



ANÁLISE DE BIOMARCADOR DE EFEITO NEUROTÓXICO EM *Cichla orinocensis* (HUMBOLT, 1821) CAPTURADOS NA REPRESA DE JUTURNAÍBA – SILVA JARDIM – RJ – BRASIL

Marla Regina Domingues de Moraes¹, Nayara Emerich Martins², Clarisse Evangelista³, Murillo de Sousa Mascarenhas⁴, Manildo Marcião de Oliveira⁵, Vicente de Paulo Santos de Oliveira⁶

1. INSTITUIÇÃO IFF Campos dos Goytacazes – Formação: M. Sc. em Engenharia Ambiental - email: marlamrdomingues@gmail.com
2. INSTITUIÇÃO IFF Cabo Frio – Graduanda em Biologia.
3. INSTITUIÇÃO IFF Cabo Frio – Graduanda em Biologia.
4. INSTITUIÇÃO IFF Cabo Frio – Graduando em Biologia
5. INSTITUIÇÃO IFF Cabo Frio – Doutor em Ciências.
6. INSTITUIÇÃO Campos dos Goytacazes – *Campus* Centro – Doutor em Engenharia Agrícola.

RESUMO

A represa de Juturnaíba é o único manancial de água doce com vazão suficiente para abastecer toda a região dos Lagos Fluminenses. A acetilcolinesterase foi utilizada como biomarcador na espécie *Cichla orinocensis* por ter sido utilizado para verificação de impactos de efluentes agrícolas e industriais. O objetivo dessa pesquisa foi trazer o resultado do monitoramento de biomarcador de efeito neurotóxico na espécie *Cichla orinocensis* na represa de Juturnaíba entre março de 2015 e abril de 2016. Percebeu-se que a atividade AChE cerebral não apresentou alteração estatística considerável, diferentemente da AChE muscular.

INTRODUÇÃO

A acetilcolinesterase é um biomarcador de exposição e efeito neurotóxico. Tem sido utilizado para verificação de impactos de efluentes agrícolas e industriais (LU et al., 2013). Este biomarcador age nas sinapses neuronais e neuromusculares degradando o neurotransmissor acetilcolina (MASSOULIÉ et al., 1993). Em seguida a liberação na fenda sináptica, a acetilcolina (ACh) interage com receptores exercendo seus efeitos fisiológicos (ADAMS, 1992).

A Represa de Juturnaíba é o único manancial de água doce com vazão suficiente para abastecimento de toda a região do Lagos Fluminense. Ela tem como função principal o abastecimento público de aproximadamente 560 mil moradores (IBGE, 2010) e cerca de 1,5 milhão de turistas que fazem uso da região. Bem como é responsável pela renda de 34 famílias de pescadores tradicionais, além de permitir o uso primário e secundário de suas águas.

O objetivo dessa pesquisa foi trazer o resultado do monitoramento de biomarcador de efeito neurotóxico na espécie *Cichla orinocensis* na represa de Juturnaíba entre março de 2015 e abril de 2016.

METODOLOGIA

A represa de Juturnaíba está localizada na bacia hidrográfica do rio São João e encontra-se na Área de Proteção Ambiental (APA) Federal da Bacia do Rio São João/ Mico-Leão-Dourado. Devido a isso, inicialmente pediu-se a autorização ao Ministério do Meio Ambiente, via Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade – SISBIO – N° 47808-1, Autenticação: 75476739.

A espécie exótica Tucunaré Borboleta (*Cichla orinocensis*) foi coletada na represa, por ser um peixe topo de cadeia alimentar.

Em três coletas de peixes no reservatório e uma no rio São João (local de referência), intercalando as estações de inverno e verão, capturaram-se 40 indivíduos: 33 na represa e 07 no rio. Utilizaram-se 2 barcos a motor, redes de espera e varas de anzol. Armazenaram-se os peixes em recipiente com aerador contendo água do próprio meio. Num acampamento às margens da represa, identificaram-se os peixes, feita uma secção na coluna cervical, retirados o cérebro e músculo para o ensaio de acetilcolinesterase. As frações solúveis de cérebros e músculos das amostras foram descongeladas e secas em papel de filtro e depois pesadas individualmente. Os cérebros foram homogeneizados em tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,5 a 5°C em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem (Potter, 1955) na proporção de 1g de cérebro: 10mL de tampão (10% peso/volume de tampão) e no outro tecido, 1g de músculo:19 ML de tampão(5% peso/volume de tampão). O homogeneizado foi centrifugado (10000g/30min/5°C) e o sobrenadante usado nos ensaios enzimáticos. O sedimento da segunda centrifugação foi considerado fração particulada e o sobrenadante fração solúvel. Estas armazenadas a -20°C até o momento do uso. As atividades acetilcolinesterásica foram ensaiadas pelo método de Ellman (1961) adaptado. Para um volume final de reação de 200 µL juntou-se, para medir atividade acetilcolinesterásica, tampão de ensaio (fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5 e DTNB 6,4 mM), o substrato acetiltiocolina na concentração final de 1,875 mM e 40 µL da fração solúvel da amostra de peixe. A formação do produto foi medida pela absorção contínua em ensaio cinético, durante 90s a 412 nm, em espectrofotômetro. Para a atividade enzimática usou-se o coeficiente de extinção molar de 14.150 M⁻¹ cm⁻¹ do ácido tionitrobenzóico (TNB) formado. 1 U (unidade enzimática) foi 1 µg de produto (TNB) obtido após 1 min de reação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve alteração da atividade AChE cerebral, indicando a inexistência de condição que favoreça efeito neurotóxico capaz de promover disfunções cerebrais na espécie. Entretanto, a atividade AChE muscular nos *Cichla orinocensis* na Represa de Juturnaíba apresentou-se mais baixas em relação ao local de referência, demonstrando que talvez tenha sido inibida. A represa recebe contaminação através das descargas de efluentes urbanos vindos dos rios Capivari e Bacaxá. Este último, em abril de 2014, próximo a seu leito teve um lixão desativado, o qual recebia materiais vindos de diferentes setores do município de Rio Bonito. Ao seu redor, encontram-se propriedades com lavouras de cana-de-açúcar e laranjas, as quais podem ter utilizados produtos a base de carbamatos e organofosforados, agrotóxicos inibidores da atividade AChE (ARAÚJO, 2015; LIONETTO 2012). A inibição da atividade AChE muscular nos tucunarés da represa, podem ser referentes a essa prática. Talvez este resultado consista em ter acontecido uma ativação da atividade enzimática no Rio São João, visto que o ambiente apontado como referência não é completamente livre de impactos provocados por xenobióticos, como o uso do produto Tordon, um agrotóxico à base de diclorofenil, de uso comum nas pastagens, podendo ser carregado para o curso d'água, situação semelhante à pesquisa de Rossi et al (2011) com tilápias (*Tilapia rendalli*), a qual percebeu que a atividade da AChE aumentou nas concentrações mais elevadas de diuron (a base de diclorofenil), indicando uma estimulação que poderia interferir com a demanda energética e causar distúrbios fisiológicos, além de afetar a locomoção e o equilíbrio dos peixes.

Segundo Guiloski *et al* (2013) a atividade da AChE foi inibida no cérebro do *Corydoras paleatus* por carbaril e metil paratiom, demonstrando ser este tecido mais sensível à exposição ao agrotóxico. A atividade AChE muscular em nenhuma das concentrações testadas com Carbaril e deltametrina apresentou efeitos significativos.

Foi impossível identificar o agente causador da alteração na AChE na presente pesquisa, podendo ser agrotóxicos, metais ou cianobactérias.

CONCLUSÃO

A presente pesquisa permitiu uma análise da acetilcolinesterase, um biomarcador de efeito neurotóxico, para ampliar o conhecimento toxicológico da espécie exótica *Cichlia orinocencis* (tucunaré borboleta) coletada na represa de Juturnaíba. Não houve alteração na atividade da AChE cerebral, quando peixes coletados na represa foram comparados aos coletados no rio São João. Contudo, foi detectada inibição na AChE muscular nos peixes coletados na represa, não sendo possível detectar o xenobiótico causador da inibição da enzima, podendo ser tanto agrotóxicos quanto metais ou cianobactérias.

Diante dos resultados novas pesquisas visando a identificação do agente causador de tal inibição devem ser feita na Bacia Hidrográfica do Rio São João, visando a sustentabilidade da biota da represa.

REFERÊNCIAS

ADAMS, H. R. Drogas que Atuam Sobre os Sistemas Nervosos Somático e Autonômico. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. Farmacologia e Terapêutica em Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 57-109.

ARAÚJO, T. M. R. Degradação do Paration Metílico em Diferentes Matrizes Aquosas: Dados Cinéticos e Relação entre o Aumento da Toxicidade e a Formação do Paraoxon Metílico. Tese de Doutorado. Centro de Ciências e Tecnologia – CCT, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2015.

GUILOSKI, I. C.; ROSSI, S. C.; SILVA, C. A.; ASSIS, H. C. S. Insecticides biomarker responses on a freshwater fish *Corydoras paleatus* (Pisces: Callichthyidae). Journal of Environmental Science and Health, Part B (2013) 48, 272–277.

LIONETTO, M. G.; CARICATO, R.; CALISI, A.; SCHETTINO, T. Acetylcholinesterase Inhibition As A Relevant Biomarker In Environmental Biomonitoring: New Insights And Perspectives. In: Ecotoxicology around the Globe. Nova Science Publishers, Inc. 2012.

LU, G.; YANG, X.; LI, Z.; ZHAO, H.; WANG, C. (2013) Contamination by metals and pharmaceuticals in northern Taihu Lake (China) and its relation to integrated biomarker response in fish. Ecotoxicology 22:50–59.

MASSOULIÉ, J.; PEZZEMENTI, L.; BON, S.; KREJCI, E.; VALLETTE, F.M. (1993). Molecular and cellular biology of cholinesterases. Progress in Neurobiology 41: 31-91. MENESES, T. S. Fauna, pesca e contaminação por metais pesados em pescado no litoral de Sergipe. 2008. 115 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2008.

ROSSI, S. C.; SILVA, M. D.; PIANCINI, L. D. S.; RIBEIRO, C. A. O.; CESTARI, M. M. H.; ASSIS, C. S. Sublethal Effects of Waterborne Herbicides in Tropical Freshwater Fish. Bull Environ Contam Toxicol (2011) 87:603–607.

AGRADECIMENTOS

Sem a parceria com o pescador Bal, com Marcelo Morais (hospedagem da equipe), com a equipe de campo do PICG e com a equipe do Laboratório Leman, do IFF Cabo Frio, esse trabalho não seria possível. Nossos mais sinceros agradecimentos.