., Cortez, F.S., Mozeto, A.A., Silbiger, H.L.N., Sousa, E.C.P.M., Del Valls, T.A., Bainy, A.C.D. 2014. **Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach.** *Marine Environmental Research, Volume 96; 118-126*
- Pessoa, P.C., Luchmann, K.H., Ribeiro, A.B., Veras, M.M., Correa, J.R.M.B., Nogueira, A.J., Bainy, A.C.D., Carvalho, P.S.M. 2011. **Cholinesterase inhibition and behavioral toxicity of carbofuran on *Oreochromis niloticus* early life stages.** *Aquatic Toxicology*, 105 (3–4), 312-320
- Pinto-Coelho, RM. Havens K. 2015. **Crise nas águas. Educação, ciência e governança, juntas, evitando conflitos gerados por escassez e perda da qualidade das águas.** Belo Horizonte.
- Ramade, F. 1987. **Ecotoxicology (2nd edition).** John Wiley and Sons, New York
- Riccardi, C. Di Filippo, P. Pomata, D, Di Basilio, M., Spicaglia, S., Buiarelli, F. 2013. **Identification of hydrocarbon sources in contaminated soils of three industrial areas.** *Science of the Total Environment* 450–451: 13–21
- Rocha, AA, Pereira, DN, de Pádua, HB. 1985. **Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo (Brasil).** *Rev. Saúde públ., S. Paulo*, 19:401-10.
- Roditi, H.A., Fisher, N.S., Sañudo-Wilhelmy, S.A. 2000. **Field Testing a Metal Bioaccumulation Model for Zebra Mussels.** *Environ. Sci. Technol.*, 34 (13), pp 2817–2825
- Santos-Carvalho C, Bernusso V, Selistre de Araújo H, Espíndola E & Fernandes M. (2012) **Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*.** *Chemos.* 89; 60–69

- Sarkar A, Ray D, Shrivastava AN, Sarker S. 2006. **Molecular Biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring.** *Ecotoxicology* 15: 333-340.
- Schmidt, CJ, Caldwell, CA, Olsen, B, Serdar, D. 2001. **Inhibition of Erythrocyte δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) Activity in Fish from Waters Affected by Lead Smelters.** *Environmental Monitoring and Assessment.* 77 (1), 99-119
- Sedeño-Díaz, J.E. & López-López, E. 2012. **Freshwater Fish as Sentinel Organisms: From the Molecular to the Population Level, a Review.** In: *New Advances and Contributions to Fish Biology*, Prof. Hakan Turker (Ed.).
- Sheehan, D., Power, A., 1999. **Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs.** *Comp. Biochem. Physiol.* C 123, 193–199.
- Silva AG, Martinez CBR. 2007. **Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream.** *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23. 185–192
- Spehar, RL, Carlson, RW, Lemke, AE, Mount, DI, Pickering QH, Snarski VM. 1980. **Effects of pollution on freshwater fish.** *Water Pollution Control Federation.* 52 (6), 1703-1768
- Stackelberg, PE, Furlong, ET, Meyer, MT, Zaugg, SD, Henderson, AK Reissman, DB. 2004. **Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant.** *Science of The Total Environment.* 329 (1-3), 99–113
- Torres, RJ. 2000. **Uma Análise Preliminar dos Processos de Dragagem do Porto de Rio Grande, RS.** *Dissertação Engenharia Oceânica - Fundação Universidade Federal do Rio Grande*
- Tosti E & Gallo A. 2012. **Best Biomarker and Bioindicator for Marine Environmental Pollution.** *J Marine Sci Res Development.* 2:2
- Tsangaris C, Kormas K, Strogyloudi E, Hatzianestis I, Neofitou C, et al. (2010) **Multiple biomarkers of pollution effects in caged mussels on the Greek coastline.** *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 151: 369-378.

- Ueng, YF, Liu, TY, Ueng, TH. 1995. **Induction of cytochrome P450 1A1 and monooxygenase activity in Tilapia by sediment extract.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 54 (1), 60-67
- UNEP (United Nations Environment Programme). 2004. Amazon Basin, GIWA Regional assessment 40b. University of Kalmar, Kalmar, Sweden.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. 2003. **Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review.** Environmental Toxicology and Pharmacology 13; 57_ 149
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A. 2007. **The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms - Review.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. 146. pp. 281–300
- Walker, C.H. Sibly, R.M. Hopkin, S.P. Peakall D.B. 2012. **Principles of Ecotoxicology, Fourth Edition.** Londres: Taylor & Francis Group. New York
- Wang J, Gardinali PR. 2012. **Analysis of selected pharmaceuticals in fish and the fresh water bodies directly affected by reclaimed water using liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** Anal Bioanal Chem. 404:2711–2720
- WHO. 2005. Guidelines for drinking water. WHO, Geneva
- Yee, TW, Ding, L, Lim, LK, Wang, ZY. 2011. **Geotextile containment solutions for disposal of contaminated sediments in China.** Proceedings of 2011 WEDA Technical Conference and Texas A&M Dredging Seminar. Nashville, Tennessee, June 5-8, 2011.
- Zagrebin, AO, Rumyantsev, VA & Tonkopii, VD. 2016. **Developing Methods for Bioidentification of Xenobiotics for Water Quality Assessment.** Water Resources, 2016, Vol. 43, No. 1, pp. 141–144
- Zanette, J., Almeida, E.A., da Silva, A.Z., Guzinski, J, Ferreira, J.F., Di Mascio, P., Marques, M.R.F., Bairy, A.C.D. 2011; **Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the Crassostrea gigas oyster exposed to diesel oil.** *Science of the Total Environment* 409 (2011) 1976–1983

- Zhang, Y, Liang, L, Shi, J, Jiang, G. 2004. **Study on the contamination of heavy metals and their correlations in mollusks collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea.** *Environment International*. 31 (8), 1103–1113
- Zhao S, Feng C, Quan W, Chen X, Niu J, Shen Z. 2012. **Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China.** *Mar Pollut Bull*; 64:1163e71.
- Zhi-Hua L, Zlabek V, Turek J, Velisek J, Pulkrabova J, Kolarova J, Sudova E, Berankova P, Hradkova P, Hajslova J & Randak T. 2011. **Evaluating environmental impact of STPs situated on streams in the Czech Republic: An integrated approach to biomonitoring the aquatic environment.** *Water Research* 45, 1403 – 1413.
- Zhou, Q.F., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G. 2008. **Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem.** *analytica chimica acta*. 606, 135–150.

CAPÍTULO 2

**Use of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as
bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in
Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil.**

Use of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil.

Alberto Saenz I^{1*}, Miguel S Serrano², Maria Gonzalez-Rey², Jaco J Matos², Afonso D Bairy², Kleber C Miranda³, Ricardo M Pinto-Coelho¹

1 Laboratório de Gestão Ambiental de Reservatórios, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (MG-Brazil)

2 Laboratório de Biomarcadores e Imunoquímica, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (SC-Brazil)

3 Laboratório de Aquicultura, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (MG-Brazil)

*MSc Alberto Sáenz Isla

Laboratório de Gestão Ambiental de Reservatórios - LGAR

Departamento de Biologia Geral - BIG

Instituto de Ciências Biológicas - ICB

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627

31270-901 Belo Horizonte (MG)

Telefax 031 3409 2605

albertosaenz2012@ufmg.br – alberto.saenz2007@gmail.com

Use of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator of aquatic pollution in two reservoirs in Itabapoana River, Rio de Janeiro, Brazil.

Alberto Saenz I¹ , Miguel S Serrano² , Maria Gonzalez-Rey² , Jaco J Matos² , Afonso D Bairy² , Kleber C. Miranda³ , Ricardo M Pinto-Coelho¹

1 Laboratório de Gestão Ambiental de Reservatórios, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (MG-Brazil)

2 Laboratório de Biomarcadores e Imunoquímica, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (SC-Brazil)

3 Laboratório de Aquicultura, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (MG-Brazil)

Abstract

Fish are good environmental bioindicators and assessment of biomarkers in their tissues is an excellent tool for monitoring aquatic pollution for a range of xenobiotics, such as those in domestic sewage. In this study, the activities of biomarkers *Ethoxyresorufin-O-deethylase* (EROD) and *Glutathione S-transferase* (GST) were assessed in the liver of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The fish with the objective of evaluating underwent short term (1 week) exposure in the surface water of the reservoirs of two Small Hydroelectric Power Plants (PCH1 and PCH2) in Itabapoana River-RJ-Brazil, upstream and downstream of a city with 40 thousand habitants. Enzyme activity of EROD was significantly higher in the reservoir PCH2 in relation to the reservoir PCH1. Concerning GST activity, the reservoir PCH2 also exhibited higher levels of activity. Meanwhile, no significant differences were registered between exposure places within each PCH. Variations in biomarkers indicate that the river Itabapoana is polluted by organic compounds present in wastewater released without treatment by the city.

Keywords: Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD); Glutathione S-transferase (GST); Biomarkers; Nile Tilapia; Aquatic Pollution; Sentinel Organism; Ecotoxicological Assessment..

1. Introduction

The lack of efficient sewage treatment programs is commonplace in many cities, especially in small towns with low capacity or poor treatment systems. Itabapoana river is the largest body of water in the southeast of Brazil. This river receives effluent discharges without proper treatment from the Bom Jesus de Itabapoana town. The wastewater are associated with a variety of organic and inorganic pollutants, also known as xenobiotics, which produce many toxic, or even lethal and sub-lethal effects on living beings. To know the pollution level of the aquatic ecosystems, ecotoxicological studies and biomonitoring programs were developed using aquatic organisms or *bioindicators* (Pereira *et al.*, 2014).

In aquatic biomonitoring, understanding the biological responses of organisms can be used as an environmental tool, providing information to determine the effects associated with potential sources of contamination (Franco *et al.*, 2010). Such biological responses are referred to as biomarkers, and are used to measure the exposure and the effect caused by various contaminants such as metals, organic compounds, and agrotoxics (Freire *et al.*, 2008, Franco *et al.*, 2010). The enzymes 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) (Sarkar *et al.*, 2006; Tsangaris *et al.*, 2010) and Glutathione S-transferase (GST) (Adeogun *et al.*, 2016) have been used as biomarkers in biomonitoring programs throughout the world, using aquatic organisms as bioindicators. EROD is part of the toxic biotransformation system in the liver which, in Phase I, catalyzes the reaction of oxidation to obtain a small increase in hydrophilicity (Tsangaris *et al.*, 2010). GST is another family of detoxifying enzymes that is essential in cellular detoxification of many xenobiotics during Phase II of the biotransformation system, and also exerts an antioxidant function for cell protection (Nogueira *et al.* 2011; Adeogun *et al.*, 2016). The aim of this research was to determine the occurrence of environmental impact by water pollution in Itabapoana river, in the Baixada Fluminense region (RJ-Brazil), using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as a bioindicator, transplanted into two reservoirs of small hydroelectric power plants (PCH) to perform an ecotoxicological study on biochemical levels and registering the activity of the two biomarkers (EROD and GST) in these fish.

2. Methodology

2.1. Exposure sites

The reservoirs are part of two PCH (small hydroelectric plants) and are located along the river Itabapoana (Figure 1.1), upstream (PCH1) and downstream (PCH2) of Bom Jesus de Itabapoana city (RJ), on the border between the states of Rio de Janeiro and Espírito Santo (Brazil). Itabapoana city has less than 40,000 inhabitants. In each reservoir, three sites were chosen for the study: backwater of each reservoir, upstream of the dam axis and downstream of the powerhouse of each PCHs.



Figure 2.1- Location of the PCHs on Itabapoana river (RJ/ES, Brazil)

2.2. Animals

99 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), with an average weight of 59.3 ± 18.8 grams, were obtained from the “La Plata” fish farm (Eugenópolis, Muriae-MG, Brazil). The fish were transported to six sites chosen for the exposure study and placed in cages 1 m³ (TRs). 13 tilapias were placed in each cage according to the experimental design. Once the TRs were installed at PCH1 and PCH2, the tilapias were kept under fasted conditions for a total duration of exposure of 1 week (July 26, 2013 until August 1, 2013). At the end of the exposure period, the total number of collected tissues was 99 livers.

2.3. Water quality

Water quality data were obtained from the company responsible for the operations of the PCHs. These data covered the historical of monitoring these reservoirs between 2011 and 2013 (April, June, September and December 2011; April, July, October and December 2012; April and July 2013). The information obtained was compared with sampling and monitoring of temperature, dissolved oxygen, pH, conductivity, ammonia, nitrate and chlorophyll-a during the experiment using a Multi-parameter Probe (ISYS).

2.4. Biometric assessment of fish

Each fish collected was evaluated biometrically, recording the length, body weight, liver weight and gonad weight. The hepatosomatic index (HSI), defined as the ratio of liver weight and total body weight, and gonadosomatic index (GSI), the ratio between gonad weight and total body weight were calculated. Sex of the animals was determined by visual examination, and the stage of sexual development was also determined macroscopically, according to Vazzoler (1996). Liver samples were isolated and stored in liquid nitrogen (-163°C), and transported to biomarker analyses at “Biomarkers Laboratory of the Federal University of Santa Catarina” (LABCAI-CCA-UFSC).

2.5. Assessment of biomarkers

2.5.1. Homogenization and centrifugation of the samples

The liver samples were homogenized in 1:4 (w / v) buffer Tris HCl 20 mM, EDTA 1 mM, sucrose 0.5 M, DTT 1 mM, PMSF 0.1 M, pH 8,0, using a "*Tissue tearor*" (Biospec Prod. INC.). The resulting homogenate was centrifuged at 9,000 x g for 30 minutes at 4° C for analysis of GST and EROD enzymes, posteriorly the supernatants were stored at -80°C (Mattos, 2010)

2.5.2. Analysis of enzyme activity and protein dosage

The activity of EROD in the microsomal fraction was calculated according to the method described by Mattos (2010) by measuring the increase in fluorescence of the resorufin with a spectrofluorometer (Ex/Em 530/585). The concentrations in the assay were as follows: NADPH 1.67 mM; Ethoxy-resorufine 2.6 µM; tris 0.1 M, at pH 7.8. The EROD activity was expressed as picomoles of EROD per minute per milligram of protein. The enzymatic activity of GST was determined by the method described by Keen et al. (1976), adapted to microplates as proposed by Trivella (Franco *et al.*, 2006), using a concentration of CDNB (2.22 mM 1-chloro, 2,4-dinitrobenzene) and 2.22 mM of GSH at pH 7. Fluorescence of prepared samples was determined using a spectrofluorometer (340 nm for 5 min). GST activity was expressed in mU product 2,4-dinitrophenyl glutathione per minute per mg protein. Each GST unit corresponds to each mMol CNDB spent in the reaction. The concentration of proteins in the cytoplasmic fraction was calculated according to Bradford's method (Bradford 1976) modified by Mattos (2010), using bovine serum albumin as standard. The assay was performed in microplates and the results of this measurement were used to normalize the data of enzymatic activity.

2.6. Statistical Analysis

All values for enzyme activity and biometrics were evaluated statistically with the Statistic program, using one-way ANOVA and Tukey's test to compare data between sites of exposure. The historical data of water quality of the Itabapoana River, and the reservoirs at PCH1 and PCH2 were evaluated using Student's T-test for multiple independent samples by groups.

3. Results

3.1. Water physical-chemical evaluation

The temperature, electrical conductivity and levels of ammonia, showed significantly higher values in the reservoir of PCH2 than those in PCH1. The dissolved oxygen values were significantly smaller at PCH2 than at PCH1. The pH, nitrates and chlorophyll-a showed no significant differences (Figure 2.2).

3.2. Biometric analyzes of fish

The body size of different groups of Nile tilapia used in the biomarker studies was not significantly different from each other (Table 2.1). Every fish sample consisted of male. Gonads of most of the fish used in the study had not reached the sexual maturation. When adequate sample sizes were available for the fish collected from different sampling sites, the influence of hepatosomatic index index on each biomarker response (hepatic EROD and GST) in the cultivated tilapia collected from the respective sampling sites were tested statistically. However no significant difference was founded ($P > 0.05$) between these indexes and the biomarkers responses tested (Results not shown).

Table 2.1 - Biometric changes data obtained from fish in the reservoirs studied PCH1 and PCH2.

	Sample	Weight (gr)	Large (cm)	HSI
PCH1	P1	83,12 ± 23,98	17,15 ± 1,85	0,01045 ± 0,0031
	P2	49,98 ± 7,80	14,65 ± 0,78	0,00957 ± 0,0025
	P3	50,03 ± 10,45	14,99 ± 1,31	0,00875 ± 0,0028
PCH2	PG1	61,79 ± 12,57	15,96 ± 1,14	0,00767 ± 0,0019
	PG2	58,52 ± 13,59	15,87 ± 0,91	0,00797 ± 0,0021
	PG3	63,02 ± 18,89	16,10 ± 1,34	0,00819 ± 0,0010

n = 13 tilapias to each sample site

HSI = hepatosomatic index

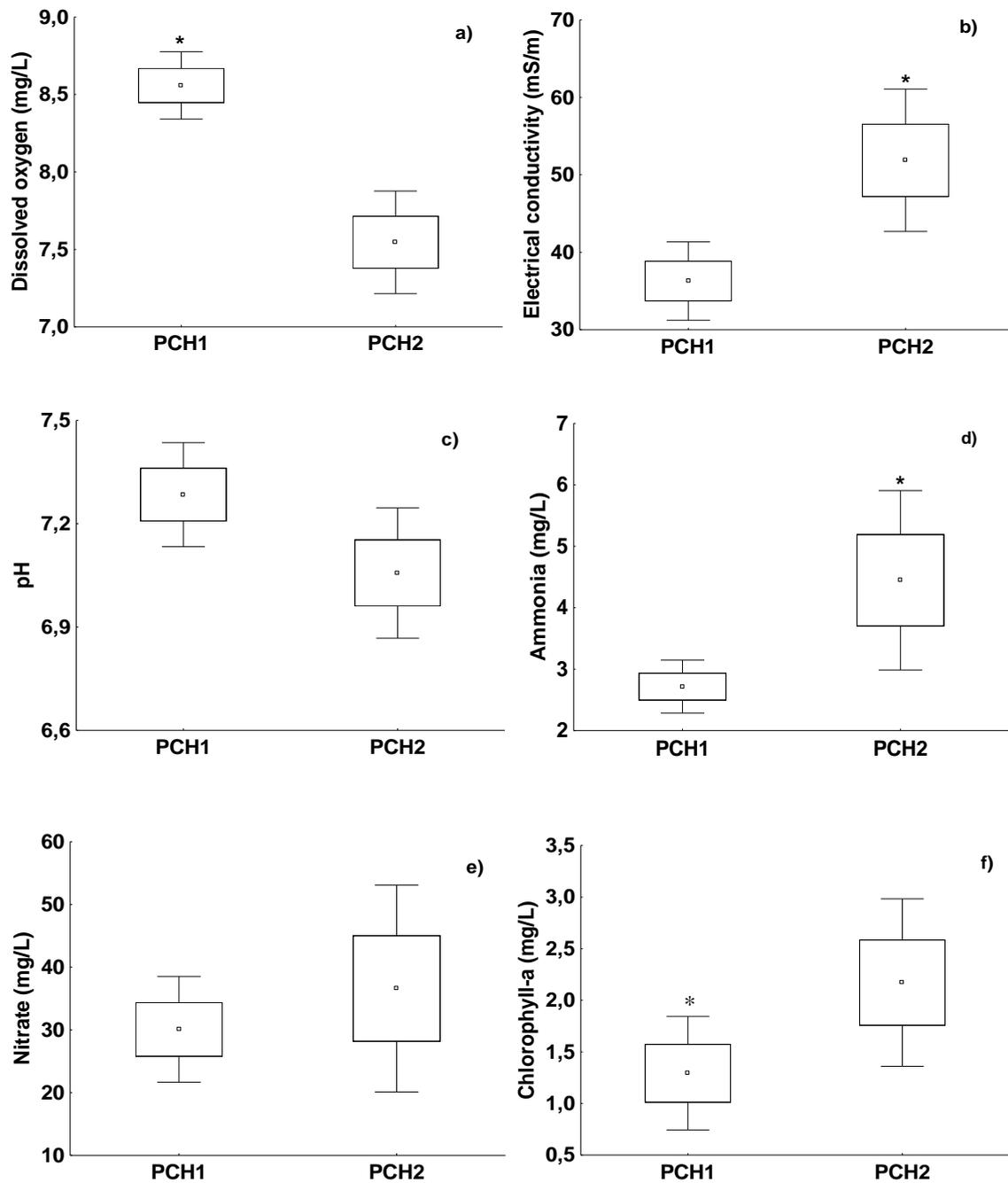


Figure 2.2 - Variations in water quality at reservoirs PCH1 and PCH2 in Itabapoana river, over the years 2011 to 2013 (Source Neoenergy). Differences in parameters were compared using Student's t-test: a) dissolved oxygen ($p < 0.001$); b) electrical conductivity ($p = 0.002$); c) pH ($p = 0.074$); d) ammonia ($p = 0.008$); e) nitrate ($p = 0.447$); f) chlorophyll-a ($p = 0.075$). * Indicates a significant difference ($p < 0.001$) between the reservoirs.

3.3. Analysis of biomarkers

Hepatic EROD as a biomarker Hepatic EROD and GST activities in cultivated Nile tilapia sampled from PCH1 e PCH2 reservoirs are compared between them Fig. 4. The results revealed that hepatic EROD and GST activities of the fish collected from PCH2 reservoir (downstream site of the city) in all sampling sites were significantly higher from those of the PCH1 reservoir (upstream site of the city) (Figure 2.3).

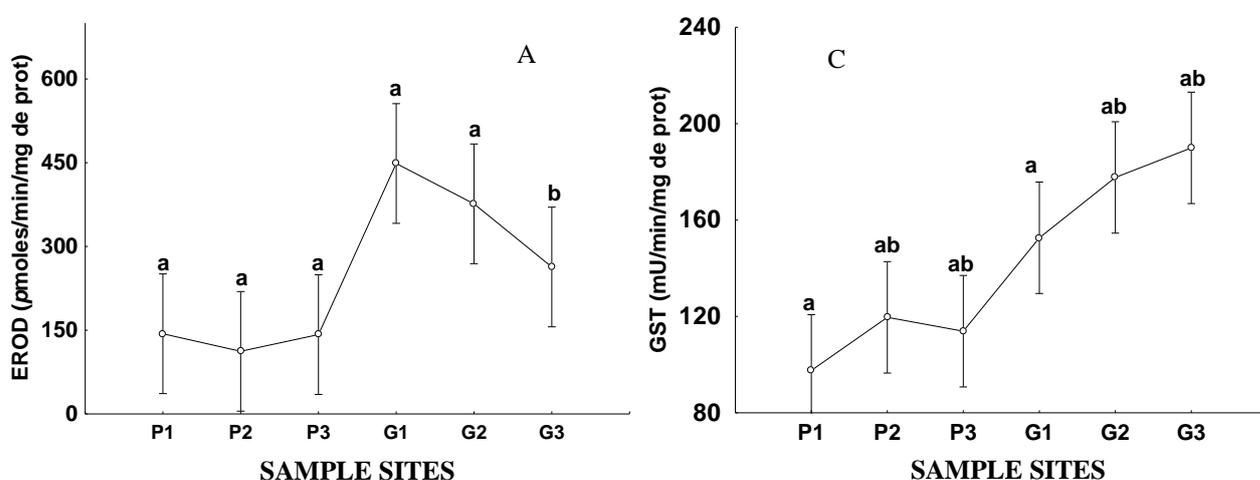


Figure 2.3 - Changes in enzyme activities of EROD and GST biomarkers respectively; comparing the results between sampling sites (A and C) and between all sites in PCH1 and PCH2 reservoirs.

4. Discussion

4.1. Water quality of the river Itabapoana

Water quality monitoring data in Itabapoana river showed changes in abiotic factors that could have influenced the response of the biomarkers studied. The DO levels were high, exceeding the expected DO values for these temperatures and pH (Arana 2004). According to Santos Carvalho et al. (2012), extreme variations in the levels of DO can influence in fishes interfering with the normal function of antioxidant enzymes. In our research were founded low values of DO in the PCH2 reservoir, what could be influencing the activity of the enzymes studied. Water conductivity, can result in adverse ecological effects on aquatic biota (Morrison *et al.*, 2001). In fact, electrical conductivity was significantly higher in the PCH2 reservoir, after receiving the urban sewage, what

could be influencing this parameter. The presence of ammonia in water is a direct indicator of organic pollution of anthropogenic origin, such as households (Morrison *et al.*, 2001) that can directly influence the regulation of various metabolic pathways in fish (Arana 2004, Santos Carvalho *et al.* 2012). In the study by Morrison *et al.* (2001) on the Keiskamma River, ammonia concentrations from 3.7 up to 29.5 mg / L were recorded, however since the pH of the river was lower than 8.5, the ammonia present in this river was not in the toxic form. Being higher in the PCH2 reservoir. What could be indicating anthropogenic impact from the city. Finally, the higher chlorophyll-a concentration in PCH2 reservoir maybe be linked with ammonia and nitrates presence since plants have an alimentary demand based in nutrients such as nitrate.

4.2. Assessment of Biomarkers

Gagnon and Holdway (2002) reported that EROD activity was generally lower in sand flathead (*Platycephalus bassensis*) collected from the non-urbanized and non-industrialized southern part of Port Phillip Bay, Australia, as compared to more urbanized and industrialized areas. Receptor-mediated induction of cytochrome P450-dependent monooxygenases (specifically the CYP1A subfamily) by xenobiotic chemicals has also provided a highly sensitive indicator of contaminant exposure in fish. GST is a major biochemical biomarker used to determine the presence of xenobiotics that produce oxidative stress resulting in the induction of this enzyme (Medeiros, 2000; Walker *et al.*, 2012). Santos-Carvalho *et al.* (2012) denoted elevated GST activities in tilapia liver from a contaminated site (Monjolinho river, São Carlos-SP, Brazil) compared with those from a site in absence of industrial activities indicating that this enzyme responds to cellular oxidative stress by peroxidase activity.

Pathiratne *et al.*, (2009), conclude that responses of hepatic EROD and GST from Nile tilapia can be used as a suite of biomarkers in future biomonitoring programmes in assessing pollution status and pollution trends in water resources. According with these same authors the induction of hepatic EROD activity in the fish collected from three polluted lakes in Sri Lanka were ranged between 750 – 1600 picomoles of resorufin/minute/mg of protein and the laboratory control bioassay was 100 picomoles of resorufin/minute/mg of protein. Likewise, hepatic GST activities of the fish caught from same polluted areas were ranged between 750 – 1400 mU/min/mg of protein and the laboratory control bioassay was 450 mU/min/mg of protein.

Although the results in Sri Lanka lakes were 4,5 folds to EROD activities and 8,5 folds to GST activities higher than the results of reservoirs in this work, our results showed that exist presence of anthropogenic xenobiotics in the water. However, hepatic GST activities were very lower when compared with the Sri Lanka control laboratory results to same biomarker. Therefore the large significant difference of hepatic EROD activities biomarkers between reservoirs, suggests that exist evidence of urban wastewater pollution focused in PCH2 reservoir.

5. Conclusions

Fishes exposed in the reservoir at PCH2 exhibited significantly increased activity of the biomarkers EROD and GST in the liver, likely induced by the presence of organic pollutants from domestic sewage released from the city. Notwithstanding, hepatic EROD activity responded better to detect presence of anthropogenic xenobiotics, such as hydrocarbons derivate and pesticides possibly.

Finally, was demonstrate the importance of biomarkers responses in biomonitoring programs and water quality assessment. Furthermore, Nile tilapia revealed to be a quite suitable sentinel organism on the aquatic ecosystem assessment in field experiments.

6. Recommendations

Biomarkers, such as hepatic EROD and GST, and fish as sentinels organisms, as Nile tilapia, should be included in future biomonitoring programs of aquatic ecosystems to serve in the determination of pollutants toxic effects on aquatic organisms specifically xenobiotics of urban procedence.

7. Acknowledgements

Special thanks to Grupo Neoenergia- Rio PCH I company by the facilities for the development of this research in the PCHs and provide water quality historical data base about Itabapoana river, to ICATU Meio Ambiente environmental consultant for logistical and financial support, the Laboratory Environmental Management Reservoirs (ICBUFGM), to Laboratory of Biomarkers LABCAI UFSC by the biochemical analysis, the Federal University of Minas Gerais by the academic support, and the agency CAPES for a PhD scholarship.

8. Bibliography

- Adeogun, AO, Ibor, OR, Onoja, AB, Arukwe, A. 2016. **Fish condition factor, peroxisome proliferator activated receptors and biotransformation responses in Sarotherodon melanotheron from a contaminated freshwater dam (Awba Dam) in Ibadan, Nigeria.** Mar. Env. Res. (2016)
- Arana, L.V., 2004. Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. 2a Ed. UFSC. Florianópolis, 231pp.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–254.
- Franco J, Trivella D, Trevisan R, Dinslaken D, Decker H, Marques M, Bainy ACD, Dafre AL. 2006. **Antioxidant status and stress proteins in the gills of the brown mussel *Perna perna* exposed to zinc** *Chemico-Biological Interactions*. 160 (3), 232–240
- Franco J, Trevisan R, Posser T, Trivella D, Hoppe R, Rosa J, Dinslaken D, Decker H, Tasca C, Bainy R, Marques M, Bainy A.C.D., Dafre A. 2010. **Biochemical alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*.** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73. 864–872
- Freire, M.M., Santos, V.G., Ginuino, I.S.F., Arias, A.R.L., 2008. **Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos.** *Oecol. Bras.*, 12 (3), 347-354.
- Gagnon MM, Holdway DA. 2002. **EROD activity, serum SDH and PAH biliary metabolites in sand flathead (*Platycephalus bassensis*) collected in Port Phillip Bay, Australia.** *Marine Pollution Bulletin* 2002;44:230–7.
- Keen, J.H., Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1976. **Mechanism for several activities of Glutathione S-transferases.** *J. Biological Chemistry*, 251 (20), 6183-6188.
- Mattos, J.J., 2010. **Respostas bioquímicas e moleculares no peixe *Poecilia vivípara* exposto a fração de óleo diesel acomodada em água.** Mestrado em Bioquímica, UFSC.
- Medeiros, I.D., 2000. **Padronização de algumas enzimas detoxificantes como biomarcadores de contaminação aquática.** Mestrado em Aquicultura, UFSC.

- Morrison, G., Fatoki, O. S., Persson, L., Ekberg, A., 2001. **Assessment of the impact of point source pollution from the Keiskammahoeck Sewage Treatment Plant on the Keiskamma River - pH, electrical conductivity, oxygen-demanding substance (COD) and nutrients.** Water SA Vol. 27 No. 4
- Nogueira, L., Sanches, A., Humberto da Silva, D., Ferrizi, V., Moreira, A., Alves de Almeida, E., 2011. **Biochemical biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends.** Chemos. 85; 97–105
- Pathiratne, A., Chandrasekera, L.W., Pathiratne, K.A. 2009. **Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, an urban water body in Sri Lanka.** Environ. Monit. Assess., 156 (1-4), 361-375 - DOI 10.1007/s10661-008-0490-4
- Pereira, C.D.S., Abessa, D;M;S., Choueri, R.B., Almagro-Pastor, V., Cesar, A., Maranhão, L.A., Martín-Díaz, M.L., Torres, R.J., Gusso-Choueri, P.K., Almeida, J.E., Cortez, F.S., Mozeto, A.A., Silbiger, H.L.N., Sousa, E.C.P.M., Del Valls, T.A., Bainy, A.C.D. 2014. **Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach.** *Marine Enviro. Res., Volume 96; 118-126*
- Santos-Carvalho, C., Bernusso, V.A., de Araújo, H.S.S., Espíndola, E.L.G., Fernandes, M.N., 2012. **Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*.** Chemosphere 89, 60–69
- Sarkar A, Ray D, Shrivastava AN, Sarker S. 2006. **Molecular Biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring.** Ecotoxicology 15: 333-340.
- Tsangaris C, Kormas K, Strogyloudi E, Hatzianestis I, Neofitou C, et al. (2010) **Multiple biomarkers of pollution effects in caged mussels on the Greek coastline.** Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 151: 369-378.
- Vazzoler, A.E.A.M., 1996. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.** Maringá: EDUEM.
- Walker, C.H. Sibly, R.M. Hopkin, S.P. Peakall D.B. 2012. **Principles of Ecotoxicology, Fourth Edition.** Londres: Taylor & Francis Group. New York

•

Capitulo 3

**Bioacumulação de metais chumbo e zinco em peixes
durante o Programa de Biomonitoramento
Ecotoxicológico na represa da Pampulha, Belo
Horizonte (MG).**

Bioacumulação de metais chumbo e zinco em peixes durante o Programa de Biomonitoramento Ecotoxicológico na represa da Pampulha, Belo Horizonte (MG).

**L. Alberto Sáenz I., Fernanda Freitas, Kleber C. Miranda & Ricardo Motta-Pinto
Coelho**

Resumo

A Represa da Pampulha é o principal corpo de água na cidade de Belo Horizonte (MG-Brasil). Recebe rejeitos urbanos os quais têm provocado uma poluição aquática considerável. Por essa razão, a prefeitura da cidade resolveu desenvolver um programa de despoluição da represa, realizando obras de dragagem nas áreas assoreadas durante o período de 2013 - 2014. Nesse mesmo tempo, foi realizado um programa de biomonitoramento ambiental na Represa da Pampulha (Janeiro 2014 até Janeiro 2015), usando tilápias do Nilo para determinar o grau de bioacumulação de metais pesados (Pb e Zn) nos tecidos (brânquias e músculo) que possam ser liberados do fundo do reservatório por efeito da dragagem. Os peixes ficaram expostos a condições naturais da represa por uma média de 50 dias por cada experimento, ao todo foram realizados quatro experimentos. Assim, os resultados mostraram que a concentração de metais tanto na água como no sedimento não ultrapassaram os valores máximos permissíveis. Os valores da concentração de chumbo nos peixes, no entanto, foram superiores ao recomendado pela WHO/FAO (0,5 mg/k de tecido) para peixe cru como alimento. Entanto que os valores de zinco, registraram-se duas vezes para as brânquias e mais de 5 vezes inferiores no músculo, aos limites da WHO/FAO (50 mg/k de tecido) para peixe cru como alimento de 50 mg de Zn/k de tecido. Os valores encontrados de chumbo e zinco na água e nos sedimentos são duas vezes menores aos registrados 10 anos antes. É possível que as obras de dragagem da Represa da Pampulha tenham gerado o acréscimo da concentração de chumbo e zinco nos tecidos dos peixes da Pampulha, como pode ser observado nos nossos resultados com tilápias, sendo estes maiores nas brânquias do que no músculo. Uma vez concluídas as obras de dragagem os valores de bioacumulação dos metais pesados nas tilápias diminuíram consideravelmente.

Bioaccumulation of lead and zinc in fish during the ecotoxicological Biomonitoring Program at reservoir Lake of Pampulha, Belo Horizonte (Brasil).

**L. Alberto Sáenz I., Fernanda Freitas, Kleber C. Miranda & Ricardo Motta-Pinto
Coelho**

Abstract

The Pampulha reservoir is the main body water in Belo Horizonte city (Minas Gerais - Brazil). Receiving urban wastes which have caused considerable water pollution. For this reason, the city government decided to develop a depollution program of this reservoir, performing dredging silted areas during the period 2013 - 2014. The same time, there was a biomonitoring program in the Pampulha reservoir (January 2014 to January 2015), using Nile tilapia cultured fish to determine the level of metal bioaccumulation (Pb and Zn) in this fish tissues (gills and muscle), that can be released from the reservoir bottom as a result of dredging. The fish are exposed to natural conditions of the reservoir by an average of 50 days for each experiment, a total of four experiments were conducted. Thus, the results showed that the concentration of metals in both water and sediments have not exceeded maximum allowable values. The values of the concentration of lead in fish (gills and muscle), however, were higher than the recommended by WHO/FAO (0,5 mg/k of tissue) to raw fish as a food. On the other hand, zinc values were registered twice to the gills and more than 5 times lower in muscle, compared to limits of WHO/FAO (50 mg/k of tissue) to raw fish as a food. The values of lead and zinc in the water and sediments are twice lower those recorded 10 years ago. Its possible than the dredging of the Pampulha reservoir generated the increase of the concentration of lead and zinc in the tissues of Pampulha fish, as this can be observated in our results with tilapia, these being higher in gills than in muscle. Once completed the dredging works in the Pampulha reservoir, the bioaccumulation values of these metals in tilapia decreased considerably.

1.- Introdução

A poluição ambiental urbana nos países em desenvolvimento é um problema de ordem mundial, e continua aumentando nas últimas décadas, especialmente em relação ao aporte de metais pesados aos ecossistemas aquáticos via esgotos urbanos (Malik *et al.*, 2010). A principal causa desse fenômeno é o crescimento das cidades com explosão demográfica, aumento da tecnologia e o crescimento econômico dessas urbes, o qual tem gerado maior produção de resíduos sólidos e líquidos na forma de esgotos urbanos (domésticos e industriais), os que são transportados até os corpos de água, onde são lançados sem tratamento apropriado, diluindo-se na água e sedimentando-se no fundo dos ecossistemas aquáticos, bioacumulando-se nos organismos aquáticos que nesse meio existam (Voigt *et al.*, 2016).

Dentre esses poluentes, destacam-se os metais pesados. Compostos que não podem ser degradados na natureza, e que passam rapidamente a formar parte da cadeia trófica pelas suas ligações lipofílicas que facilitam sua absorção e bioacumulação nos organismos aquáticos (Abdel-Baki *et al.*, 2011; Walker *et al.*, 2012; El-Moselhy *et al.*, 2014), alterando dessa maneira o ecossistema aquático (Pourang, 1995; Leung *et al.*, 2014). Como parece vir acontecendo na represa da Pampulha (Pinto-Coelho, 2001).

O ingresso dos contaminantes nos organismos aquáticos apresenta, segundo Walker *et al.* (2012), duas vias importantes; a primeira pela ingestão de água (brânquias) e a segunda pela alimentação. As brânquias, por possuírem uma grande superfície de contato e uma fina camada de células que as separam da corrente sanguínea, levando a uma pequena distância de difusão, é a principal rota de entrada de metais em peixes. Este tecido, segundo Moreira (2015), é considerado como o melhor mecanismo de excreção de metais do metabolismo visto sua grande superfície de contato e de troca de ions entre o meio externo e a corrente sanguínea (osmoregulação). Os metais também podem se acumular em vários tecidos, incluindo o músculo, como processo final de estocagem, uma vez que o processo de excreção, pelo rim ou brânquias, dos poluentes biotransformados não teve sucesso; é por isso esperado que este tecido bioacumule menor quantidade de metais do que os outros tecidos. Em muitos casos, o músculo serve como alimento à população humana e aí radica a importância na saúde pública de estudar este tecido (Wood, 2011).

Pelo mencionado anteriormente, os metais podem ser bioacumulados e biomagnificados nos peixes, colocando em risco sanitário as populações humanas que

consomem estes e outros organismos aquáticos (Damodharan & Reddy, 2013; Elnabris *et al.*, 2013; Moreira, 2015). Na Represa da Pampulha também foi registrado teores de metais bioacumulados em organismos planctônicos e macroalgas (Pinto-Coelho & Greco, 1998). Acompanhando a dinâmica da teia alimentarna relação predador-presa, os peixes, como predadores, biomagnificariam os poluentes bioacumulados pelos organismos presa (organismos planctônicos, larvas de outros organismos aquáticos e até peixes pequenos) que bioacumularam metais desde a água ou sedimentos. Os peixes refletem a dinâmica desses poluentes através do ecossistema, e por essa razão eles são considerados como bioindicadores de poluição aquática, sendo usados como ferramenta na avaliação da qualidade da água (Birungi *et al.*, 2007; Pereira & Lapolli, 2009; Sedeño-Díaz & López-López, 2012; Voigt *et al.*, 2016).

O objetivo do presente estudo foi determinar se existe contaminação de chumbo e zinco na água da represa da Pampulha (Belo Horizonte - Minas Gerais, Brasil), e se estes metais foram bioacumulados nos tecidos das tilápias *Oreochromis niloticus*. Finalmente, este estudo pretende determinar se o acúmulo desses metais foi diferente entre o músculo e brânquias.

2.- Materiais e Métodos

2.1.- Locais de exposição

A represa “Lagoa da Pampulha” é um pequeno e raso lago artificial (volume = 9.998.240 m³, área = 2,4 km²), que integra o Complexo Arquitetônico da Pampulha em Belo Horizonte – MG (19°55’09”S, 43°56’47”W), Brasil, e que representa o cartão postal da cidade. Forma parte da bacia da Pampulha (área de 97 km²) que deságua no rio das Velhas. Segundo estudos batimétricos, a represa apresenta uma profundidade média de 5,08 m e máxima de 16,17 m (Pinto-Coelho, 2001).

Esta represa apresenta problemas na qualidade da água, originado pela crescente eutrofização e assoramento da represa provocado pelo ingresso de esgoto, o que acrescenta a biodisponibilização de nutrientes -elevando a produção primária- gerando uma série de problemas ambientais, tais como: proliferação de algas, macrofitas, mosquitos, etc; morte periódica de peixes somada aos problemas estéticos (odor, cor, aspecto visual, etc), registrando teores de metais na flora aquática na represa da Pampulha (Pinto Coelho & Greco, 1998). Com a intenção de reduzir estes problemas a prefeitura da cidade de Belo Horizonte, determinou reduzir o ingresso de esgoto no

reservatório e planejou executar obras de dragagem (para diminuir o assoramento) nesta represa durante o período de outubro de 2013 até outubro de 2014. A dragagem da Lagoa da Pampulha formou parte das medidas assumidas pela prefeitura no Programa de Despoluição da Lagoa da Pampulha.

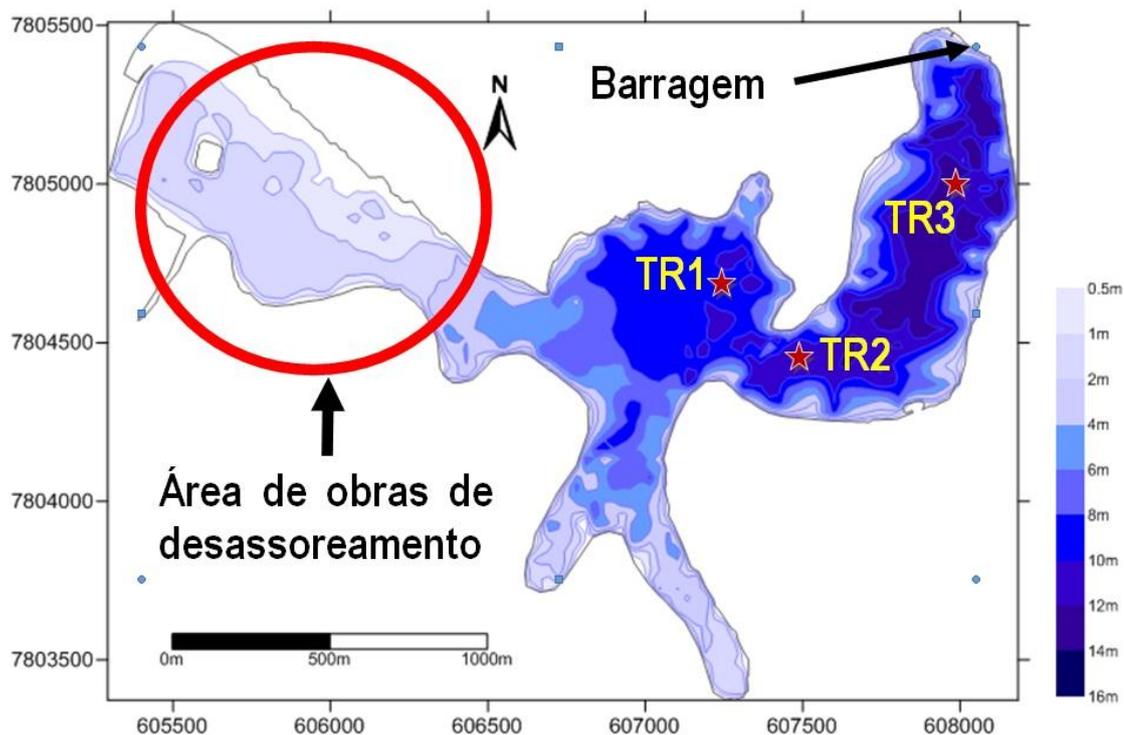


Figura 3.1.- Carta batimétrica do Reservatório da Pampulha – 2010 (Resck *et al.*, 2010). Área dos locais de exposição (estrelas vermelhas).

Esta represa apresenta três compartimentos horizontais claramente definidos pela profundidade. Segundo Pinto-Coelho (2001), o primeiro compartimento possui uma profundidade média de 1,5 m (onde foram concentradas as obras de dragagem), o segundo apresenta uma profundidade que oscila entre 4 até 12 metros; a terceira seção é a mais profunda e esta localizada na área da barragem, com 12 a 14 metros de profundidade. (Figura 3.1).

Quatro experimentos (AM01, AM02, AM03 e AM04) foram realizados em três locais de exposição na represa da Pampulha (Belo Horizonte – MG) (Figura 3.1), foram usados 03 tanques rede de 1 cada m³ de volume (TR1, TR2, TR3), doados pela empresa PIRAI tanque rede. Estes locais estavam localizados na jusante das obras de

dragagem para o desassoreamento da represa, que foram executadas pela prefeitura de Belo Horizonte durante o 2014. O TR1 foi colocado na parte mais profunda da segunda seção, e as outras duas unidades experimentais (TR2, TR3) na terceira seção. O critério para a escolha destes locais baseia-se em que esses locais localizam-se no eixo central da represa, são as áreas de maior profundidade e velocidade de corrente que o resto da represa, e por apresentar a menor taxa de retenção da lagoa (Pinto-Coelho, 2001).

A unidade controle (C) foi montada no Laboratório de Aquicultura (LAQUA), na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. O tratamento controle consistiu de dois tanques circulares de PVC de 1 m³ cada, com um sistema de recirculação de água (SRA) independente. As tilápias controle ficaram expostas a condições ambientais controladas (temperatura, oxigênio dissolvido, vazão e alimentação).

2.2.- Animais em estudo

As tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram obtidas no LAQUA (UFMG) e foram transferidas para cada um dos locais de exposição na represa da Pampulha em quatro experimentos (AM01, AM02, AM03, AM04) com duração média de 50 dias, cada. Um quinto grupo experimento (AM05) foi realizado usando tilápias capturadas com rede da mesma represa da Pampulha. O grupo controle (C) de tilápias foi colocado no SRA no LAQUA (UFMG) pelo mesmo período de tempo. A relação dos experimentos esta representada na tabela 3.1. Todas as tilápias utilizadas tiveram um peso médio de 285 g e foram do mesmo sexo (machos).

2.3.- Amostragem

2.3.1.- Experimento com os organismos “sentinela”

Em cada tanque-rede (TR), foram colocados 30 tilápias e mantidas em exposição por um período de tempo de 50 dias, em média (figura 3.2). Após esse tempo, foram retirados 15 animais de cada tanque, 10 animais capturados com rede e 10 do grupo controle. Ao todo foram realizadas quatro (05) experimentos durante o ano 2014, e um no ano 2015.

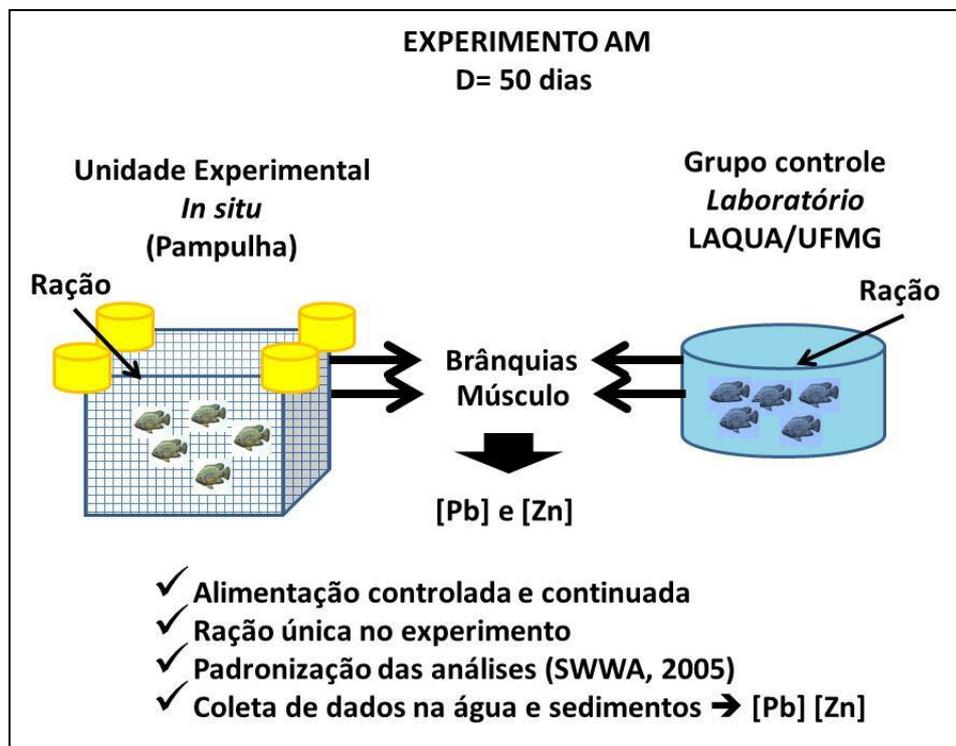


Figura 3.2.- Esquema de experimentos “*in situ*” para o estudo de bioacumulação de Pb e Zn na Represa da Pampulha (MG-Brasil)

Em todos os experimentos, os peixes foram levados para o laboratório da empresa ICATU Meio Ambiente Ltda., onde foram medidos, pesados, dissecados, retirando-se os tecidos (brânquias e músculo da região das nadadeiras) de cada peixe. As amostras de tecido foram conservadas em gelo e transportadas para o laboratório HIDROCEPE (ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005). Este laboratório realizou as análises de detecção de metais (Pb e Zn). Paralelamente estes mesmos tecidos também foram usados para avaliar a bioacumulação de Cd e As na represa da Pampulha (dados não-publicados).

Tabela 3.1.- Relação dos experimentos realizados durante o presente projeto. Destacando-se as datas de exposição e o número de peixes que foram retirados de cada tanque rede em cada experimento. Assim como as datas das dragagens na lagoa da Pampulha.

Experimento	Início	Final	Dragagem (local)	Dias de exposição	Número de peixes analisados		
					Controle (UFMG)	Por TR	Captura (Rede)
AM00	28/01/2014	28/01/2014	Zoológico	0	10	0	-
AM01	29/01/2014	17/03/2014	Zoológico	47	10	15	-
AM02	21/05/2014	10/07/2014	Mineirinho	50	10	15	-
AM03	25/08/2014	13/10/2014	Zoológico	49	10	15	-
AM04	28/10/2014	09/12/2014	--	42	10	15	-
AM05	07/01/2015	07/01/2015	--	-	-	-	10

2.3.2.- Coleta de água e sedimento

Em cada local de exposição, foram tomadas duas amostras de água (1,0 l/amostra) e duas de sedimentos (1,0 kg/amostra), uma no início e outra no final de cada período de exposição. Os métodos de coleta, preservação e armazenamento dos metais e de outros parâmetros físico-químicos, seguindo as normas internacionais (APHA, 2005).

As amostras de água coletadas foram acondicionadas em caixas de isopor, refrigeradas e enviadas ao laboratório HIDROCEPE (Belo Horizonte) para análise residual do conteúdo de metais dissolvidos (Pb e Zn), utilizando a metodologia padrão internacional. A qualidade da água foi avaliada de acordo com a Resolução CONAMA nº 357 de 17 de maio de 2005, para águas superficiais de classe 3 (CONAMA, 2005).

As amostragens de sedimento foram realizadas junto com as amostragens de água. Os sedimentos foram recolhidos por dragagem (Draga de Eckman Hydrobios) em um ponto próximo a cada um dos três tanques de exposição. As amostras foram utilizadas para realizar o estudo residual do conteúdo de metais pesados (Pb e Zn) nos sedimentos, utilizando a metodologia padrão internacional, realizadas pelo laboratório HIDROCEPE.

2.4.- Análises Estatísticas

Os dados obtidos de metais pesados nos compartimentos ecológicos desta represa foram analisados usando o programa Statistic 12.0 para Windows. Foi utilizada uma análise de variância ANOVA one-way para comparar os grupos testados por tecido no tempo. Também foi utilizada a análise estatística exploratória de PCA para determinar a similitude dos grupos usando o programa PAST, e agrupando os dados de bioacumulação dos metais Pb e Zn em função das outras datas de amostragem.

3.- Resultados

3.1. Concentração de metais na água

Os resultados obtidos para chumbo (amplitude das concentrações variou de 0,002 – 0,162 mg Pb/l) e zinco (idem, 0,0219 – 0,1297 mg Zn/l) na água da Represa da Pampulha, de todas as estações de estudo, mostraram que esses valores não ultrapassaram os limites estabelecidos pela normativa brasileira para águas superficiais de classe 3 para chumbo (0,033 mg/l) e para o zinco (5,0 mg/l), valores contidos na resolução CONAMA 357/05 (CONAMA, 2005). Com exceção da unidade controle no LAQUA (UFMG) que apresentou um valor de 0,162 mg/l.

3.2.- Concentração de metais no sedimento

De acordo com os dados obtidos, os níveis dos metais chumbo (3,4859 – 19,4307 mg/kg de sedimento) e zinco (24,51 – 155,916 mg/kg) analisados no sedimento permaneceram abaixo dos níveis máximos permitidos tanto pela resolução CONAMA 454/12 (Figura 3.3) para chumbo (91,3 mg/kg) e para zinco (315 mg/kg), para sedimentos, considerando a classe 2 (CONAMA, 2012).

3.3.- Concentração de metais nas brânquias e no músculo das tilápias

As concentrações de chumbo e zinco encontradas nos tecidos (brânquias e músculos) dos peixes avaliados nesta pesquisa foram comparadas com os níveis de tolerância (NT) internacionais recomendados pela Food Administration Organization (FAO) e World Health Organization (WHO) para estes metais (0,5 mg de Pb/kg de tecido; 50 mg de Zn/kg de tecido) (Demirak *et al.*, 2006).

Os peixes estudados nos experimentos de exposição na represa da Pampulha e os mantidos no grupo controle, com exceção dos coletados com rede (AM05), receberam

ração com elevados teores de Pb, fato que foi determinado após a amostragem do primeiro experimento (AM00) sendo necessário mudar de ração três vezes. A primeira com maior teor de chumbo (2,28 mg/kg de ração) foi fornecida durante os experimentos AM00 e AM01. O segundo tipo de ração teve um teor menor (1,63 mg/kg de ração) foi utilizado no experimento AM02. Finalmente, nos experimentos AM03 e AM04 se forneceu um alimento com teor inferior aos anteriores (Concentração de Pb= 1,24 mg/kg de ração).

Tabela 3.2.- Resultados da análise da concentração de chumbo e zinco, em brânquias e músculo (mg/k de tilápia) nos grupos experimentais e as amostragens na represa da Pampulha.

	Chumbo (mg/kg)	Zinco (mg/kg)
Neste estudo*		
Brânquias		
MA ± DP	1,12 ± 0,59	18,68 ± 3,94
Min-Max	0-2,67	2,75-33,47
Músculo		
MA ± DP	0,58 ± 0,85	8,27 ± 3,02
Min-Max	0-10,08	3,44-20,23
Córrego Dipsiz, Turquia ^a .		
Brânquias	0,02 ± 1,04	29,36 ± 22,59
Músculo	0,23 ± 0,25	11,06 ± 12,61
Rio Cassiporé, Amapá, Brasil ^b		
<i>Poptella compressa</i> (hervibóro)	1,58	0,88
<i>Serrasalmus eigenmanni</i> (carnívoro)	0,13	0,68
Estuário São Vicente (São Paulo-Brasil) ^c		
		91,99
Reservatório Alagados (Parana-Brasil) ^d		
<i>Cyprinus carpio</i> (brânquias)	4,96	1644,92
NT ^e em peixes (FAO/WHO) ^f	0,5	50

* Numero de amostras examinadas 196; MA: media aritmética; DP: Desvio Padrão; Min - Max: Nível mínimo - máximo; nd: não determinado

a: Demirak *et al.*, 2006

b: Lima *et al.*, 2015

c: Carmo *et al.*, 2011

d: Voigt *et al.*, 2016

e: NT (Nível de Tolerância)

f: (Demirak *et al.*, 2006)

Os valores médios de chumbo (brânquias: 1,12 ± 0,59 mg de Pb/k; músculo: 0,58 ± 0,85 mg de Pb/k), foram superiores aos recomendados para este metal para peixe cru como alimento, segundo os limites internacionais da FAO (Tabela 3.2; figura 3.3). Além

disso, os valores deste metal nas brânquias sempre foram superiores às concentrações encontradas nos músculos das tilápias estudadas.

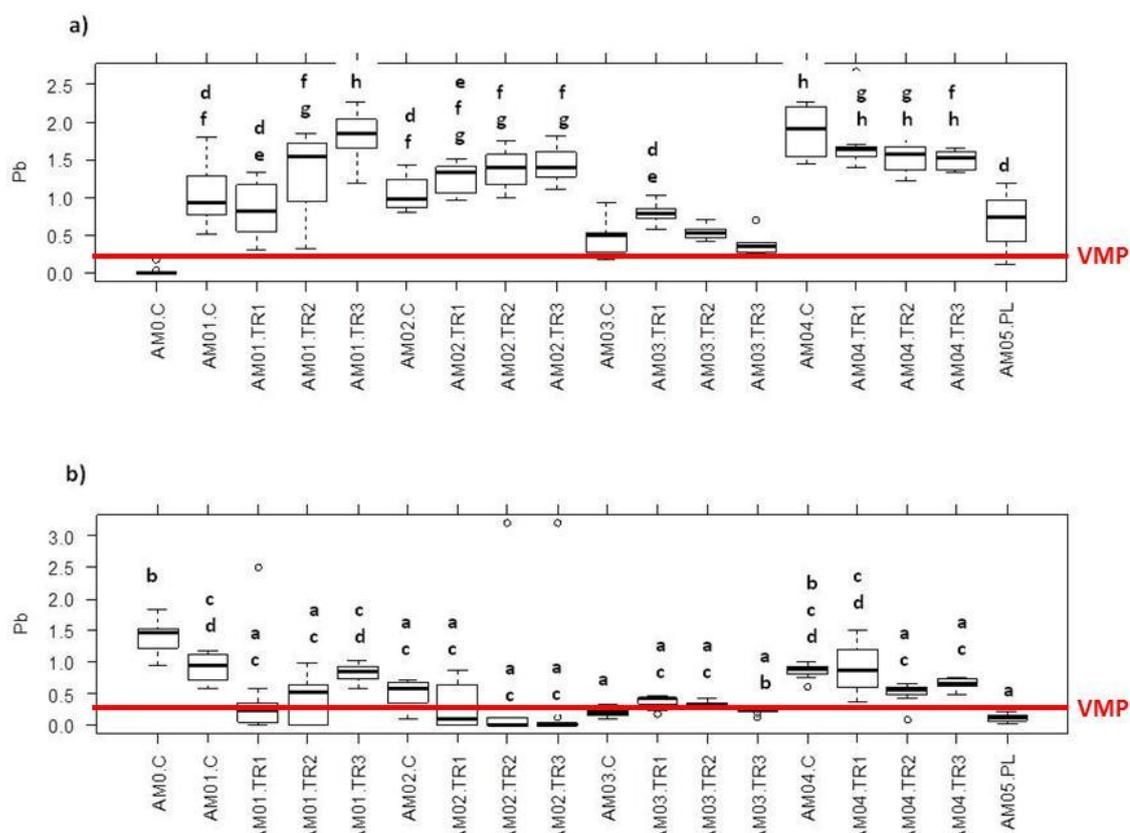


Figura 3.3.- Variação da concentração de chumbo (mg/kg de tecido) nas brânquias (a) e no músculo (b) de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014). VMP (MERCOSUR-RDC 42/13 = 0,3 mg Pb/kg de tecido)

Os resultados da análise do conteúdo de zinco nas amostras de tecido dos mesmos peixes estudados (brânquias: $18,68 \pm 3,94$ mg Zn/kg; músculo: $8,27 \pm 3,02$ mg Zn/kg), mostraram que estes foram inferiores ao NT recomendado pela FAO/WHO (Demirak *et al.*, 2006) para peixe cru como alimento (tabela 3.2; figura 3.4). Os valores encontrados deste metal nas tilápias estudadas, embora sejam inferiores às normas internacionais, elas mostram o mesmo perfil do que o chumbo; sendo maiores significativamente nas brânquias do que nos músculos.

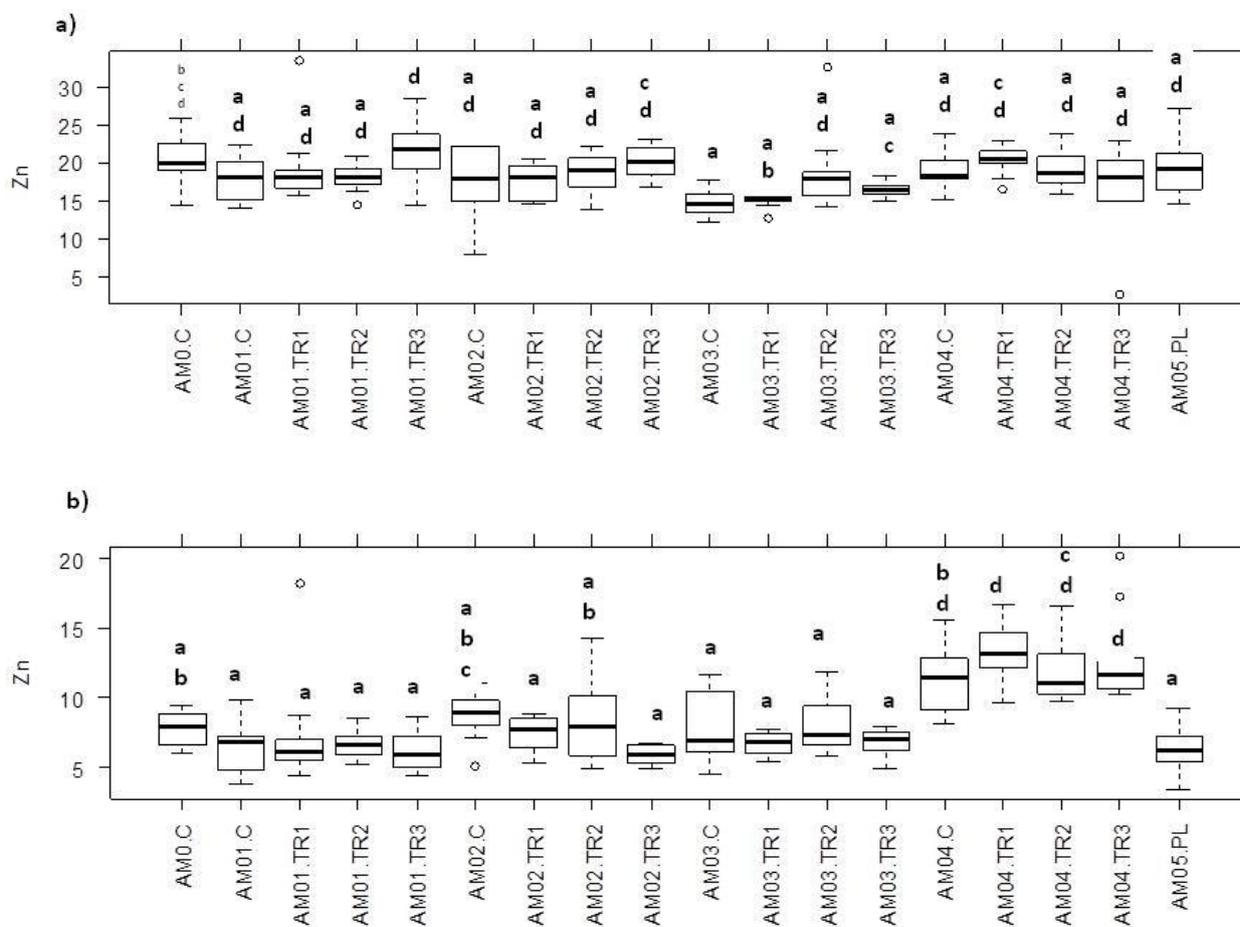


Figura 3.4.- Variação da concentração do zinco (mg/kg de tecido) nas brânquias (a) e no músculo (b) de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014)

3.4.- Análise de Componentes Principais (PCA)

Analisando os resultados da concentração de metais nos tecidos dos peixes pelos componentes principais (PCA), este estudo mostra que existe diferença entre os valores de metais registrados nas brânquias e os registrados nos músculos das tilápias estudadas (Figura 3.5).

Por outro lado, estes mesmos valores também registraram variação entre as datas de amostragem, sendo que os valores de Zn e Pb nas brânquias tiveram maior representatividade nos experimentos realizados ao mesmo tempo que eram executadas as obras de dragagem no reservatório. Enquanto que os valores desses mesmos metais no músculo tiveram maior representatividade no tempo no qual as obras de dragagem tinham concluído (ver tabela 1).

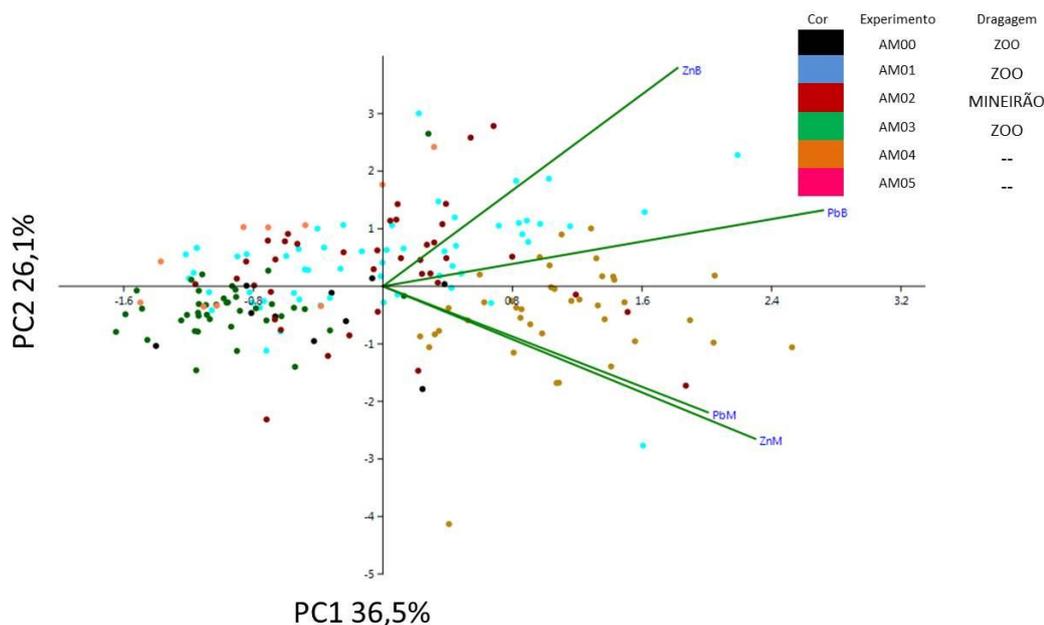


Figura 3.5.- PCA dos dados das concentrações dos metais nas amostras de tilápias expostas a condições naturais na Represa da Pampulha (Janeiro – Dezembro 2014)

4.- Discussão

4.1.- Poluição de metais na água e no sedimento

As concentrações de chumbo e zinco na água da Represa da Pampulha estiveram abaixo do registro histórico no ano 2001 (Pb: 0,05 – 0,82 mg/l; Zn: 0,22 – 2,50 mg/l) na temporada seca e de chuvas (Rietzler *et al.*, 2001). Em anos anteriores (1997-1998), nesta mesma represa, foi registrada a mortandade de *Daphnias levis* e segundo os autores a causa deste evento estaria ligado ao excesso de metais como o chumbo e o zinco descarregados pelos tributários à represa. Esta informação foi corroborada pela análise do conteúdo desses metais em cladóceros dafinídeos avaliados por Pinto-Coelho *et al.* (2003).

Comparando os resultados do presente estudo com outros estudos realizados em reservatórios menos poluídos, tais como no rio Kuçuk Menderes na Turquia, foram encontradas menores concentrações (0,00059 – 0,00313 mg/l) para este metal (Turgut, 2003). Por outro lado, ao comparar nossos resultados, com o rio Kasardi na cidade industrial de Mumbai (India), uma área poluída com valores elevados de chumbo (46,3 mg/l) e zinco (21,5 mg/l) (Lokhande *et al.*, 2011), observamos que estes valores

superam 50 vezes o valor de chumbo e 10 vezes o valor de zinco encontrados na presente pesquisa.

No caso dos metais nos sedimentos, estes estiveram abaixo dos registros históricos da represa para o chumbo (21,7 – 48,1 mg/kg) e zinco (149,0 – 522,0 mg/kg) (Friese *et al.*, 2010). Locais contaminados, tais como no rio Soan (Paquistão) um ambiente contaminado por rejeitos industriais, os valores de chumbo (68,0 – 270,0 mg/kg) e zinco (47,0 – 361,0 mg/kg) (Nazeer *et al.*, 2014) foram 15 vezes maiores para chumbo e 2 vezes maiores para o zinco, se comparado aos valores encontrados na represa da Pampulha.

4.2.- Poluição de metais no tecido dos peixes

Os valores de chumbo na ração teriam influenciado nos resultados obtidos nos músculos de todos os peixes estudados, especialmente nos peixes do grupo controle. Porém nas brânquias das tilápias na represa, o aporte deste metal nesse tecido teria relação com o conteúdo de chumbo na água. Os peixes da represa, embora tenham recebido ração uma vez por dia (exceto os domingos), alimentaram-se do alimento vivo existente na represa. O que poderia estar provocando maior crescimento das tilápias expostas na represa do que aquelas mantidas no grupo controle (alimentados unicamente com ração) (dados não verificados em campo).

As concentrações de metais encontrados nos músculos das tilápias por Leung *et al.* (2014) no delta do rio Pearl na China, em uma área industrial e com tratamento de esgotos altamente deficiente (Pb = 8,62 mg/kg; Zn = 29,5 mg/kg) serviram para determinar que esta área encontrava-se contaminadas e em risco para a saúde humana se estes peixes fossem consumidos. Nos resultados obtidos no presente trabalho, na represa da Pampulha, os valores nos músculos das tilápias estudadas foram inferiores 9 vezes para chumbo e 2 vezes para o zinco, se comparadas aos valores registrados na pesquisa na China.

Pesquisas realizadas no Brasil em rios impactados pela atividade mineiradora (garimpeira) como no rio Cassiporé (estado do Amapá) mostraram concentrações médias bem elevadas de chumbo em peixes hervíboros (1,58 mg/k de músculo) e muito baixas de zinco (0,88 mg/k de músculo) em peixes de todos os hábitos alimentares nesta bacia (Lima *et al.*, 2015). Numa pesquisa no estuário São Vicente (Santos-São Paulo) foram registrados valores excessivos de zinco (91,99 mg/k) em

peixes do gênero Mugil (parati: *Mugil curema*); este estuário pertence ao município de Cubatão e do sistema estuarino de Santos (maior porto de América do Sul) e que representa um dos mais importantes exemplos de degradação ambiental causados pelo avanço da urbanização e instalação industriais (Carmo *et al.*, 2011). Já em outra pesquisa, realizada no estado de Paraná (próximo de Curitiba) as concentrações médias de chumbo e zinco foram excessivamente elevadas nas brânquias de carpa comum (Pb: 4,96 mg/k; Zn:1644,92 mg/k); o reservatório estudado (Alagados) recebe contaminação urbana e agropecuária e é reconhecido pela condição de eutrófico.

Nos resultados obtidos na presente pesquisa as concentrações de chumbo e zinco foram inferiores de aqueles valores, acima mencionados, correspondentes a ecossistemas altamente poluídos no Brasil e no mundo. Não obstante, é prudente indicar que os valores de chumbo nas brânquias das tilápias estudadas ultrapassaram os limites recomendados pela FAO, mostrando que estes peixes são impróprios para o consumo humano.

Como foi registrado nos resultados obtidos foi encontrada diferenciação entre os tecidos com relação a bioacumulação dos metais pesados chumbo e zinco nas brânquias e músculos das tilápias estudadas. Esta mesma diferenciação tissular foi observada por Pourang (1995), em peixes avaliados (*Esox lucius* e *Carassius auratus*) no estuário Anzalino no Mar Cáspio-Irã (área RAMSAR protegida e infelizmente poluída por esgoto urbano), sendo demonstrado que nas brânquias se acumulam as maiores concentrações de metais tanto para chumbo (Pb brânquias = 4,4 mg/kg; Pb músculo = 1,2 mg/kg) como para o zinco (Zn brânquias = 1025,5 mg/kg; Zn músculo = 155,3 mg/kg). Destarte, no trabalho de Abdel-Baki *et al.* (2011), os valores de chumbo nas brânquias (141,7 mg/kg) superam 4 vezes aos valores nos músculos (39,7 mg/kg) de tilápias do vale de vale de Wadi Hanifah na cidade de Riyadh (Arabia Saudita), reconhecido depósito de esgoto urbano da cidade. Portanto, se pode afirmar que as brânquias é o primeiro órgão de contato do peixe com a poluição no meio aquático. Neste sentido El-Moselhy *et al.* (2014) menciona que estas diferenciação intertissular e inter-espécies poderia estar relacionada aos hábitos alimentares, padrões de natação e com a genética, sendo que peixes pelágicos e filtradores acumulam teores mais elevados de metais nas brânquias do que nos músculos. Todos estes valores confirmam as diferenças encontradas entre os tecidos no presente trabalho.

Durante as operações de dragagens na lagoa da Pampulha, os peixes expostos na presente pesquisa registraram maior concentração dos metais nas brânquias. Assim, segundo Torres (2000) durante as operações de dragagem no rio Sena (França) uma série de xenobióticos (metais, PCBs, pesticidas, etc), contidos nos sedimentos deste rio, foram liberados como resíduos à água biodisponibilizando-os e afetando aos organismos aquáticos, especificamente os peixes por efeito da resuspensão desse material sedimentado no momento de realizar a dragagem. Revelando estes resíduos com maior incidência nas brânquias dos peixes deste rio (Chevreuil *et al.*, 1995; Carpentier *et al.*, 2002a; Carpentier *et al.*, 2002b). Estes autores concluíram que durante as operações de dragagem (dependendo do método de dragagem) em reservatórios, lagos, baías, rios, ou qualquer outro corpo de água, os sedimentos retirados podem ocasionar efeitos colaterais sobre a vida aquática.

5.- Conclusões

Os valores encontrados de chumbo e zinco na água e nos sedimentos foram duas vezes menores aos registrados 10 anos antes, no mesmo reservatório da Pampulha. Sendo que os valores encontrados correspondem a um ambiente aquático poluído por esgoto urbano, sem uma fonte antropogênica de metais direta. Por outro lado, o acúmulo de chumbo e zinco no sedimento responde como um registro histórico destes metais despejados pelo esgoto da cidade desde a construção da represa da Pampulha.

Pode-se concluir deste trabalho que as recentes obras de dragagem na Represa da Pampulha geraram a resuspensão de metais pesados na coluna de água, biodisponibilizando-os para a biota aquática; provocando o acréscimo da concentração de chumbo e zinco nos tecidos das tilápias estudadas, sendo maior nas brânquias do que no músculo.

Os elevados valores encontrados de chumbo nas tilápias estudadas, ultrapassando os níveis de tolerância da WHO/FAO, são impróprios para o consumo humano. Conclusão que coincide com a decisão da prefeitura da cidade Belo Horizonte de proibir a pesca e consumo de peixes na Represa da Pampulha

6.- Recomendações

Recomenda-se continuar com o biomonitoramento da represa da Pampulha durante as obras de despoluição da água da represa, ainda previstas. Realizando a análise das brânquias como órgão alvo das pesquisas. Reduzindo o tempo de exposição para uma semana, mantendo os peixes no jejum e assim eliminar o ingresso de metais pela ração.

7. - Agradecimento

Agradecimentos especiais para a Prefeitura de Belo Horizonte-SUDECAP por financiar este estudo na represa da Pampulha, e a empresa CONSOMINAS pela articulação governamental. A empresa de consultoria ambiental ICATU Meio Ambiente Ltda. pelo apoio no manejo e gestão do projeto. Agradecimentos para a CAPES pelo apoio de bolsa de doutoramento no convenio PEC-PG 2012, à UFMG-ICB e ao curso de ECMVS. Finalmente gostaria agradecer ao LGAR pelo apoio total nesta pesquisa.

8.- Referências Bibliográficas

- Abdel-Baki, A. S, Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S. 2011. **Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah, Saudi Arabia.** African Journal of Biotechnology Vol. 10(13), pp. 2541-2547, 28 March, 2011
- ABNT. 1987. **NBR-9897-Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores - Procedimento**
- APHA- American Public Health Association. 2005. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 20ª Edição, Washington, D. C. American Public Health Association
- Birungi, Z., Masola, B., Zaranyika, M.F., Naigaga, I., Marshall, B. 2007. **Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (Oreochromis niloticus) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria.** Physics and Chemistry of the Earth 32; 1350–1358
- Carmo, CA, Abessa, DMS, Neto, JGM. 2011. **Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente-SP, Brasil.** O Mundo da Saúde, São Paulo: 35(1):64-70.

- Carpentier, S., Moilleron, R., Beltran, C., Hervé, D., Thévenot, D. 2002a. **Quality of dredged material in the River Seine basin (France). I. Physico-chemical properties.** *The Science of the Total Environment* 295. 101–113
- Carpentier, S., Moilleron, R., Beltran, C., Hervé, D., Thévenot, D. 2002b. **Quality of dredged material in the river Seine basin (France). II. Micropollutants.** *The Science of the Total Environment* 299. 57–72
- Chevreuil, M, Carrua, AM, Chesterikoff, A, Boetb, P, Talesb, E, Allardib, J. 1995. **Contamination of fish from different areas of the river Seine (France) by organic (PCB and pesticides) and metallic (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) micropollutants.** *The Science of the Total Environment.* 162; 31-42
- CONAMA - Conselho Nacional Do Meio Ambiente. 2005. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**, Brasília.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2012. **Resolução nº 454, de 01 de novembro de 2012**, Brasília.
- Damodharan, U, Reddy, MV. 2013. **Heavy metal bioaccumulation in edible fish species from an industrially polluted river and human health risk assessment.** *Arch. Pol. Fish.* 21: 19-27
- Demirak, A, Yilmaz, F, Tuna, AL, Ozdemir, N. 2006. **Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey.** *Chemosphere* 63,1451–1458
- El-Moselhy KhM, Othman A.I. El-Azem, H.Abd, El-Metwally, MEA. 2014. **Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt.** *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* 1 (2), 97–105
- Elnabris, KJ, Muzyed, SK, El-Ashgar, NM. 2013. **Heavy metal concentrations in some commercially important fishes and their contribution to heavy metals exposure in Palestinian people of Gaza Strip (Palestine).** *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences.* 13 (1), 44–51
- Friese, K., Schmidt, G., Carvalho de Lena, J., Nalini Jr., H.A., Zachmann, D.W. 2010. **Anthropogenic influence on the degradation of an urban lake – The Pampulha reservoir in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.** *Limnologica* 40. 114–125
- Leung, H.M., Leung, A.O.W., Wang, H.S. Ma, K.K., Liang, Y., Ho, K.C., Cheung, K.C., Tohidi, F. Yung, K.K.L. 2014. **Assessment of heavy metals/metalloid**

- (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China.** Marine Pollution Bulletin 78: 235–245
- Lima, DP, Santos, C, Silva, RS, Yoshioka, ETO, Bezerra, RM. 2015. **Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil.** Acta Amazonica. 45(4): 405 - 414
 - Lokhande, RS, Singare, PU, Pimple, DS. 2011. **Toxicity Study of Heavy Metals Pollutants in Waste Water Effluent Samples Collected from Taloja Industrial Estate of Mumbai, India.** Resources and Environment. 1(1): 13-19 DOI: 10.5923/j.re.20110101.02
 - Malik N, Biswas AK, Qureshi TA, Borana K, Virha R (2010). **Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal.** Environ. Monit. Assess. 160: 267-267.
 - Moreira, VA. 2015. **Distribuição de metais em espécies de peixes da baía de sepetiba – Rio de Janeiro.** Dissertação Universidade Federal Fluminense
 - Nazeer, S., Hashmi, M.Z., Malik, R.N. 2014. **Heavy metals distribution, risk assessment and water quality characterization by water quality index of the River Soan, Pakistan.** Ecological Indicators 43. 262–270
 - Pereira, CM, Lapolli, FR. 2009. **Criação de tilápias no efluente doméstico tratado em lagoas de estabilização.** Biotemas, 22 (1): 93-102
 - Pinto-Coelho, R.M., Moura R.T., Moreira, A. 1997. **Zooplankton and Bacteria contribution to phosphorus and nitrogen internal cycling in a tropical and eutrophic reservoir: Pampulha Lake, Brazil.** Int. Revue ges. Hydrobiologie 82(2):195-200,
 - Pinto-Coelho, RM, Greco MB. 1998. **Teores de metais pesados em organismos zooplanctônicos e na macrófita *Eichhornia crassipes* na represa da Pampulha, Belo Horizonte, MG.** A Agua em Revista (CPRM), 12:64-69.
 - Pinto Coelho, R, M. 2001. **Monitoramento do Reservatório da Pampulha, Terceiro Relatório Trimestral, PBH-Fundep-UFMG, pp 2-45.**
 - Pinto-Coelho, R.M., Bezerra-Neto, J.F., Giani, A. Macedo, C.F., Figueredo, C.C., Carvalho, E.A. 2003. **The collapse of a *Daphnia laevis* (Birge, 1878) population in Pampulha reservoir, Brazil.** Acta Limnol . Bras. , 15(3) :53-70,

- Pourang, N. 1995. **Heavy metal bioaccumulation in different tissues of two fish species with regards to their feeding habits and trophic levels.** *Environmental Monitoring and Assessment* 35: 207-219, 1995.
- Resck, R., J. F. Bezerra-Neto & R. M. Pinto-Coelho. 2008. **Nova batimetria e avaliação de parâmetros morfométricos da Represa da Pampulha (Belo Horizonte, Brasil).** *Geografias, Revista do Departamento de Geografia, UFMG* . ISSN 1808-8058, 3(2):24-27,
- Rietzler, A.C., Fonseca, A.L., Lopes, G.P., 2001. **Heavy metals in the tributaries of Pampulha reservoir, Minas Gerais.** *Braz. J. Biol.* 61, 363–370.
- Sedeño-Díaz, JE, López-López, E. 2012. **Freshwater Fish as Sentinel Organisms: From the Molecular to the Population Level, a Review,** *New Advances and Contributions to Fish Biology*, Prof. Hakan Turker (Ed.).
- Torres, RJ. 2007. **Effects of dredging on the quality of contaminated sediments from the channel of the Port of Santos: bioavailability and toxicity of metals and persistent organic compounds.** Doctoral dissertation, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brazil. 177 pp (in Portuguese)
- Torres, RJ, Abessa, DMS, Santos, FC, Maranhão, LA, Davanzo, MB, do Nascimento, MRL, Mozeto, AA. 2009. **Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil.** *Journal of Soils and Sediments.* 9 (5), 420-432
- Turgut, C. 2003. **The contamination with organochlorine pesticides and heavy metals in surface water in Küçük Menderes River in Turkey, 2000–2002.** *Environment International*, 29 (1), 29–32
- Voigt, CL, da Silva, CP, de Campos, SX. 2016. **Avaliação da bioacumulação de metais em *Cyprinus carpio* pela interação com sedimento e água de reservatório.** *Quim. Nova*, Vol. 39, No. 2, 180-188
- Walker, CH, Sibly, RM, Hopkin, SP, Peakall, D.B. 2012. **Principles of Ecotoxicology, Fourth Edition.** Taylor & Francis Group. New York
- Wood, CM, Farrell, T, Brauner, C. 2011. **Fish Physiology: Homeostasis and Toxicology of Essential Metals,** 1st Edition. Academic Press, New York, USA.

CONCLUSÕES FINAIS

Resumindo o observado nos experimentos *in situ* desenvolvidos como parte desta tese de doutorado, os peixes responderam positivamente à exposição aos poluentes urbanos. No primeiro estudo (capítulo 2), as variações nos biomarcadores mostraram que entre as duas PCHs existia algum tipo de fonte poluidora (cidade Bom Jesus de Itabapoana) que induziu a atividade dessas duas enzimas.

Posteriormente no segundo experimento, (capítulo 3), foi determinado que a execução de obras de dragagem de sedimentos biodisponibilizaram metais pesados (chumbo e zinco) que foram bioacumulados nos tecidos dos peixes expostos. Apresentando diferenças entre os tecidos.

Por tanto, após esta análise é possível concluir que os peixes tropicais, tais como as tilápias, podem ser usados como organismos sentinela em programas de biomonitoramento ambiental em reservatórios brasileiros. Para ser usado como uma ferramenta ambiental na gestão de ecossistemas aquáticos contaminados e em processo de recuperação. As tilápias cumprem os requisitos para ser consideradas como “organismos sentinela”, os que foram expostos no capítulo 1. Um desses requisitos está relacionado com a disponibilidade destes, e nesse sentido foi possível determinar que as tilápias podem ser encontradas em quase qualquer cidade brasileira de interior; existindo muitas fazendas de aquicultura cultivando esta espécie, o que garante um estoque de organismos “sentinela” para a execução dos programas de biomonitoramento realizando estudos ecotoxicológicos no território brasileiro.

Outra conclusão que se desprende desta tese é que a metodologia do biomonitoramento ambiental com experimentos ecotoxicológicos *in situ*, usando peixes como organismos sentinela, oferece ao observador uma maior aproximação à realidade ambiental desse ecossistema aquático. Trabalhando como um modelo científico realista, em oposição a modelos abstratos, a metodologia aplicada neste estudo se volta para a experiência *in situ*, mostrando como os peixes respondem à exposição de um ambiente contaminado. Esta resposta, de maneira mensurável, entregará ao observador (pesquisador) as ferramentas analíticas necessárias que permitam esclarecer os possíveis efeitos tóxicos dessa contaminação aquática.

Resulta necessário realizar algumas modificações na metodologia de estudo. Assim é necessário observar tanto o grupo controle, como o tempo de exposição e o tipo de

tecido utilizado, com essas medidas se espera conseguir maior eficiência na avaliação ambiental em futuros programas.

Com relação ao grupo controle ou grupo referência, este deveria existir sempre que seja representativo das condições ambientais avaliadas, estes animais referência poderiam existir sempre que eles estiverem compartilhando a mesma água, como por exemplo, avaliar o efeito de uma atividade em um rio, o grupo controle deveria estabelecer-se na montante do impacto.

O tempo de exposição não deve muito extenso, podendo estar limitado a uma semana. Foi observado nesta pesquisa e em outras (referências bibliográficas) que estes organismos possuem respostas ecotoxicológicas mais eficientes em curtos período de tempo e que tempos maiores de uma semana não são necessários.

Outra medida que deveria ser aplicada é o uso das brânquias e/ou do fígado como tecidos alvo das pesquisas, por serem estes órgãos os apropriados para demonstrar os possíveis efeitos ecotoxicológicos dos poluentes sobre os peixes.

Possíveis aplicações

Biomonitoramento ambiental de rios impactados pela atividade mineradora

Uso de tanques rede de 1m³ como unidades experimentais, colocando tilápias adquiridas desde uma piscicultura próxima ao local de estudo. O número de unidades experimentais está relacionado diretamente ao tamanho do empreendimento mineiro. Após o tempo de exposição (uma semana) os tecidos de 10 tilápias serão dissecados e conservados apropriadamente. Serão analisados conteúdo de metais (variará segundo o tipo de mineiro explorado), a expressão genômica de biomarcadores (metaloteoneinas, enzimas do estresse oxidativo) nas amostras de brânquias e fígado. Análises de metais e físico-químicos na água e sedimentos também serão necessários. O programa deverá ser conduzido por um período de um mínimo dois experimentos anuais (seca e chuvas) em um período de dois anos, ao todo seriam quatro períodos de exposição e amostragens.

Biomonitoramento ambiental de reservatórios usados para geração de energia

Uso de tanques rede de 1m³ como unidades experimentais, colocando tilápias adquiridas desde uma piscicultura próxima ao local de estudo. O numero de unidades experimentais estará relacionado diretamente ao tamanho do reservatório (PCH, UHE). Após o tempo de exposição (uma semana) os tecidos de 10 tilápias serão dissecados e conservados apropriadamente. Será analisada a resposta dos biomarcadores (EROD, GST, catalase, AChE) nas amostras de brânquias e fígado. Análises físicos-químicos na água e sedimentos também serão necessárias. O programa deverá ser conduzido por um período de um mínimo dois experimentos anuais (seca e chuvas) em um período de dois anos, ao todo seriam quatro períodos de exposição e amostragens.

Biomonitoramento ambiental de represas e rios contaminados por cidades

Uso de tanques rede de 1m³ como unidades experimentais, colocando tilápias adquiridas desde uma piscicultura próxima ao local de estudo. O numero de unidades experimentais estará relacionado diretamente ao tamanho da represa ou do rio, e a variáveis hidrodinâmicas e morfométricas desses ecossistemas aquáticos. Após o tempo de exposição (uma semana) os tecidos de 10 tilápias serão dissecados e conservados apropriadamente. Serão analisados o conteúdo de cafeína e metais, assim como a resposta dos biomarcadores (EROD, GST, AChE, catalase) nas amostras de brânquias e fígado. Análises físicos-químicos na água e sedimentos também são necessárias. O programa deverá ser conduzido por um período de um mínimo dois experimentos anuais (seca e chuvas) em um período de dois anos, ao todo seriam quatro períodos de exposição e amostragens.