

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
FLUMINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
MESTRADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
MODALIDADE PROFISSIONAL**

**BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO
PESCADO NA LAGOA IMBOASSICA, MACAÉ - RJ**

RODOLFO DOS SANTOS COUTINHO COIMBRA

CAMPOS DOS GOYTACAZES/RJ

2013

RODOLFO DOS SANTOS COUTINHO COIMBRA

**BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO
PESCADO NA LAGOA IMBOASSICA, MACAÉ, RJ.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, na linha de pesquisa Desenvolvimento e Sustentabilidade, área de concentração Ecotoxicologia Aquática, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense.

Orientador: Professor *DSc.* Manildo Marcião de Oliveira (Doutor em Biociências Nucleares pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro)

Co-orientador: Professor *DSc.* Victor Barbosa Saraiva (Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**MACAÉ/RJ
2013**

C679m

Coimbra, Rodolfo dos Santos Coutinho.

Biomarcadores na avaliação da qualidade do pescado na lagoa Imboassica, Macaé RJ - RJ/ Rodolfo dos Santos Coutinho Coimbra. - Macaé, RJ: [s.n.], 2013.

47 f.: il. color.

Orientador: Manildo Marcião de Oliveira.

Coorientador: Victor Barbosa Saraiva.

Dissertação (mestrado). - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Macaé, RJ, 2013.

Inclui bibliografia.

1. Peixes - Efeito dos metais pesados - Brasil. 2. Lagoa de Imboassica - Macaé (RJ). 3. Peixes - Efeito da qualidade da água. I. Oliveira, Manildo Marcião de, orient. II. Saraiva, Victor Barbosa, coorient. III. Título.

CDD 639.312098153

Dissertação intitulada Biomarcadores na avaliação da qualidade do pescado na Lagoa Imboassica, Macaé,RJ, elaborado por Rodolfo dos Santos Coutinho Coimbra e apresentada publicamente perante a Banca Examinadora, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, na linha de pesquisa Desenvolvimento e Sustentabilidade, área de concentração Ecotoxicologia Aquática do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense.

Aprovada em _____ .

BANCA EXAMINADORA:

Manildo Marciao de Oliveira, D.Sc.
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense - IFF
Doutor em em Biociências Nucleares /Universidade Estadual do Rio de Janeiro
Orientador

Mauricio Mussi Molisani, D.Sc.
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ
Doutor em Geociências (Geoquímica Ambiental)/Universidade Federal Fluminense

Marcelo Gomes de Almeida, D.Sc.
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF
Doutor em Biociências e Biotecnologia/ Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro

Dedico esta dissertação aos pescadores e toda população macaense que em tempos de outrora utilizavam esta lagoa como fonte de sustento e lazer, também é uma homenagem a todos que estão comprometidos em garantir que este ambiente não mais seja alvo da degradação desenfreada causada pelo homem.

Agradecimentos

À Deus por me dar o dom da vida e como se não bastasse, por estar me guiando e fortalecendo em cada etapa desta incrível aventura.

Aos meus pais pelo amor incondicional e por estarem ao meu lado em todos os momentos de minha vida. Pelos constantes ensinamentos e total incentivo a minha formação e capacitações. Pela compreensão da ausência e pelo exemplo de vida que são pra mim até hoje.

Ao meu irmão que se fez presente ao lado dos meus pais por todos estes anos de graduação e pós-graduação, garantindo à união e o amor necessário a estrutura de uma família.

A minha segunda família (Tios Cau e Suely) que por muitas vezes não entendiam essa fome pelo conhecimento, mas que por todos estes anos foram a minha base familiar.

A minha família minhas sinceras desculpas por abrir mão de diversos momentos para me entregar a este fascinante mundo da pesquisa.

Ao meu grandioso orientador Manildo Marcião de Oliveira que sem dúvidas é o maior responsável pela elaboração deste trabalho. Pelo seu empenho, ética e comprometimento com a ciência. Agradeço pela amizade, paciência e pelo seu contínuo esforço em contribuir com a minha formação acadêmica e intelectual.

Ao meu co-orientador, Dr. Victor Saraiva Barbosa pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao pescador e poeta Tio Jorge por garantir a segurança e qualidade nas saídas de campo, assim como todo seu empenho em garantir a proteção e recuperação da lagoa que fora estudada neste trabalho.

Agradeço a equipe do LEMAM pelo comprometimento com a pesquisa e, sobretudo ao grande Murillo Mascarenhas que foi elemento essencial em garantir a qualidade deste trabalho.

A todos os professores da graduação, em especial a Professora Lísia Gestinari por ter me orientado a dar os primeiros passos nesta jornada e me fazer apaixonar pelo ambiente de pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação do Instituto Federal Fluminense pelo vasto conhecimento adquirido. Em especial aos Professores José Augusto e Maria Inês pelos conselhos de grande valor moral e científico.

Aos colegas de classe do mestrado que estão no mesmo caminho e aqueles que traçaram novas rotas, pelo apoio e amizade recíproca.

Ao Fundo Ambiental de Macaé pelo financiamento deste projeto.

Ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira por ceder suas instalações e equipamentos para elaboração de diversas atividades relacionadas a este trabalho.

A amiga e colega de trabalho Juliana Flores que esteve presentes em todas as etapas desta jornada, sendo uma peça chave para conclusão com êxito deste trabalho

A amiga Helena de Oliveira que sem suas habilidades e técnica este trabalho não seria possível.

Aos colegas de trabalho Joelma Peres, Julio Agostinho, Karla Livramento e Nara Martins pelo apoio e auxílio nas diferentes situações que necessitava de ajuda e fui prontamente atendido.

Aos funcionários e estagiários da SEMA em especial a Alessandra Bittencourt, Claudio Ramos, Madonna Pereira e Viviani Schueler pelo empenho nas atividades de campo.

A amiga Natália Raposo pelos oito longos anos de convivência e compartilhamento de experiências únicas ao longo desta jornada. Agradeço por me aturar nas diversas situações e principalmente por todas as caronas dadas.

A Juliana Torres pelo apoio, incentivo e conselhos essenciais em todos os momentos de elaboração deste trabalho.

A galera da Turma Histórica pela amizade incondicional que criamos.

As fiéis escudeiras Rachel Freita e Patrícia Tavares pelo apoio e por me dar o privilégio de ter pessoas tão especiais como vocês ao meu lado.

Aos meus grandes amigos de longa data André Portugal, Felipe Curcio, Gustavo Coquet e Natalia Louzada por compreenderem minha ausência em momentos únicos que compartilhamos durante anos e que foi comprometido devido à dedicação necessária para o crescimento profissional

Aos amigos Luciano Tinoco e Phillippe Nunes pela disponibilidade e pela grande paciência em aturar os desdobramentos de cada decisão tomada ao longo deste processo.

Aos amigos Rodrigo Ignácio e Vagner Rosa que sem dúvidas estiveram presentes em cada conquista e em cada crise enfrentada ao longo destes anos.

A Rogério Domingos pela atenção e preocupação, pelo incentivo, críticas e pela imparcialidade na tomada de decisões.

A Thais Laque por compartilhar seu vasto conhecimento, todos os conselhos dados e pelas diversas revisões deste documento

*“As teorias são redes: somente aqueles que as lançam
pescarão alguma coisa.”*

Novalis

Resumo

A Bacia Hidrográfica da Lagoa Imboassica vem sendo objeto de estudo de diversos trabalhos, pesquisas e programas das mais diversas áreas do conhecimento visto o impacto antrópico gerado neste ecossistema ao longo das últimas décadas. Os resultados da avaliação de padrões de qualidade água e sedimento por diversos autores mostram o alto nível de comprometimento da integridade e qualidade dos recursos fornecidos por este ambiente. Nesta perspectiva são apresentados uma revisão e resultados da avaliação da saúde ambiental deste ambiente por meio de variáveis biológicas no pescado oriundos desta lagoa. A revisão traz um apanhado geral sobre o estado da arte das diversas técnicas e monitoramento nas diversas matrizes ambientais, assim como a base legal brasileira para avaliação das mesmas. O conceito de biomarcadores é apresentado como alternativa e ferramenta auxiliar na avaliação da qualidade do pescado em diversos ambientes. Em um segundo momento são apresentados dados referentes ao monitoramento do pescado onde foram analisados metais traço em músculo de traíra (*Hoplias malabaricus*) e dois biomarcadores, um deles enzimático (Colinesterase) e o segundo genotóxico (Micronúcleos). O fator de condição destes organismos também foi avaliado para ser comparado com a lagoa referência (Lagoa Encantada) assim como os demais biomarcadores. Os resultados encontrados para avaliação química não nos fornecem base suficiente para afirmar o comprometimento da saúde pública por meio de contaminação deste pescado por metais traço. Entretanto, na avaliação do fator de condição e dos biomarcadores analisados podemos inferir que a saúde ambiental deste ecossistema encontra-se comprometida. Fica também evidenciado a necessidade de intervenções pelos diversos atores sociais para interromper as diversas fontes de contaminação, assim como elaborar mecanismos para conservação deste ecossistema a fim de evitar o agravamento dos danos causados ao ambiente estudado e possíveis impactos na saúde da população em geral.

Abstract

The watershed Imboassica Lagoon has been studied by several papers, and research programs of the various areas of knowledge since the anthropic impact generated in this ecosystem over the last decades. The evaluation results of water quality standards and sediment by many authors is the high level of commitment of integrity and quality of the resources provided by this ambient. In this perspective we present a review and evaluation results of the environmental health of the environment by means of variables biological fish coming in this lagoon. The review provides an overview on the state of art of various techniques and monitoring the various environmental matrices, as well as the Brazilian legal basis for evaluation. The concept of biomarkers is presented as an alternative and auxiliary tools in the assessment of fish quality in various environments. In a second stage, data are presented of the monitoring of fish which were analyzed trace metals in betrayed muscle (*H. malabaricus*) and two biomarkers, one enzymatic (ChE) and the second genotoxic (Micronuclei). The condition factor was also evaluated on these organisms to be compared with the reference lagoon (Lagoa Encantada) as well as the others biomarkers. The results for chemical evaluation do not provide sufficient basis to affirm the commitment of public health through contamination of fish by trace metals. However in assessing the condition factor and two biomarkers analyzed infer that the environmental health of this ecosystem is compromised, it is also evident the need for intervention by the social actors to stop the various sources of contamination as well as developing mechanisms for the conservation of this ecosystem to prevent further damage to the environment studied as well as the possible health impacts of the general population.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. Mapa da área de amostragem. Lagoa Encantada e lagoa Imboassica com detalhamento do ponto de amostragem do pescado. (Adaptado de Camara, 2010)..... | 33 |
|--|----|

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 1. Distribuição dos gêneros de pescadores entrevistados na Lagoa Imboassica | 52 |
| Quadro 2. Classes de idades encontrados no levantamento com pescadores na Lagoa Imboassica | 52 |
| Quadro 3. Níveis de escolaridades encontrados com pescadores a Lagoa Imboassica..... | 53 |
| Quadro 4. Gráfico de municípios onde os pescadores possuem residência | 53 |
| Quadro 5. Local preferencial de pesca dos entrevistados na Lagoa Imboassica..... | 54 |
| Quadro 6. Quantitativo de pescadores com embarcação própria | 54 |
| Quadro 7. Gráfico de usos e destino final do pescado na Lagoa Imboassica..... | 55 |
| Quadro 8. Métodos de armazenamento do pescado na Lagoa Imboassica | 55 |
| Quadro 9. Quantidade de pescado retirado diariamente na Lagoa Imboassica | 56 |
| Quadro 10. Peixes com maior frequência de pesca na Lagoa Imboassica | 57 |
| Quadro 11. Artes de pesca utilizadas por pescadores na Lagoa Imboassica..... | 57 |
| Quadro 12. Quantitativo de pescadores que atuam na Lagoa Imboassica filiados a associação de pescadores..... | 58 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Parâmetros físicos-químicos das lagoas estudadas no período amostral..... | 35 |
| Tabela 2. Resultados dos teores de metais em músculo de <i>Hoplias malabaricus</i> na Lagoa Imboassica | 36 |

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Fator de condição alométrico (K) dos espécimes coletados nas lagoas Encantada e Imboassica..() diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$) 36
- Gráfico 2. Atividade específica da AChE solúvel em cérebros de *H. malabaricus*.() diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$). ... 37
- Gráfico 3. Contagem de micronúcleos em eritrócitos de *H. malabaricus*. .() diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$)..... 37

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACh - Acetilcolina
- AChE - Acetilcolinesterase
- aff - *affinis*
- ALAD - Ácido Delta-Aminolevulínico Desidratase
- ANOVA - Análise de Variância
- BChE - *Butirilcolinesterase*
- BTEX - Acrônimo dos Hidrocarbonetos: Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e os Xilenos
- CE - Condutividade Elétrica
- CF - Fator de Condição
- COD - Concentração de Oxigênio Dissolvido
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- DTNB - Ácido Ditionitrobenzóico
- EROS - Espécies Reativas de Oxigênio
- FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
- FEEMA - Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente
- HPAs - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
- IC50 - Concentração Inibitória Média
- ICP-MS - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
- ICP-OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
- LD - Limite de Detecção

LEMAM - Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental

LM - Limites Máximos de Tolerância

LQ - Limite Quantificação

MS - Ministério da Saúde

MT - Metalotioneínas

PCBs - Bifenilas Policlorados

RES - Resistividade

SAL - Salinidade

STD - Sólidos Totais Dissolvidos

TEMP - Temperatura

TNB - ÁcidoTtionitrobenzóico

UPEA - Unidade de Pesquisa e Extensão Agro-Ambiental

LISTA DE SÍMBOLOS

° grau

' minuto

" segundo

% por cento

< menor

> maior

≤ menor ou igual

Al - Alumínio

As - Arsênio

Cd - Cádmio

Cr - Cromo

Cu - Cobre

Fe - Ferro

Hg - Mercúrio

HgCl₂ - Cloreto de Mercúrio

L - comprimento total em centímetros

min - minutos

Mn - Manganês

Na - Sódio

Ni - Níquel

Pb - Chumbo

pH - Potencial de Hidrogênio

W - Peso Corporal em Gramas

x - Vezes

Zn - Zinco

S - South

W - West

LISTA DE UNIDADES

$\mu\text{g/dL}$ - Microgramas por Decilitro

g - Grama

g/cm^3 - Grama por Centímetro Cúbico

km - Quilômetro

km^2 - Quilômetros Quadrados

M - Molar

m - Metro

$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ - Uma Unidade por Molar Vezes Centímetro

mg Cd/Kg - Miligramas de Cádmio por Quilo

mg Cr/Kg - Miligramas de Cromo por Quilo

mg Ni/Kg - Miligramas de Níquel por Quilo

mg Pb/Kg - Miligramas de Chumbo por Quilo

mg/L - Miligramas por Litro

mL - Mililitro

mm - Milímetro

mM - Milimolar

ng.mL h^{-1} - Nanograma Vezes Mililitro por Hora

ng/L - Nanogramas por Litro

nm - Nanômetro

°C - Graus Celsius

Pb/g - Chumbo por Grama

ppm - Partes por Milhão

U - Unidade Enzimática

U/g - Unidade Enzimática por Grama

µg - Micrograma

µL - Microlitro

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| Resumo..... | vi |
| Abstract | vii |
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES..... | viii |
| LISTA DE QUADROS | viii |
| LISTA DE TABELAS..... | viii |
| LISTA DE GRÁFICOS | ix |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | ix |
| LISTA DE SÍMBOLOS..... | x |
| LISTA DE UNIDADES..... | xi |
| APRESENTAÇÃO..... | 1 |
| ARTIGO CIENTÍFICO 1 | 4 |
| RESUMO | 4 |
| ABSTRACT | 5 |
| INTRODUÇÃO | 6 |
| Metais, a toxicidade. | 7 |
| Legislação | 7 |
| Introdução e comportamento dos metais nas diversas matrizes ambientais (água, sedimento e biota) | 8 |
| Água superficial..... | 8 |
| Sedimento | 9 |
| Especiação química | 10 |
| Biota | 11 |
| Ácido delta-aminolevulínico desidratase (alad)..... | 14 |
| Acetilcolinesterase | 15 |
| Metalotioneína..... | 16 |
| Teste de micronúcleo..... | 17 |

| | |
|---|----|
| CONCLUSÃO | 18 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 19 |
| ARTIGO CIENTÍFICO 2 | 29 |
| RESUMO | 29 |
| ABSTRACT | 30 |
| INTRODUÇÃO | 31 |
| MATERIAL & MÉTODOS..... | 33 |
| Área de Estudo | 33 |
| Amostragem | 33 |
| Fator de Condição | 34 |
| Análises Químicas..... | 34 |
| Ensaio de colinesterase..... | 34 |
| Ensaio de micronúcleo | 35 |
| Estatística | 35 |
| RESULTADOS | 35 |
| DISCUSSÃO | 38 |
| CONCLUSÃO | 42 |
| REFERÊNCIAS..... | 43 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS | 48 |
| REFERÊNCIAS..... | 49 |
| APÊNDICES | 50 |
| APÊNDICE A | 51 |
| APÊNDICE B | 60 |

APRESENTAÇÃO

Lagoas costeiras podem ser definidas como corpos d'água continentais, usualmente orientado paralelamente à costa, que se separam do oceano por barreiras arenosas. Tais barreiras permitem o contato com o mar por uma ou mais vias, e com profundidades que raramente excedem poucos metros (KJERFVE; MAGILL, 1989).

Segundo Esteves (1998) em território brasileiro, lagoas costeiras podem ser consideradas como um dos ecossistemas aquáticos continentais mais representativos, sendo a região litorânea do estado do Rio de Janeiro uma das áreas em que mais se concentram.

Dias (2005) salienta que o crescimento acelerado, atípico nas últimas décadas, fruto da exploração do petróleo na Bacia de Campos tem registrado crescente degradação ambiental, como o surgimento de favelas e de condomínios residenciais de classes mais abastadas no entorno dos corpos d'água.

Situada no perímetro urbano da cidade de Macaé, a lagoa Imboassica abrange uma área de 326 hectares com uma largura máxima de 1,3 km e comprimento máximo de 5,3 km. O aporte de efluentes domésticos tem sido apontado como um dos maiores impactos negativos do ecossistema, isto implica primeiramente na restrição dos usos múltiplos.

Lopes-Ferreira (1998) afirma que a ocupação urbana no entorno deste corpo hídrico sem a devida infraestrutura, como redes de coleta de esgoto e tratamento, colaboram para diversos impactos ambientais. Dentre estes, os citados por Esteves (1998): estados de eutrofismo, crescimento acelerado de macrófitas aquáticas ocupando o espelho d'água, diminuição das taxas de oxigênio dissolvido, assim como a diminuição da lâmina d'água, entre outros.

Já em 1989 em relatório da Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente — FEEMA alertava o agravamento do processo de eutrofização artificial com base em dados físicos, químicos e biológicos. Segundo Pessanha (2012) este processo não parece estar diferente, apesar da tentativa dos poderes públicos em realizar a abertura artificial da barra arenosa, visando à redução de carga orgânica assim como evitar o colapso dos sistemas de esgotos residenciais marginais.

Em função da alta produtividade das lagoas costeiras, que são consideradas os ecossistemas mais produtivos da biosfera, as populações se instalaram as margens das mesmas, utilizando-as como fonte de alimento e água, lazer e receptora de efluentes. Embora

no passado a lagoa tenha representado uma importante fonte de produção de pescado para o município de Macaé, devido aos diferentes impactos antrópicos que este ecossistema está submetida, atualmente a atividade pesqueira se restringe a poucos pescadores profissionais e a pesca artesanal (Esteves, 1998).

Os dados apresentados no Apêndice A elaborados para subsidiar ações deste projeto, mostram o que fora caracterizado em 1998 por Esteves, onde durante um ano de levantamento somente foram encontrados 14 pescadores atuando diretamente na lagoa, sendo que somente nove destes utilizam o pescado para consumo próprio. Dentre estes somente cinco são residentes no município de Macaé e somente três exercem a atividade diariamente.

Apesar da reduzida quantidade de pescadores atuando nesta lagoa foi possível observar que aqueles que não utilizam o pescado para consumo próprio, utilizam a pesca como lazer ou ainda fazem comercialização no município e em municípios vizinhos.

Este fato é preocupação de diversos atores sociais no município tendo em vista que o aporte de esgoto sanitário doméstico e industrial no entorno deste ecossistema vem se intensificando ao longo dos anos.

Isto pode ser evidenciado com o mapa apresentado no Apêndice B, elaborado pela Secretaria Municipal de Ambiente que apresenta os 21 pontos de lançamento de esgoto *in natura* encontrados em fevereiro de 2012. A identificação de tais pontos foi possível após uma abertura de barra artificial no mês de janeiro de 2012 realizada pelo poder público na tentativa de reduzir a carga orgânica deste ambiente.

Visto a continua degradação deste ecossistema por meio de ações antropogênicas é de fato plausível a especulação da redução da qualidade de vida tanto dos moradores e freqüentadores desta lagoa, assim como os organismos que fazem parte de ecossistema.

Além disto, os órgãos públicos estaduais e municipais vêm através de monitoramento do padrão de balneabilidade alertar a população desde o ano de 2010 que a lagoa Imbossica não mais pode ser utilizada para recreação de contato primário. Aliado a isto as conferências municipais de meio ambiente do município de Macaé realizadas nos anos de 2005 e 2007 apontaram preocupações e indicações para a realização do monitoramento da qualidade do pescado retirado desta lagoa.

Diante disto, este estudo visa apresentar um histórico sobre os efeitos e metodologias para avaliação de contaminação do pescado por metais traço, além de apresentar dados de avaliação do pescado como bioindicadores de degradação deste ambiente e os possíveis riscos a saúde pública causados pela ingestão do pescado advindos da Lagoa Imboassica.

Este artigo foi submetido ao periódico “Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego”

ARTIGO CIENTÍFICO 1

BIOMARCADORES COMO FERRAMENTAS NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO PESCADO CONTAMINADO COM METAIS TRAÇO

BIOMARKERS AS TOOLS IN QUALITY ASSESSMENT OF FISH CONTAMINATED WITH TRACE METALS

Rodolfo dos Santos Coutinho Coimbra¹, Carlucio Rocha dos Santos², Victor Barbosa Saraiva³, Manildo Marcião de Oliveira³

¹ Curso de Mestrando em Engenharia Ambiental pelo Instituto Federal Fluminense. Coordenador de Recursos Hídricos da Secretaria de Ambiente de Macaé.

² Curso de Doutorado em Biociências pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

³Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental - LEMAM/Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense – IFF
Estrada Cabo-Frio/Búzios s/nº - Baía Formosa - Cabo Frio. Caixa postal: 112015
CEP:28909-971Contato: (22) 2629 9077/2629 9792 - manildomo@ig.com.br

RESUMO

Metais traço que apresentem toxicidade aos vertebrados são alvo de preocupação por parte dos programas de monitoramento ambiental em função do impacto causado por ação da atividade antrópica. A distribuição destes elementos se diferencia nas matrizes: água, sedimento e biota. Metais como Pb, Cd, Hg, As e Cr são relacionados a importantes danos ambientais, podendo contaminar o homem principalmente por consumo de pescado. Alguns biomarcadores podem ser aplicados na abordagem de impacto e avaliação de riscos para populações de espécies suscetíveis à exposição e efeito dos metais traço tóxicos. A acetilcolinesterase, a metalotioneína, o ácido delta aminolevulínico desidratase e o ensaio de micronúcleo podem ser utilizados em conjunto como biomarcadores quando organismos aquáticos são expostos ou afetados por metais tóxicos. A resolução 357/2005 do CONAMA no Ministério do Meio Ambiente e a Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde estabelecem

limites máximos destes metais tóxicos em água superficial e água de consumo humano, respectivamente. Entretanto, ainda não se exige a determinação das espécies químicas, relevante à biodisponibilidade produzida nas diferentes matrizes, nem sobre os efeitos subletais, avaliados pelos biomarcadores, destes metais nos organismos aquáticos. A proposta desta revisão é apresentar os biomarcadores (bioquímicos e genéticos) como ferramentas auxiliares na avaliação da qualidade de pescado.

ABSTRACT

Trace metals that exhibit toxicity to vertebrates are target of concern in environmental monitoring programs due to impact caused by anthropogenic activity. The distribution of these elements are in different arrays: water, sediment and biota. Metals such as Pb, Cd, Hg, As and Cr are related to significant environmental damage, which can contaminate the man primarily by fish consumption. Some biomarkers can be applied in approach impact and risk assessment for populations of species susceptible to exposure and toxic effects of trace metals. Acetylcholinesterase, metallothionein, delta-aminolevulinic acid dehydratase and the micronucleus test can be used together as biomarkers for aquatic organisms that are exposed or affected by toxic metals. The CONAMA Resolution 357/2005 of the Environment Ministry and the Ordinance 2914/2011 from Health Ministry set ceilings of these toxic metals in surface water and drinking water respectively. However, it still do not requires the determination of chemical species, relevant to bioavailability, produced in different arrays, neither on sublethal effects, evaluated by biomarkers, of these metals on aquatic organisms. The purpose of this review is to present the biomarkers (genetic and biochemical) as aids in assessing the quality of fish.

Palavras-chave: metais traço, biomarcadores, peixe

Keywords: trace metals, biomarkers, fish

INTRODUÇÃO

A história recente da humanidade tem demonstrado que o desenvolvimento quando não alia avanço tecnológico e respeito ao ambiente colocam toda a humanidade em rota de colisão consigo própria, e atualmente podemos classificar a atividade como insustentável. A percepção equivocada de que o homem é o senhor e dominador do meio ambiente (paradigma antropocêntrico) parece não mais explicar ou ao menos justificar os descasos que provocaram importantes acidentes ambientais que permanecem na memória de todas as populações afetadas. Entre os xenobióticos (estranho à vida) considerados poluentes aquáticos, os compostos inorgânicos são importantes pela gravidade dos efeitos tóxicos associados à contaminação aguda.

As contaminações em baixas concentrações (crônicas) não menos preocupantes, podem antecipar a dramática perda de biodiversidade nos ambientes aquáticos, além de aumentar substancialmente a probabilidade de contaminação humana por consumo de organismos oriundos destes ecossistemas. O novo paradigma promove a necessidade de desenvolvimento sustentável não só na garantia dos recursos naturais para as futuras gerações, mas, sobretudo na garantia de vida para a geração atual, principalmente as populações mais vulneráveis. É preciso mudar o perfil de uma sociedade que atrela política à economia, desconsiderando aspectos sociais envolvidos no processo, para um vinculado a uma ética ambiental que leve em consideração todos os deveres morais para o ambiente e para o ser humano, dentro de uma proposta holística de apreciação do tema (AZEVEDO, 2010).

Neste sentido as relações entre qualidade ambiental e saúde são cada vez mais estreitas. Os metais-traço (ainda conhecidos por muitos como metais pesados) estão entre os responsáveis por acidentes historicamente relevantes para a toxicologia ambiental. Dois notórios exemplos foram: a contaminação de peixes por mercúrio em Minamata (em humanos esta contaminação é conhecida como mal de Minamata, em decorrência deste fato histórico), a por cádmio ocorrido no Japão (Rio Jintsu) (causador em humanos da doença conhecida como *Itai Itai*) (SOLOMON, 2008; HUTTON, 1987)

Como a maioria dos metais ocorre naturalmente na natureza, encontramos neste fato dificuldades para uma melhor interpretação dos resultados quando estes são detectados no ambiente. Nesta breve revisão estaremos preocupados principalmente com as características da presença destes metais nas diversas matrizes que compõe o ambiente aquático: sedimento, água e na biota. E neste último, como a aplicação dos biomarcadores contribui como

ferramenta de análise em estudos ecotoxicológicos que visem proteção das populações aquáticas e segurança para os humanos que utilizam este recurso natural.

Metais, a toxicidade.

Venezuela (2001) classifica os metais em relação à toxicidade em três grupos distintos: no primeiro grupo estão os considerados pouco tóxicos, que na maioria são tidos como micronutrientes, mas em concentrações elevadas, são tóxicos, são eles o alumínio, cobalto, cobre, manganês, molibdênio, selênio, vanádio, zinco e estanho; o segundo grupo é formado por metais que apresentam probabilidade de riscos de câncer, que são o arsênio, berílio, cromo e níquel e no terceiro grupo estão os metais que apresentam um caráter tóxico significativo e não se enquadram nos grupos anteriores e são o chumbo, cádmio, mercúrio e tálio. Para Baird (2002) os metais diferenciam-se dos compostos orgânicos tóxicos por serem absolutamente não-degradáveis, de maneira que podem acumular-se nos componentes do ambiente onde manifestam sua toxicidade.

Legislação

No Brasil o instrumento que estabelece a concentração máxima permitida para contaminantes inorgânicos em alimentos, incluindo peixes e produtos da pesca é o Decreto nº 55.871, de 26/03/65 do Ministério da Saúde. Existem resoluções mais recentes ao Decreto original: encontra-se também em vigor no país a Portaria nº11, de 15/05/87 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária – MS; a Portaria nº 685, de 27/08/98 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária – MS, que abrange o MERCOSUL e a Instrução Normativa nº42, de 20/12/99 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO dispõe de uma compilação de limites de substâncias contaminantes em peixes e produtos da pesca, neste documento são apresentados os limites máximos permitidos para mercúrio, metais traço, pesticidas e outros biocidas em mais de 100 países membros da organização.

A legislação ainda contempla principalmente a análise química de metais traço em água superficial através da Resolução CONAMA 357 / 2005 que dispõe sobre enquadramento dos corpos de água por classes de qualidade (Classe especial, I, II, III e IV), que apresentam usos previstos à preservação da vida aquática, consumo humano, irrigação, dessedentação de animais, recreação e aquicultura. Já a Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde estabelece

os limites para água utilizada para consumo humano, mas ainda não está claramente embutida a idéia de avaliação de risco. A Resolução CONAMA nº421/2010 relacionada ao material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras dispõe sobre as análises de metais em material oriundo do sedimento (sedimentos totais, ou suas frações - elutriato, água intersticial, interface água-sedimento). Além da realização de ensaios ecotoxicológicos como complementar as análises físico-químicas.

Introdução e comportamento dos metais nas diversas matrizes ambientais (água, sedimento e biota)

A introdução de metais nos sistemas aquáticos ocorre naturalmente através de processos geoquímicos e do intemperismo, enquanto a contribuição atribuída à atividade humana é um reflexo da ampla utilização dos recursos naturais pela atividade industrial (YALE;OLIVEIRA, 1998).

Registro de regiões costeiras impactadas por metais traço encontram-se associados ao crescimento industrial e urbano desordenado, com severas consequências ao meio ambiente. Como principais fatores impactantes, temos a descarga direta de efluentes industriais e da comunidade; descargas de esgotos; despejos de resíduos de navios; resíduos oriundos da extração de matérias-primas do mar e poluição por indústrias navais (DORNELLES *et al.* 2000)

Água superficial

O teor de metais traço tem sido usado como parâmetro para definir o nível de contaminação de ambientes aquáticos, e por isso o volume de dados/informações disponíveis ao longo das últimas décadas é enorme (NIENCHESKI *et al.* 2008). Quanto ao monitoramento na água Wallner-Kersanach *et al.* afirmam:

“Consiste no método mais tradicional, apresentando como vantagens a fácil coleta da amostra e a possibilidade de detecção da contaminação mais recente de metais na coluna d’água. A principal desvantagem está na baixa concentração de metais na água, normalmente variando de miligramas por litro (mg/L) a nanogramas por litro (ng/L) dependendo do metal considerado. Entretanto baixas concentrações podem ocasionar fácil contaminação da amostra

durante a coleta e/ou erros no procedimento analítico. Além disso, a dispersão e a variabilidade temporal dos metais em água requerem um número e uma periodicidade maior de amostragens aumentando o custo do monitoramento.”

A variação na concentração pode estar relacionada a causas naturais como, por exemplo, o ciclo hidrológico, as correntes, as marés e as chuvas. Porém, fatores antrópicos como a flutuação na vazão ou na composição de efluentes domésticos ou industriais, lançados através de emissários contribuem para a variação nas medidas das concentrações de metais. Apesar disso, a coluna d’água é uma matriz que fornece inúmeras informações sobre a ciclagem dos metais, processos biogeoquímicos dinâmicos e de toxicidade que ocorrem em um sistema particular (NIENCHESKI *et al.* 2008).

Sedimento

Se a presença de metais na coluna d’água preocupa por sua mobilidade e biodisponibilidade para os organismos (BERNARD, 1977), a presença de metais no sedimento é uma garantia de persistência da contaminação durante períodos prolongados (WASSEMAN; WASSEMAN, 2008).

Os estuários, lagunas e baías (e enseadas), fjordes e deltas são formações costeiras que permitem a sedimentação de grandes quantidades de material fino (BIRD, 2000). Quanto à origem dos contaminantes Wasseman *et al.* (2008) afirmam que:

“... a contaminação por metais seja freqüentemente atribuída às indústrias, as fontes prováveis podem ter as mais diversas origens, tanto antrópicas quanto naturais... os sedimentos sofrem transporte antes de virem a se depositar, e é durante este transporte que o sedimento vai se enriquecendo com metais antrópicos... Além deste enriquecimento artificial, o material mineral que origina aquele sedimento também contém quantidades naturais de metais, que se apresentam retidos em uma rede cristalina e só são liberados para o ambiente em escala de tempo geológica.”

Entretanto, segundo Stumm *et al.* (1996) a simples presença dos metais em sedimentos não constitui necessariamente uma ameaça aos organismos desde que estes estejam quimicamente inertes, através de fortes associações com a matriz sedimentar. Os metais podem ficar disponíveis aos organismos uma vez que estejam associados à matriz sedimentar sob formas metabolizáveis ou biodisponíveis.

De acordo com Shaw *et al.* (1990) um contaminante metálico pode ainda constituir uma ameaça aos organismos, quando associado a fases móveis do sedimento, ou seja, está mais reativo e pode ser facilmente deslocado para fases biodisponíveis.

O monitoramento em sedimento possui a vantagem dos metais ocorrerem em maiores concentrações e com menor variabilidade neste compartimento quando comparado com a água e a biota. Metais como Al, Fe, Pb e Mn não se encontram em solução na água, mas tendem a se associar ao material particulado em suspensão, podendo este comportamento variar em função do elemento e classe de água em questão (FÖSTNER, 1981).

Por sua vez o material em suspensão tende a decantar no sedimento e, geralmente, as concentrações de metais variam neste compartimento dependendo do seu aporte (LUOMA, 1990).

Especiação química

A especiação de um elemento é a determinação das formas físico-químicas individuais que somadas são iguais à concentração total desse elemento (NAKAHARA, 1983). Neste grupo incluímos composição isotópica, estado eletrônico ou redox, estrutura molecular ou complexo formado pelo elemento no ambiente (FARIAS *et al.* 2012).

Saber como um metal se encontra no ambiente é de extremo valor para se determinar como o ambiente aquático está sendo afetado (LEITE, 2002).

A biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade dos íons metálicos estão diretamente ligadas à sua especiação. Embora a determinação da concentração total de um elemento represente um dado importante, torna-se cada vez mais necessário o refinamento dessa informação com a avaliação das diferentes formas químicas de um elemento numa determinada matriz (especiação). É fundamental a compreensão de que o grau de toxicidade de um elemento químico em relação aos seres vivos é também atribuída a especiação (OLIVEIRA, 2007)

Geralmente, os metais traço são persistentes, tóxicos, bioacumulativos e estão cada vez mais presentes em ecossistemas aquáticos, em função de atividades antrópicas. Em ambientes aquáticos, metais traço existem em solução, na forma de íons hidratados livres ou complexados por ligantes orgânicos ou inorgânicos. Podem ainda estar presentes na forma sólida, devido às várias associações com sedimentos e com o material particulado suspenso (STUMM; MORGAN, 1996).

A forma de distribuição de uma espécie metálica entre o material particulado em suspensão e a fração dissolvida (partição) exerce um papel importante na especiação de metais em águas naturais. O conhecimento das condições que controlam a partição permite avaliar até que ponto uma espécie metálica pode ser transferida para uma forma potencialmente biodisponível (LU; ALLEN, 2001).

Os principais processos que controlam a partição de metais entre a fase sólida e aquosa são: precipitação, troca iônica e adsorção. A influência de cada processo sobre a partição depende do tipo de metal, das características do material em suspensão e da composição da coluna de água (SIGG, 1998).

Tanto no material particulado em suspensão quanto na fração dissolvida espécies metálicas podem interagir com uma variedade de ligantes naturais e antropogênicos, formando complexos estáveis e não disponíveis à biota. Os principais constituintes responsáveis pela complexação de metais são formados por estruturas coloidais que são consideradas como dissolvidas. Em ambientes aquáticos naturais, grande parte dos componentes da fração coloidal é formada por substâncias húmicas aquáticas (ZHANG *et al.*, 1996).

Biota

De acordo com James *et al.*(1994) está bem documentado que animais que vivem em ambientes aquáticos impactados podem adquirir uma carga corporal de poluentes químicos. Esta carga pode variar em cada indivíduo dependendo de fatores tais quais: as propriedades físico-químicas dos poluentes, as rotas de exposição e os constituintes fisiológicos e bioquímicos do animal.

Em se tratando de metais, a captação e o acúmulo nos organismos aquáticos também depende das propriedades químicas e físicas da água e do sedimento. Além disso, a idade, hábitos alimentares dos animais e a biodisponibilidade do metal na água podem afetar seu

acúmulo no organismo. Nos peixes, a absorção dos metais ocorre através de duas rotas: aparelho digestivo (através da dieta) e superfície das brânquias (exposição através da água) (INACIO, 2006).

Inácio (2006) afirma que após serem absorvidos, os metais são transferidos das brânquias e intestinos ao sangue e distribuídos a outras partes do corpo. A distribuição corpórea é inerente a cada metal, pois diferentes metais possuem diferentes padrões de distribuição.

Em seu trabalho Alves *et al.* (2006) estudaram a distribuição tecidual de chumbo oferecido na dieta de alevinos de truta. Os autores verificaram que a carcaça acumula cerca de 80% do chumbo ingerido, o que se justifica por esse compartimento representar 85 a 90% da massa total do animal. Os restantes 20% se distribuíram no intestino, brânquia, rim, fígado e sangue. Na maior dose administrada, que foi de 21 dias com uma ração contendo 520 µg de Pb/g de massa seca de ração, 99% do chumbo encontrado no sangue total estava acumulado nos eritrócitos. Os níveis de chumbo nos eritrócitos, nessa mesma dose, atingiram 1,5 µg/g, valor 105 vezes maior do que o encontrado no plasma indicando que o acúmulo de chumbo nos eritrócitos é a principal razão da maior exposição do Ácido Delta-Aminolevulínico Desidratase (ALAD) a este metal.

A toxicidade dos metais para os animais e para o homem, associado à sua capacidade de se bioacumular na cadeia trófica por longo tempo, justificam a determinação do nível destes elementos em organismos aquáticos (FERREIRA *et al.* 2004).

Silva (2009) disserta que quando níveis elevados são detectados em alimentos como, por exemplo, no pescado, medidas apropriadas devem ser adotadas. Normalmente recomenda-se cuidado na dieta a fim de reduzir as possibilidades de exposições em longo prazo. Qualquer tipo de medida que implique na redução do consumo de alimento deverá considerar o impacto sobre a dieta total da população envolvida, além do aspecto socioeconômico. A identificação da fonte de contaminação sempre é prioritária, visando adotar medidas que possibilitem a redução dos níveis de contaminação, ou mesmo sua abolição.

Segundo Wallner-Kersanach *et al.* (2008) se a biodisponibilidade de um contaminante for elevada em determinada localidade isto não implica, necessariamente, na existência de um impacto no ecossistema. Portanto, a ocorrência ou não de efeitos tóxicos para o organismo deve ser analisada através do monitoramento da biota e dos possíveis efeitos biológicos que, de acordo com os autores, compreendem as respostas dos organismos à exposição ao

poluente, as quais são agrupadas sob a denominação de biomarcadores. Utilização de bioindicadores e biomarcadores para avaliação da exposição aos metais

Segundo Oliveira (2000) as análises químicas possuem a vantagem de serem específicas, quantitativas e muito sensíveis. Entretanto, as concentrações de compostos químicos medidas no solo, água e ar não possuem uma significância biológica específica, ou seja, não indicam quais são os efeitos deletérios na biota.

Para contornar este viés são utilizadas ferramentas denominadas indicadores biológicos ou biomarcadores. Biomarcadores podem ser definidos como medidas funcionais de exposição a fatores de estresse expressas no nível biomolecular, fisiológico ou comportamental. Isto abrange medidas moleculares, celulares, genéticas, imunológicas e fisiológicas. Estes biomarcadores são ferramentas de fundamental importância na avaliação dos danos causados pela exposição a substâncias químicas. As pesquisas ecotoxicológicas informam sobre as funções de espécies receptoras, demonstrando uma exposição ambiental a estressores que pode ser relacionada a poluentes oriundos de atividades humanas (AITIO *et al.* 1999; ADAMS *et al.* 2001; GALLOWAY *et al.* 2006).

O conceito de bioindicador pode ser entendido como entidades estruturais (espécie-sentinela) ou mudanças nos níveis de organização do ecossistema, isto é, a análise biológica de um único indivíduo do ecossistema ou da mudança de comportamento dos indivíduos de uma população. Para a análise biológica de um organismo, no caso um bioindicador, são avaliados diversos parâmetros: bioquímicos, celulares ou fisiológicos. Neste caso, estes parâmetros são denominados biomarcadores do bioindicador uma vez que estas variáveis irão refletir alterações provenientes da interação entre o poluente e o bioindicador (MCCARTY *et al.* 1996).

Para Amorim (2001) os biomarcadores podem ser usados na atividade de monitoramento para confirmar a exposição individual ou de uma população a uma determinada substância química e avaliar o risco, quando comparados com uma referência apropriada. A importância do uso destes biomarcadores como parâmetros biológicos de exposição às substâncias químicas deve-se ao fato de eles estarem mais diretamente relacionados aos efeitos na saúde do que os parâmetros ambientais. Por isso, podem oferecer uma melhor estimativa do risco.

Segundo Zhou *et al.* (2008) este tipo de monitoramento, ou biomonitoramento, supera as análises químicas por detectar efeitos subletais nos organismos, apresentar respostas à ação de misturas complexas de poluentes e ser sensível às respostas fisiológicas aos contaminantes.

Para Silva (2010), o biomonitoramento pode ser utilizado como análise preditiva mesmo para concentrações não detectáveis de contaminantes pelos métodos instrumentais analíticos, mas suficientes para causar efeitos biológicos devido à exposição crônica, bioacumulação, biomagnificação e ação conjunta. Muitas espécies podem ainda ser utilizadas como bioindicadores em especial animais ou vegetais que indiquem precocemente modificações abióticas ou bióticas do ambiente devido a algum tipo de atividade antrópica.

Em função das divergências apresentadas em relação à quantificação da presença de metais traço em águas superficiais, tem se frequentemente utilizado a técnica de monitoramento biológico. Esta técnica é possível graças à capacidade dos organismos bioacumularem quantidades significativas de metais em seus tecidos ao longo do tempo através da água, alimentação ou de ambas (Phillips; Rainbow, 1993)

Ácido delta-aminolevulínico desidratase (alad)

A enzima ALAD é a segunda enzima da via de biossíntese do grupamento Heme e pode ser encontrada em animais vertebrados, invertebrados, bactérias e plantas onde será a precursora de moléculas de clorofila (ICES, 2005)

Na via de síntese do Heme, a atividade catalítica da ALAD é a condensação assimétrica de duas moléculas de ácido delta aminolevulínico com a formação de uma molécula de porfobilinogênio, primeiro precursor do Heme (WETMUR *et al.* 1986)

A atividade da ALAD em eritrócitos humanos tem sido utilizada como uma indicação altamente específica e sensível às exposições ao chumbo, uma vez que a enzima tem alta afinidade *in vivo* às baixas concentrações de chumbo no sangue. Essa inibição ocorre devido à substituição de Zn^{+2} por Pb^{+2} na ligação aos radicais SH do sítio de ligação ao cofator metálico (HAEGER-ARONSEN *et al.* 1971; GOERING, 1993).

Além de uma ação direta na redução da atividade enzimática, de acordo com Wigfield *et al.* (1981) a ação do chumbo sobre a enzima ALAD nos eritrócitos pode ainda se manifestar através de uma mudança no pH ótimo para valores mais baixos, reduzindo indiretamente sua atividade.

Hodson *et al.* (1978) em seu trabalho observou que a exposição de trutas a 13 µg/dL resulta além de aumento no hematócrito uma significativa queda da atividade de ALAD.

Santos (2000) em seu trabalho com injeções intraperitoneais de chumbo em tilápias verificou que 35% da menor concentração de chumbo administrada encontrava-se nos eritrócitos após 24 horas de exposição. O autor também ressalta uma maior inibição da ALAD eritrocitária quando comparada com a hepática.

Schmitt *et al.* (2002) ao estudarem o efeito de chumbo liberado por fundições em córregos, concluíram que peixes coletados a jusante das fundições apresentavam maiores cargas corpóreas de chumbo e menor atividade de ALAD quando comparados com animais de sítios não impactados.

Acetilcolinesterase

De acordo com Oliveira (2000) diversos estudos têm informado sobre efeitos inibitórios e algumas vezes também efeitos ativadores de atividade de acetilcolinesterase (AChE) de músculo e cérebro de animais expostos a metais traço. Como para todas as enzimas, a conformação das colinesterases é também perturbada pela presença de metais traço.

Segundo Lopes (2005) as acetilcolinesterases (AChE) são enzimas responsáveis pela rápida hidrólise da acetilcolina (ACh) em acetato e colina nas sinapses colinérgicas, controlando a propagação do impulso nervoso. A principal função da AChE é a hidrólise da acetilcolina (ACh), o mediador das sinapses colinérgicas no sistema nervoso, prevenindo contínuas passagens de impulsos, o que é vital para um normal funcionamento do sistema sensorial e neuromuscular. Na transmissão sináptica colinérgica é essencial que a ACh seja degradada rapidamente antes da chegada de um novo impulso elétrico, sendo tal reação mediada pela AChE (STENESH, 1998).

Quando a atividade de AChE é inibida de alguma forma há bloqueio na transmissão de impulsos nervosos, paralisando as funções vitais devido a sobreposição dos impulsos nervosos, causados pela permanência dos canais de Na⁺ (sódio) abertos (STENESH, 1998).

Frasco *et al.* (2005) testou *in vitro* as condições de ensaio da enzima em presença de metais (Ni, Cu, Zn, Cd e Hg). Com exceção do Ni todos os metais estudados inibiram a atividade da AChE.

Para Gaitonde *et al.* (2006) anticolinesterásicos tais como organofosforados, carbamatos e elementos tóxicos (Cd, Pb, Cu etc) se ligam ao sítio catalítico da enzima AChE

evitando inativação fisiológica da acetilcolina levando a um prolongamento anômalo da neurotransmissão. Assim sendo, o uso da AChE nos tecidos muscular e nervoso de peixes tem sido bastante utilizado para avaliar os efeitos da contaminação, pois esta enzima tem ampla disponibilidade e grande quantidade nestes tecidos (STUMM, 1987; OIVEIRA, 2007).

Bainy *et al.* (2006) sugere que em hepatopâncreas de mexilhões (*Perna perna*) que exposição a metais estejam relacionados ao aumento da atividade enzimática por promoverem acúmulo de acetilcolina na sinapse, induzindo assim a síntese *de novo* para mais enzimas AChE.

Em Frasco *et al.* (2005) foram sugeridos mecanismos que explicam a inibição de colinesterases por HgCl_2 . Um destes mecanismos indica a ligação do íon mercúrio às cisteínas livres na enzima que leva a inativação irreversível, como em *Torpedo californica*, enquanto outro mecanismo ocorre de forma mais lenta já que ocorre formação de uma ligação cruzada intra e inter molecular que pode diminuir a inibição da enzima.

Entretanto, a avaliação da atividade enzimática em bioindicadores além de demonstrar que a exposição excessiva possui significado clínico ou toxicológico próprio, que pode estar associada a um efeito ou uma disfunção do sistema biológico avaliado (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Metalotioneína

Um grupo especial de proteínas de estresse são as metalotioneínas (MTs), que são induzidas pela presença de metais traço essenciais e metais traço não-essenciais (VAN DER OOST *et al.* 2003).

Viarengo (1999) destaca que dentro do organismo dos animais alguns íons metálicos se ligam a metalotioneínas e se acumulam em lipofucinas ou em grânulos amorfos. Para Nordberg (1987), metalotioneínas (MTs) são uma classe de proteínas citosólicas de baixo peso molecular, em torno de 6 – 7 kDa, e sua estrutura molecular é composta de uma única cadeia de aminoácidos dos quais 20 são cisteínas, que representam em torno de 30% do total de aminoácidos. Livre de aminoácidos aromáticos e hidrofóbicos, a estrutura da MT possui dois domínios que consistem, em geral, de um cluster com três (domínio β) e um com quatro átomos (domínio α) de metal ligados. A abundância de ligantes tióis dos resíduos de cisteína presentes na estrutura da MT confere à proteína uma alta afinidade por íons metálicos livres, o que faz das MTs, proteínas de grande interesse sob o ponto de vista bioquímico.

Segundo Muto *et al.* (1999) a função fundamental das Melatoltioneínas:

“...nos sistemas vivos não tem sido bem esclarecida, embora existam várias hipóteses que incluem a ação como metalochaperones para transportar íons metálicos para outras proteínas, controle da concentração de elementos traços livres como zinco (Zn) e cobre (Cu), estocagem e armazenamento, ação como agente de detoxificação para metais como cádmio (Cd) e mercúrio (Hg), e também um papel protetor por seqüestro de metais e proteção contra condições de stress. Por isso, a MT é uma importante proteína no metabolismo intracelular de Cu e Zn e na proteção contra danos oxidativos resultantes da exposição excessiva a metais.”

Viarengo (1997) afirma que a possibilidade da utilização de MTs como biomarcador da exposição a metais tem sido estudada e empregada em diferentes espécies de animais aquáticos para a avaliação do impacto ambiental.

Em programa de monitoramento de poluição realizado na Costa Ibérica do Mar Mediterrâneo (MEDPOL) a espécie *Mullus barbatus* teve indução hepática dos níveis de metalotioneína que se correlacionaram melhor com os níveis de Cu e Cd do sedimento (BENEDICTO *et al.* 2005)

Teste de micronúcleo

De acordo com Jesus *et al.* (2008) estudos recentes apontam muitos metais atuando em ciclo redox que são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio (EROS), que geram estresse oxidativo, induzem a peroxidação de lipídios e alteração na homeostasia de diversos minerais essenciais. Podendo ainda causar outros danos como alteração de diversas rotas metabólicas incluindo aquelas que fazem reparos DNA conhecido como efeito genotóxico.

A contaminação do ambiente por metais traço tem aumentado e a análise de efeitos citotóxicos tem sido aplicada pelo fato dos metais serem potenciais agentes mutagênicos e tumorogênicos em animais e humanos (MAJER *et al.* 2002).

Ainda segundo Jesus *et al.* (2008) o emprego de parâmetros genotóxicos, principalmente em organismos aquáticos como forma de avaliação da qualidade hídrica, permite avaliar o efeito dos poluentes no meio hídrico, bem como alterações de seu potencial tóxico ou genotóxico.

Os micronúcleos são massas de cromatina citoplasmática com os aspectos de pequenos núcleos, constituídos principalmente por fragmentos cromossômicos ou por cromossomos retardados durante a migração anafásica, que se detectam em células interfásicas mediante técnicas simples de coloração, aparecendo no citoplasma como pequenos fragmentos basófilos (GARCIA-RODRÍGUEZ, 2001).

Para Fagr (2008) por conta do dano genético resultante da quebra ou anormalidades no cromossomo, ocorre a formação que pode servir como índice para evidenciar alguns danos. A contagem de micronúcleos por ser muito mais rápida e menos exigente tecnicamente em relação à pontuação de aberrações cromossômicas tem sido amplamente utilizada para a identificação de produtos químicos que venham a causar este tipo de dano à célula.

Lemos *et al.* (2001) verificou aumento na frequência de micronúcleos de eritrócitos de *Pimephales promelas* em presença de cromo hexavalente (Cr^{+6}). O estudo realizado com tilápias (*Oreochromis niloticus*) coletadas em um córrego na cidade de Franca (São Paulo, Brasil) detectou diversos efeitos genotóxicos provocados por cromo detectado no local (MATSUMOTO, 2006). Além do cromo, o selênio, o mercúrio e metil-mercúrio podem ser desencadeadores do efeito clastogênico (quebra de cromossomos) que determina a formação dos micronúcleos de eritrócitos de peixes (Al-Sabit, 1995). Çavas *et al.* (2005) expôs duas espécies de peixes (*Cyprinus carpio* e *Carassius gibelio*) a cromo (Cr), cádmio (Cd) e cobre (Cu) por 21 dias verificando a formação de micronúcleos em eritrócitos periféricos sanguíneos, brânquias e fígado.

CONCLUSÃO

Os programas de monitoramento que visam avaliar impacto ou riscos provenientes do aporte de metais tóxicos podem ganhar importante reforço com a utilização dos biomarcadores. Estes se apresentam como ferramenta de auxílio complementando o rol de análises químicas que garantem o melhor diagnóstico do ambiente estudado. A análise físico-

química da água e a de metais em sedimento e biota compõe a clássica abordagem na detecção dos metais no ambiente aquático. Aliadas a estas, as avaliações que utilizem biomarcadores nos organismos aquáticos, são metodologias que garantirão também uma abordagem preditiva ao ambiente em concentrações subletais destes metais. A nossa legislação ainda não acompanhou as mudanças em outros países, entretanto o aumento dos estudos neste campo de pesquisa servirá de base para futuras inserções nas leis ambientais vigentes em nosso país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, S. M.; GIESY, J. P.; TREMBLAY, L.; A, EASON, C. T. The use of biomarkers in ecological risk assessment: recommendations from the Christchurch conference on Biomarkers in Ecotoxicology. *Biomarkers* v. 6, n. 1, p.1-6. 2001.
- AITIO, A.; KALLIO, A.; Exposure and Effect Monitoring: A Critical Appraisal of their Practical Application. *Toxicol Lett* v. 108, n.2-3, n. 137-147. 1999.
- AL-SABIT, K.; METCALFE, C. D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mut Res* v. 343, n. 2-3, p. 121-135. 1995.
- ALVES, L. C.; GLOVER, C. N.; WOOD, C. M. Dietary Pb Accumulation in Juvenile Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*; v. 51, n. 4, p. 615-625. 2006
- AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Rev Bras Epidemiol*; v. 6, Supl.1, p.:1-13. 2003.
- AZEVEDO, F. A. CHASIN, A. A. M. Ainda uma vez a ética e a ética ambiental. *Rev. Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v.3, n.2, p. 2-9, 2010.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. *As bases toxicológicas da ecotoxicologia* 2003.

BAINY, A. C. D.; MEDEIROS, M. H. G.; DI MASCIO, P. ALMEIDA, E. A. In vivo effects of metals on the acetylcholinesterase activity of the *Perna perna* mussel's digestive gland. *Biotemas* v. 19, n. 1, p. 35-39. 2006.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre. Bookman, 2002.

BENEDICTO, J.; MARTÍNEZ GÓMES, C.; CAMPILLO, J.; Induction of metallothioneins in *Mullus barbatus* as specific biomarker of metal contamination: a field study in the western Mediterranean. *Cienc Mar* v. 31, n. 1B, p. 265-274. 2005.

BERNARD, A. M. Effects of heavy metals in the environment on human health. In: PROST, R. (ed.) *Les colloques*. Paris, INRA Editions, 1997; 21-34.

BIRD, E. *Coastal Geomorphology: an Introduction*. London, UK, Wiley Europe 2000; p. 340.

BRASIL. Instrução normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Brasília, DF, *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil* 1999; 22 dez.

BRASIL. Ministério da saúde. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Estabelece normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. 1965; 9 abr.

BRASIL. Portaria nº 11 DE 1987. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária - MS. Brasília,DF, *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. 15 mai.

BRASIL. Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Ministério da Saúde. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF, *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil* 2001; 14 dez.

BRASIL. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília,DF, *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil* 1998; 28 ago.

BRASIL. Resolução nº 421, de 03 de fevereiro de 2010. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, DF *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil* 2010; 4 fev.

BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, DF *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil* 2005; 09 de mai.

ÇAVAS, T.; GARANKO, N. N.; ARKHIPCHUK, V. V. Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. *Food Chem Toxicol* v. 43 p. 569–574. 2005.

DORNELLES, L. M.; CALACHE, S. C.; DIAS, A. E. S.; MENDONÇA, B.S.; CRISTELLO, K.A.; BARROS, C. L. M. Uso do geoprocessamento no diagnóstico ambiental de ambientes costeiros. III Workshop Brasileiro de Geoinformatica; Rio de Janeiro. p. 137-154. 2000.

FAGR, K. A. EL-SHEHAWI, A. M.; SEEHY, M.A. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. *Afr. J. Biotechnol.* v. 7, p. 606-612. 2008.

FARIAS, J.; MILANI, M. R.; NIENCHESKI, L. F. H.; PAIVA, M. L. Especificação química de arsênio inorgânico no estuário da Laguna dos Patos (RS, Brasil). *Quím. Nova* v. 35, n. 7, p. 1401-1406. 2012.

FERREIRA, G. A.; MACHADO, A. L. S.; ZALMON, L. R. Temporal and Spatial Variation on Heavy Metal Concentrations in the bivalve *Perna perna* (LINNAEUS, 1758) on the Northern Coast of Rio de Janeiro State, Brazil. *Sci. Total Environ.* v. 47, n. 2, p.319-327. 2004.

FÖSTNER, U. Metal pollution assessment from sediment analysis. In Föstner, U.; Whitmann, G. T. W. (eds) *Metal pollution in the aquatic environment*. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag 1981;110-194.

FRASCO, M. F.; FOURNIER, D.; CARVALHO, F.; GUILHERMINO, L. Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers* v. 10, n. 5, p. 360-375. 2005.

GAITONDE, D.; SARKAR, A.; KAIZARY, S.; SILVA, C.D.; DIAS, C.; RAO, D. P.; RAY, D.; NAGARAJAN, R.; DE SOUZA, S. N.; SARKER, S.; PATILL, D. Acetylcholinesterase activities in marine snail (*Cronia contracta*) as a biomarker of neurotoxic contaminants along the Goa coast, West coast of India. *Ecotoxicology* v. 15, n. 4, p. 353 -358. 2006.

GALLOWAY, T. S. Biomarkers in environmental and human health risk assessment. *Mar Pollut Bull* v. 53, n. 10-12, p. 606-613. 2006.

GARCIA-RODRÍGUEZ, M. C.; LÓPEZ-SANTIAGO, V.; ALTAMIRANO-LOZANO, M. Effect of chlorophyllin on chromium trioxide-induced micronuclei in polychromatic erythrocytes in mouse peripheral blood. *Mutat Res* v. 496, n. 1-2, p. 145-151. 2001.

GOERING, P. L. Lead Protein Interaction as a Basis for Lead Toxicity. *Neurotoxicology*; v. 14, n. 2-3. p. 45-60. 1993.

HAEGER-ARONSEN, B.; ABDULLA, M.; FRISTEDT, B. I.; Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydrase activity in red blood cells. *Arch. Environ. Health* v. 23, n. 6, p. 440-445. 1971.

HODSON, P. V.; BLUNT, B. R.; SPRY, D. J.; Chronic toxicity of waterborne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water. *Water Res* v. 12, n. 10, p. 869-878. 1978.

<http://magazine.mining.com/issues/0804/ImpactsMetalsAquaticHealth.pdf>

HUTTON, M. Human Health Concerns of Lead, Mercury, Cadmium and Arsenic. In: Eds Hutchinson, T. C.; Meema, K. M. **Lead, Mercury, Cadmium and Arsenic in the Environment**. John Wiley & Sons. p.53-68. 1987

INACIO, A. F. *Metalotioneína e Metais em Geophagus brasiliensis – Acará*(dissertação) Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. 2006.

International council for the exploration of the sea. Biological effects of contaminants: *Quantification of δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity in fish blood*. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences 2004.

JAMES, M. O.; KLEINOV, K. M. Trophic transfer of chemicals in the aquatic environment. In: Malins, D. C.; Ostrander, G. (eds) *Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical, and Cellular Perspectives*. USA, Lewis Publishers 1994; p. 135.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio. *Oecol Bras* v. 12, n. 4, p. 680-693. 2008.

LEITE, M. A. *Análise do Aporte, da taxa de sedimentação e da concentração de metais na água, plâncton e sedimento do reservatório de Salto Grande, Americana-SP*. (tese)Engenharia Ambiental da USP, São Carlos. 2002.

LEMOS, C. T.; RÖDEL, P. M.; TERRA, N. R.; ERDTMANN, B. Evaluation of basal micronucleus frequency and hexavalent chromium effects in fish erythrocytes. *Environ Toxicol Chem* v. 20, n. 6, p. 1320-1324. 2001.

LOPES, R. M. *Colinesterases de músculo e cérebro de peixes teleósteos como biomarcadores* (tese) Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2005.

- LU, Y.; ALLEN, H. E. Partitioning of copper onto suspended particulate matter in river waters. *Sci. Total Environ.* v. 277, n.1-3, p. 119- 132. 2001.
- LUOMA, S N. Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments. In Rainbow, R. W. F. A. P. S.(ed.) *Heavy metals in the marine environment*. Boca Raton, Florida CRC Press. 1990; 51-66.
- MAJER, B. J.; TSCHERKO, D.; PASCHKE, A.; WENNRICH, R.; KUNDI, M.; KNASMULLER, S. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: A comparative investigation. *Mutat Res* v. 515, n. 1-2, p. 111-124. 2002.
- MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTII, A. M. I.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genet Mol Biol* v. 29, n. 1, p. 148-158. 2006.
- MCCARTY, L. S.; MUNKITTRICK, K. R. Environmental biomarkers in aquatic toxicology: fiction, fantasy, or functional? *Hum Ecol Risk Assess* v. 2, n. 2, p. 268-274. 1996.
- MUTO, N.; REN, H. W.; HWANG, G. S.; TOMINAGA, S.; ITOH, N.; TANAKA, K. Induction of two major isoforms of metallothionein in crucian carp (*Carassius cuvieri*) by airpumping stress, dexamethasone, and metals. *Comp Biochem Physiol* v. 122, n. 1. p. 75–82. 1999.
- NAKAHARA, T. Applications of Hydride Generation Techniques in Atomic Absorption, Atomic Fluorescence and Plasma Atomic Emission Spectroscopy, *Prog.Analyt. Atomic Emission Spectrometry*, v. 6, p. 163–223. 1983

NIENCHESKI, L. F.; MILANI, M. R.; MILANI, I. Metais traço: Água. In: Baptista-Neto JA, Walner-Kersanach M, Patchineelam SM. *Poluição Marinha*. Editora Interciência, Rio de Janeiro, 2008; p.412.

NORDBERG, M. Metallothioneins: historical review and state of knowledge. *Talanta* v. 46, n. 2, p. 243–254. 1998.

OLIVEIRA, M. M. *Potencial da Acetilcolinesterase cerebral de peixes marinhos como biomarcadora de exposição a pesticidas* (dissertação) Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2000.

OLIVEIRA, M. R. *Investigação da contaminação por metais pesados da água e do sedimento de corrente nas margens do rio São Francisco e tributários, a jusante da represa da CEMIG, no município de Três Marias, Minas Gerais* (tese) Instituto de Geociências, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.

PHILLIPS, D. J. H.; RAINBOW, P. S. *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Ed. London, Elsevier Applied Science 1993; p.371

SANTOS, C. R. *Ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD) de tilápias (Oreochromis niloticus) na biomarcação do impacto ambiental por chumbo* (dissertação). Rio de Janeiro (RJ): Fundação Oswaldo Cruz; 2000; p.48.

SCHMITT, C. J.; CALDWELL, C. A.; OLSEN, B.; SERDAR, D.; COFFEY, M. Inhibition of erythrocyte δ -aminolevulinic acid dehydratase (alad) activity in fish from waters affected by lead smelters *Environ Monit Assess* v. 77, n. 1, p. 99-119. 2002.

SHAW, T. J.; GIESKES, J. M.; JAHNKE, R. A. Early diagenesis in differing depositional environments: The response of transition metals in pore water. *Geochim Cosmochim Acta*; v. 54, n. 5, p. 1233-1246. 1990

SIGG, L. Partitioning of metals to suspended particles. In: Allen, H. E.; Garrison, A. W.; Luther III, G. W. (Ed), *Metals in surface waters*. Ann Arbor Press, Chelsea 1998; 221-239.

SILVA, C. *Metais Pesados em peixes (Micropogonias furnieri e Cynoscion acoupa) E OSTRAS (Crassostrea brasiliana), oriundos da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil*. (dissertação) Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ. 2009.

SILVA, J. C. *Biomarcadores morfológicos e análise química da bile em peixes para a avaliação da qualidade da água do rio Iguaçu* (dissertação) Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR. 2010.

SOLOMON, F. Impacts of metals on aquatic ecosystems and human health. Mining.com: a mine of information. 2008. p.14-19. Disponível em:

STENESH. J. BIOCHEMISTRY. NEW YORK: PLENUM .In: Costa JRMA. *Bioindicadores de contaminação em peixes de água doce, por exposição ao Chumbo (II): ensaios laboratoriais e estudos de caso preliminar no Rio Ribeira (SP/PR)*. 1998.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. *Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*. 2ª ed. New York, John Wiley & Sons – Wiley Interscience Publications 1996; p.780.

STURM, A.; SILVA DE ASSIS, H. C.; HANSEN, P. D. Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potencial use in the monitoring of neurotoxic contamination. *Mar Environ Res* v. 47, n. 4, p. 389-398. 1999.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol* v. 13, n. 2, p. 57-149. 2003.

- VENEZUELA, T. C. **Determinação de Contaminantes Metálicos (Metal Tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de Nova Friburgo- R.J.(dissertação)**. Escola de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. p.96. 2001
- VIARENGO, A.; BURLANDO, B.; DONDERO, F.; MARRO, A.; FABBRI, R, Metallothionein as a tool in biomonitoring programs. *Biomarkers* v. 4, n. 6, p. 455–466. 1999.
- VIARENGO, A.; PONZANO, E.; DONDERO, F.; FABBRI, F. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to mediterranean and antartic molluscs. *Mar Environ Res* v. 44, n. 1, p. 69-84. 1997.
- WALNER-KERSANACH, M.; BIANCHINI, A. Metais traço em organismos: monitoramento químico e de efeitos biológicos. In: Baptista-Neto, J. A. Walner-Kersanach, M.; Patchineelam, S. M. *Poluição Marinha*. Editora Interciência, Rio de Janeiro 2008; p.412
- WASSEMAN, J. C.; WASSEMAN, M. A. Comportamento de metais em sedimentos In: Baptista-Neto, J. A.; Walner-Kersanach, M.; Patchineelam, S. M.; *Poluição Marinha*. Editora Interciência, Rio de Janeiro 2008; p.412.
- WETMUR, J.; BISHOP. D.; CANTELMO, C.; DESNICK. R. J. Human d-Aminolevulinate Dehydratase: Nucleotide Sequence of a Full-length cDNA Clone. Proc. *Natl. Acad. Sci.* v. 83, n. 20, p. 7703-7701. 1986.
- WIGFIELD, D. C.; FARANT, J. P. Assay of d-Aminolevulinate Dehydratase in 10ml of Blood. *Clinical Chems* v. 27, n. 1, p. 100-103. 1981.

YALE, M.; OLIVEIRA, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Quim Nova*, v. 21, n.5, p. 551-556. 1998.

ZHANG, Y. J.; BRYAN, N. D.; LIVENS, F. R.; JONES, M. N. Complexing of metal ions by humic substances. In: Gaffney, J. S.; Marley, N. A.; Clark, S. B. *Humic and fulvic: isolation, structure and environmental role*. Wiley & Sons: New York 1996; 194-206.

ZHOU, Q.; ZHANG, J.; FU, J.; SHI, J.; JIANG, G. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal Chim Acta*; v. 606 n. 2, p. 135-150. 20

Artigo em preparação para ser submetido para o periódico “Ecotoxicology”

ARTIGO CIENTÍFICO 2

BIOMARCADORES EM *Hoplias malabaricus* NA LAGOA IMBOASSICA, MACAÉ, BRAZIL.

Biomarkers IN *Hoplias malabaricus* of Imboassica lagoon, Macaé, Brasil.

R. S. C. Coimbra - M. S. Mascarenhas - V. B. Saraiva - V. P. S. Oliveira - M. M. Oliveira

R. S. C. Coimbra - M. S. Mascarenhas - V. B. Saraiva - M. M. Oliveira

Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental – LEMAM/ Instituto Federal Fluminense/*Campus* Cabo Frio

V. P. S. Oliveira

Unidade de Pesquisa e Extensão Agro-Ambiental – UPEA/Instituto Federal Fluminense

RESUMO

No estudo realizado em 2011 e 2012, na lagoa Imboassica (Macaé-RJ, Brasil), indivíduos da espécie traíra (*Hoplias malabaricus*) tiveram seus músculos coletados para análises de alguns metais traço (Cd, Pb, Cr e Ni) e medições de dois biomarcadores: colinesterases em cérebro e micronúcleo em eritrócitos no sangue. O fator de condição também foi avaliado. Como referência foi utilizada a lagoa Encantada (Macaé-RJ, Brasil). Nas três coletas realizadas na lagoa Imboassica não foram encontrados metais traço acima dos limites estabelecidos para pescado pelas leis brasileiras. Entretanto, a atividade de colinesterase cerebral de *Hoplias malabaricus* foi inferior na lagoa Imboassica com relação à lagoa Encantada sendo indicativo de exposição a algum composto neurotóxico anticolinesterásico. No teste de micronúcleo, todas as amostras referentes à lagoa Imboassica apresentaram número superior de micronúcleos em relação a lagoa Encantada refletindo efeito genotóxico atribuído a xenobiótico presente na lagoa Imboassica. O fator de condição dos espécimes referentes à

lagoa Encantada foi superior ao observado na lagoa Imboassica sugerindo melhor estado de saúde do organismo. Estes fatos estão condizentes com o contínuo aporte de efluentes urbanos e industriais lançados na lagoa Imboassica quando comparada a lagoa Encantada, merecendo maior atenção para programas contínuos de monitoramento.

ABSTRACT

In a study conducted in 2011 and 2012, the Imboassica lagoon (Macaé, Brazil), individuals of the species traíra (*Hoplias malabaricus*) had their muscles collected for analysis of some trace metals (Cd, Pb, Cr and Ni) and measurements of two biomarkers: cholinesterase in brain and micronucleus in erythrocyte from blood. The condition factor was also evaluated. As a reference we used the Encantada Lagoon (Macaé, Brazil). In the three samples collected in Imboassica lagoon trace metals were not found above the limits established by Brazilian fisheries legislation. However, the activity of brain cholinesterase *Hoplias malabaricus* was lower in Imboassica regarding the Encantada Lagoon, being indicative of exposure to some anticholinesterase neurotoxic compounds. In the micronucleus test, all samples related to Imboassica showed higher number of micronuclei in related to Encantada reflecting genotoxic effects attributed to xenobiotic present in the Imboassica lagoon. The condition factor of specimens relating to Encantada Lagoon was higher than that observed in the lagoon Imboassica suggesting better state of health of the organism. These facts are consistent with the continuous supply of urban and industrial effluents released in the Imboassica lagoon compared to Encantada Lagoon, deserving greater attention to ongoing monitoring programs.

Palavras Chave: biomarcadores, acetilcolinesterase, fator de condição , metais , peixes.

Keywords : biomarkers, acetylcholinesterase, condition factor, metals, fish.

INTRODUÇÃO

A lagoa Imboassica representa o ponto terminal da bacia de drenagem do rio de mesmo nome, que nasce no complexo geográfico da Serra do Mar (Frota & Caramaschi, 1998). A ocupação deu-se no fim da década de 70 e já nos anos 80 a área urbana avançou rapidamente para a região sul, principalmente no entorno da lagoa (Dias, 2005).

A lagoa Imboassica recebe aporte de água fluvial e é sujeita a contatos esporádicos com o oceano, os quais podem ser atribuídos a causas naturais, no caso de ressacas marinhas, ou causas artificiais, no caso da abertura artificial da barra de areia que a separa do mar. Esta última ocorre principalmente como reflexo de pressões sociopolíticas que visam o incremento da atividade pesqueira e/ou a melhoria da qualidade da água que recebe cargas de esgoto domiciliar *in natura* provenientes das residências adjacentes (Macedo-Soares *et al.*, 2007).

Neste sentido, análises das concentrações de metais em animais aquáticos utilizados como fonte de alimento, são importantes para investigar a possível transferência destes elementos para o homem. Dados sobre a distribuição destes elementos em órgãos e tecidos de peixes são de extrema importância para predizer seus efeitos tóxicos. Desta forma, um estudo sobre a contaminação do pescado torna-se de grande importância tanto do ponto de vista ambiental, quanto de saúde pública, já que os organismos estudados são consumidos pela população local.

Auxiliando na gestão dos recursos hídricos métodos ecotoxicológicos podem predizer efeitos tóxicos de agentes químicos, físicos e biológicos sobre determinado ecossistema aquático (Magalhães & Ferrão Filho, 2008). Ou ainda, informar sobre a condição de saúde dos organismos através das análises de bioacumulação e de biomarcadores em organismos relevantes para o ambiente aquático como os peixes (Van der Oost *et al.*, 2003).

Os biomarcadores são alterações bioquímicas, fisiológicas, genéticas e histológicas em organismos aquáticos que demonstrem níveis de estresse ambiental. São ferramentas úteis para a verificação de efeitos deletérios sofridos pela biota (Huggett *et al.*, 1992). Neste contexto, destacamos as colinesterases. As colinesterases são esterases que apresentam-se sob duas formas em vertebrados: acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) e butirilcolinesterase (BChE, EC 3.1.1.8). A acetilcolinesterase (EC 3.1.1.7) é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina relacionado com as sinapses neuronais e do sistema nervoso periférico parassimpático. E, a butirilcolinesterase (EC 3.1.1.8), que possui papel fisiológico não totalmente compreendido, está relacionada com a neurotransmissão como cooperadora da

AChE no processo, e apresenta também um papel de enzima protetora ou lixeira quando ligam-se a compostos organofosforados (Masson & Lockridg, 2010). A inibição da atividade das colinesterases está entre os biomarcadores mais utilizados na prática ecotoxicológica devido sua a reprodutibilidade e praticidade na detecção de exposição à pesticidas organofosforados e carbamatos (Van Dyk & Pletschke, 2011).

Outro biomarcador com ampla aplicação na detecção de efeitos genotóxicos é o micronúcleo. Os micronúcleos são massas de cromatina citoplasmática com aspectos de pequenos núcleos. São constituídos principalmente por fragmentos cromossômicos ou por cromossomos retardados durante a migração anafásica, que se detectam em células interfásicas mediante técnicas simples de coloração, aparecendo no citoplasma como pequenos fragmentos basófilos (Al-Sabit & Metcalfe, 1995)

Para Fagr *et al.* (2008) por conta do dano genético resultante da quebra ou anormalidades no cromossomo, ocorre a formação que pode servir como índice para evidenciar alguns danos. A contagem de micronúcleos por ser rápida e pouco exigente tecnicamente em relação à pontuação de aberrações cromossômicas tem sido amplamente utilizada para a identificação de produtos químicos que venham a causar este tipo de dano à célula.

O fator de condição é um indicador de grau de higidez ou bem estar da espécie no ambiente aquático (Tavares-Dias *et al.*, 2008). Pode avaliar diferentes condições de alimentação e as interferências das condições ambientais, refletindo as interações entre o peixe e os fatores bióticos e abióticos (Tavares-Dias *et al.*, 2008).

A Traíra *Hoplias malabaricus* foi selecionada tanto para as análises químicas quanto para ensaio de biomarcadores por apresentar elevada flexibilidade alimentar. Pelo fato da traíra ocupar níveis tróficos superiores da cadeia alimentar e ser considerado um predador noturno, que se alimenta através de predação e emboscada mostram uma intensa bioacumulação de metais traço e outros contaminantes, se mostrado um excelente bioindicador de poluição e modelo para estudos toxicológicos (Oliveira Ribeiro *et al.*, 2006).

Com este estudo objetiva-se: a) avaliar as concentrações dos metais traço (Cd, Pb, Cr, e Ni) em comparação com valores permitidos pela legislação brasileira para consumo humano, b) analisar os biomarcadores colinesterase e micronúcleos nos peixes e correlacioná-los com a presença de metais nestes organismos, c) comparar o grau de higidez dos peixes entre as duas lagoas estudadas.

MATERIAL & MÉTODOS

Área de Estudo

A lagoa Imboassica localizada no município de Macaé (22° 50' S e 44° 42' W) possui área de 3,30 km², profundidade média 1,09 m e comprimento e largura máximos efetivos de 5,30 e 1,30 km, respectivamente (Panosso *et al.*, 1998). Grande parte de sua bacia de drenagem e a metade de seu perímetro têm sido aterradas e ocupadas por residências que drenam seus efluentes para o interior da lagoa (Branco *et al.*, 2007).

Amostragem

Para amostragem dos indivíduos foram feitas duas campanhas: uma no mês de novembro de 2011, representando a estação chuvosa, e outra em agosto de 2012, representando a estação seca. Para cada uma delas coletou-se a quantidade suficiente para o equivalente a 500 gramas de tecido muscular da espécie em estudo.

Uma terceira amostragem foi realizada para servir como referência para as análises, possuindo as mesmas características semelhantes da lagoa em avaliação, apresentando menos influência antrópica e despejo de efluentes na mesma. A metodologia para coleta, triagem e armazenamento seguiu a proposta para Lagoa Imboassica.

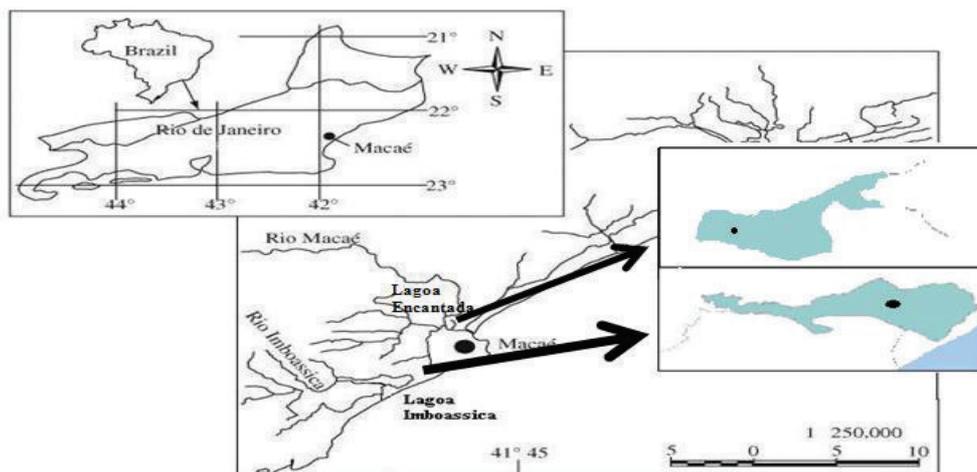


Figura 1 - Mapa da área de amostragem. Lagoa Encantada e lagoa Imboassica com detalhamento do ponto de amostragem do pescado. (Adaptado de Camara, 2010)

Os peixes foram coletados com rede de espera (40 mm entrenós) mantida *over night* para a captura dos espécimes que possuem hábito noturno. Pela manhã os animais foram

dissecados após secção da coluna vertebral. Foram retirados sangue para preparação do esfregaço através da artéria caudal com o uso de seringa contendo heparina e cérebro para ensaios de colinesterase. O material para análise de colinesterase foi armazenado em tubos de polietileno, mantido em gelo seco (-78°C), levados ao laboratório e, finalmente, condicionados em freezer (-20°C).

Para preparo das amostras de análises químicas, a filetagem foi realizada individualmente para retirada do músculo esquelético dorso lateral situado entre a nadadeira dorsal e o final do pedúnculo caudal. Este material foi triturado e armazenado em sacos do tipo zip-lock e, posteriormente enviados ao laboratório sob refrigeração.

Fator de Condição

O fator de condição (CF) foi calculado utilizando a equação, $CF = (W/L^3) \cdot 100$ onde W = peso corporal (g) e L = comprimento total (cm). O CF foi expresso em g/cm^3 .

Análises Químicas

As análises dos metais Cd, Pb, Cr, e Ni foram feitas pelo método de digestão ácida com sulfonitrica e quantificação por ICP-OES (Emission Spectrometry Inductively Coupled Plasma). Os resultados foram comparados com os valores máximos permitidos pela legislação brasileira que estabelece as concentrações máximas permitidas para contaminantes inorgânicos em alimentos e produtos da pesca.

Ensaio de colinesterase

Para preparo das frações solúveis de cérebros as amostras foram descongeladas e secas em papel de filtro, depois pesadas individualmente. Os cérebros foram homogeneizados em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0 a 5°C em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem (Potter, 1955) na proporção de 1 g de cérebro para 10 mL de tampão (10% peso por volume de tampão). O homogeneizado foi centrifugado (10.000 g por 30min a 5°C) e o sobrenadante foi usado nos ensaios enzimáticos. O sobrenadante foi armazenado a -20°C até o momento do uso. As atividades acetilcolinesterásicas foram ensaiadas pelo método de Ellman (1961) adaptado. Para medir atividade acetilcolinesterásica em um volume final de reação de 200 µL junta-se o tampão de ensaio (fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5) o reagente de cor (DTNB 6,4 mM), o substrato acetiltiocolina na concentração final de 1,875 mM e 40 µL da fração da amostra de peixe. A formação do produto foi mensurada pela absorção contínua em ensaio cinético, durante 90s a 412nm, em espectrofotômetro. Para os cálculos da atividade

enzimática utilizamos o coeficiente de extinção molar de $14.150 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ do ácido tionitrobenzóico (TNB) formado. E 1 U (unidade enzimática) é 1 μg de produto (TNB) obtido após 1 min de reação.

Ensaio de micronúcleo

O teste de micronúcleo foi realizado segundo Lemos *et al.* (2001) com adaptações. Após o preparo das lâminas de cada indivíduo, estas foram fixadas em metanol absoluto por 30 min e posteriormente coradas comorceína acética 2,5% por 10 min. Cada peixe teve 2000 eritrócitos analisados para a detecção de micronúcleos através de uma lente de aumento de 1000 x em óleo de imersão.

Estatística

Os resultados de análise de variância foram obtidos por Graph Pad Prism® (versão 4.0) complementados por pós-teste de Tukey e Programa Excel para as determinações médias, desvio padrão e regressões não-lineares.

RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos da água das duas lagoas encontram-se apresentados na tabela 1 mostraram semelhança entre ambas. O pH da lagoa Imboassica apresentou-se ligeiramente mais básico que o observado na lagoa Encantada. E na última amostragem os valores de salinidade de Imboassica mostraram alteração considerável em relação às demais amostragens.

Tabela 1 - Parâmetros físicos-químicos das lagoas estudadas no período amostral

| Sítio | pH | COD (mg/L) | SAL % | RES (Ω .cm) | STD (mg/L) | CE ($\mu\text{S/cm}$) | TEMP ($^{\circ}\text{C}$) |
|--------------|------|---------------|----------|------------------------|---------------|----------------------------|--------------------------------|
| Imboassica A | 7.39 | 8.05 | 0.40 | 1221 | 401 | 818 | 24.7 |
| Imboassica B | 7,07 | 8,64 | 2,94 | 1837 | 287 | 544 | 23,7 |
| Encantada | 5.97 | 7.33 | 0.40 | 1232 | 397 | 811 | 24.5 |

ph – Potencial de hidrogênio COD - Concentração de Oxigênio Dissolvido , SAL - Salinidade , RES - Resistividade , STD - Sólidos Totais Dissolvidos CE - Condutividade Elétrica e Temperatura (TEMP)

Foram coletados um total de 6 organismos para cada amostragem, onde fator de condição de *H. malabaricus* coletadas na lagoa Encantada apresentou-se significativamente diferente em relação aos *H. malabaricus* coletados na lagoa Imboassica.

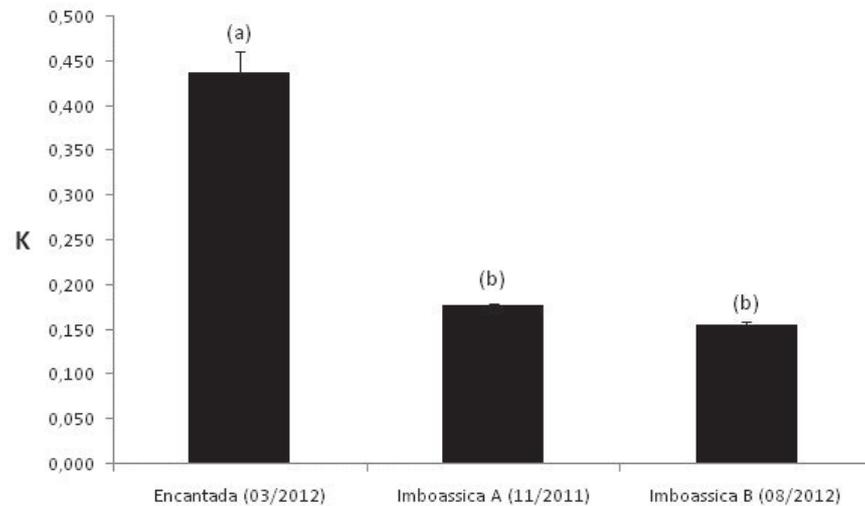


Gráfico 1 Fator de condição alométrico (K) dos espécimes coletados nas lagoas Encantada (a) e Imboassica (b). Diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$)

Os resultados obtidos nas análises de metais traço realizadas em músculo de *H. malabaricus* em Imboassica não ultrapassaram os valores estabelecidos pela legislação brasileira: no Decreto nº 55.871, de 26/03/65 do Ministério da Saúde e da portaria nº 685 de 27/08/1998 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) que normatiza os limites máximos de tolerância de contaminantes inorgânicos em alimentos.

Tabela 2 - Resultados dos teores de metais em músculo de *Hoplias malabaricus* na Lagoa Imboassica

| Parâmetro | Unidade | LQ | LD | LM | Imboassica A | Imboassica B |
|-----------|----------|-----|-----|-----|--------------|--------------|
| Cádmio | mg Cd/Kg | 0,4 | 0,1 | 1 | nd | nd |
| Chumbo | mg Pb/Kg | 2,5 | 0,8 | 2 | nd | nd |
| Cromo | mg Cr/Kg | 1,7 | 0,5 | 0,1 | nd | nd |
| Níquel | mg Ni/Kg | 1 | 0,3 | 5 | nd | nd |

1 - LD: Limite de detecção do método

2 - LQ.: Limite Quantificação do Método.

3- LM - Limites Máximos de tolerância de contaminantes inorgânicos em alimentos segundo a Portaria n 685 de 27/08/1998 da ANVISA e Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965.

nd - não detectado

Na avaliação de biomarcadores foi verificada uma diferença com significância estatística na atividade da acetilcolinesterase (AChE) cerebral. Nos espécimes coletados na Lagoa Encantada, verificamos uma atividade média de 0,841 U/g de tecido úmido da AChE. Enquanto na Lagoa Imboassica as duas amostragens (A e B) mostraram atividades de 0,302 U/g e 0,331 U/g de tecido úmido, respectivamente.

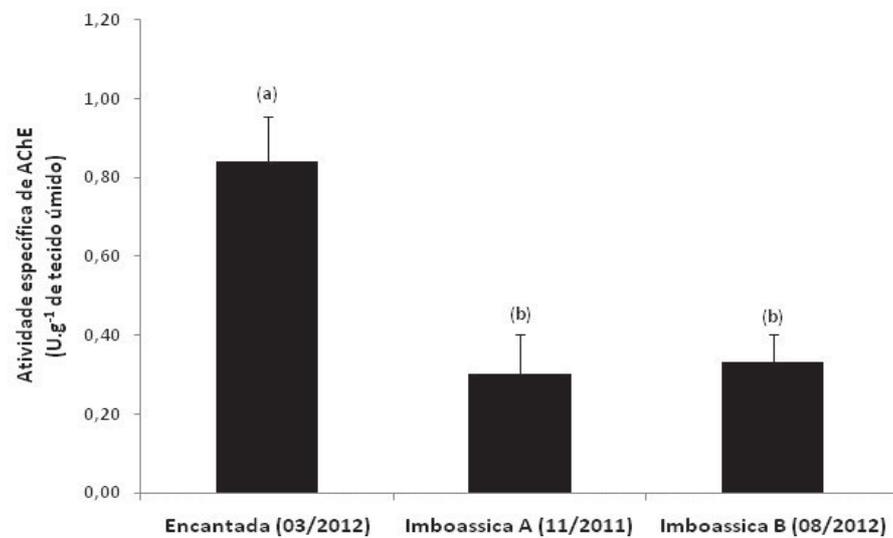


Gráfico 2 Atividade específica da AChE solúvel em cérebros de *H. malabaricus*. Diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$).

Na contagem de micronúcleos em eritrócitos de *H. malabaricus*, em Imboassica A e B foram encontrados os valores de 0,28% e 0,29% respectivamente dos eritrócitos analisados (ou seja, 5,6 e 5,9 micronúcleos por 2000 eritrócitos contados). Na Lagoa Encantada foi analisada a mesma quantidade de células e somente encontrados micronúcleos em 0,01% dos eritrócitos avaliados (1 micronúcleo para cada 10000 eritrócitos contados).

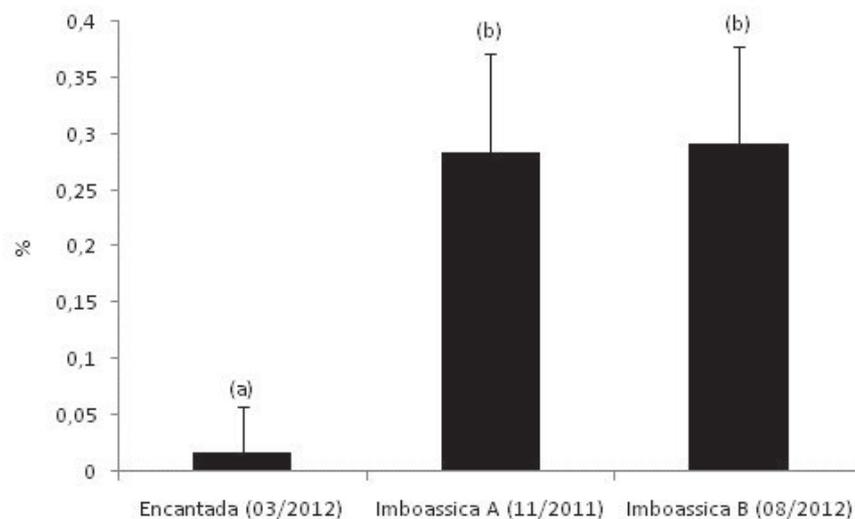


Gráfico 3 Contagem de micronúcleos em eritrócitos de *H. malabaricus*. Diferenças entre as letras indicam grupos estatisticamente distintos (ANOVA, teste Tukey, $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

A avaliação e comparação de dados limnológicos da coluna d'água das duas lagoas foi realizado com o objetivo de avaliar a semelhança entre ambas, além do conhecimento estrutural e funcional dos ecossistemas para sua utilização e preservação. Os parâmetros avaliados foram essenciais para a caracterização dos ambientes estudados e servirão de base para a compreensão de eventos futuros sejam eles pontuais ou difusos.

Na avaliação da concentração de oxigênio dissolvido, Imboassica mostrou-se saturada em ambas as amostragens, assim como Encantada. Isto pode ser reflexo de elevadas densidades de microalgas (fitoplâncton), visto a alta produção de oxigênio pela fotossíntese ao longo do dia, já no período noturno o consumo por diversas vezes pode igualar ou superar a produção durante o período luminoso diminuindo drasticamente a disponibilidade de oxigênio na água (Esteves, 1998b).

No que se refere à variável pH as amostragens em Imboassica mantiveram-se ligeiramente básicas em relação a Encantada que se mostrou com um perfil ácido, estando abaixo dos valores de observação e padrões para águas doces segundo a legislação brasileira (Brasil, 2005). Os dados de salinidade indicam a classificação dos pontos amostrados em Encantada e Imboassica A como águas doces visto que os valores encontrados estão abaixo do estabelecido pela legislação ($\leq 0,5\%$). Em relação à salinidade encontrada para Imboassica B, superior a Imboassica A, pode ser explicada pela abertura artificial de barra ocorrida em janeiro de 2012 proporcionando a entrada de águas salinas durante um período prolongado. Os valores encontrados definem o perfil de Imboassica B como sendo um ambiente de águas salobras ($> 0,5\%$ e $< 0,30\%$).

Os demais parâmetros físico-químicos avaliados mostraram semelhanças entre ambos os ambientes estudados, estando as duas lagoas avaliadas dentro dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira (Brasil, 2005).

O fator de condição dos organismos foi avaliado para analisar a saúde ambiental do ecossistema, esta avaliação por ser simples e levar em consideração o peso e o tamanho dos organismos, se torna uma excelente ferramenta de monitoramentos ambientais, visto que a saúde destes é reflexo do ambiente em que se encontram.

Neste estudo foram coletados um total de seis organismos (n=6) para cada local de amostragem. O fator de condição individual é entendido como um indicador das reservas energéticas dos tecidos, havendo a expectativa de que um peixe com condição relativamente melhor apresente taxas de crescimento superiores, bem como maior potencial reprodutivo e de sobrevivência que outro em pior condição, em situações ambientais comparáveis (Camara *et al.* 2011). Alguns poluentes, como metais exercem significativo impacto sobre incremento de peso, pois alteram as respostas comportamentais, como por exemplo, a capacidade exploratória (Javed, 2012).

Esta variável segundo Rocha *et al.* (2005) pode inter-relacionar aspectos como aporte nutricional, doenças e contaminantes com a criação do peixe. Permitindo comparações entre populações de peixes, que estão submetidas a diferentes condições de clima, temperatura, alimentação, densidade, etc.

Neste estudo foram coletados um total de seis organismos (n=6) para cada local de amostragem. Os valores encontrados para os ecossistemas avaliados sugerem um melhor estado de saúde dos organismos coletados na Lagoa Encantada visto que tais organismos apresentam fator de condição duas vezes maior do que os coletados em Imboassica (figura 3). Esta diferença significativa vai de encontro com as diferentes características dos ambientes estudados, estando a Lagoa Imboassica com maior ocupação antrópica e despejo de esgoto *in natura* do que a Lagoa Encantada que possui baixa ocupação no seu entorno e reduzida ou inexistente lançamento de efluentes como evidenciado na amostragem em campo.

Nas análises físico-químicas dos metais (Cd, Pb, Cr e Ni) analisados na *H. malabaricus* coletados em Imboassica não foram detectadas concentrações que evidenciassem o acúmulo destes nos no tecido avaliado pela técnica de ICP-OES. Esta por sua vez é uma das mais utilizadas técnicas para análises ambientais de água tendo limite de detecção na ordem de 0,2-25 ng.mL⁻¹, porém seu limite de detecção não é melhor que o ICP-MS que chega na ordem 0,05- 0,1 ng.mL⁻¹ (Menegário and Giné 1998). Este talvez seja um ponto a ser considerado nos resultados para análises de peixes. Um limite mais baixo de detecção poderia encontrar concentrações mais baixas dos metais analisados. Outro ponto importante, está no fato de que o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) para pelo menos três elementos traço do estudo (Cd, Cr e Ni) não incluem o limite máximo (LM) de tolerância estabelecido pela legislação brasileira. Seus LD e LQ ou estão acima (Cr) ou abaixo (Cd e Ni) do LM.

Outro aspecto que deve ser considerado é o tecido do organismo que foi avaliado, neste caso utilizamos o tecido muscular visto que segundo Canli (1998) a avaliação de metais neste tecido é de extrema importância, pois é parte do peixe mais consumida pelas populações. Entretanto, a magnitude da acumulação dos metais neste tecido é menor, pois é onde a atividade metabólica é também relativamente menor.

Em estudos com tecido muscular em peixes tem demonstrado que tal tecido é um indicador ruim para contaminação por cobre e zinco, sendo esta afirmação também válida para a maioria dos outros metais com exceção do mercúrio que tem alta afinidade por metais em comparação com outros metais. (Miller, Munkittrick, and Dixon, 1992). Uysal *et al.* (2008) em seu trabalho apresenta as diferentes concentrações de acumulação nos tecidos sendo maiores em fígado e brânquias, enquanto no músculo e gônadas esses valores foram menores em todas as espécies avaliadas.

O resultado apresentado pela AChE em nosso estudo pode não representar a atividade total do tecido, pois foi obtida do cérebro sem uso de detergente. Todavia, estamos contando com aproximadamente 20 a 40 % da atividade total da acetilcolinesterase em cérebro segundo Oliveira *et al.* (2007). A inibição da enzima acetilcolinesterase é um reconhecido biomarcador neurotóxico, sendo inibida principalmente por organofosforados e carbamatos (Oliveira *et al.* 2007; Kawakami *et al.* 2008). Além dos compostos citados acima, a toxina de cianobactéria anatoxina-a(s) é um potente inibidor de colinesterases (Monserrat *et al.* 2001).

Vários trabalhos relacionam alteração da atividade da enzima na presença de metais (Van der Oost *et al.* 2003; Frasco *et al.* 2005; Gaitonde *et al.* 2006). Este biomarcador tem sido amplamente utilizado em programas de monitoramento de ambientes impactados por atividade agrícola e industrial (Wijeyaratne & Pathiratne, 2006; Gaitonde *et al.* 2006; Yadav *et al.* 2009). Como a atividade agrícola na bacia hidrográfica da Lagoa Imboassica é insipiente, as atenções segundo Esteves (1998a) recaem sobre a atividade industrial e de esgoto doméstico sem tratamento, sendo que ambas podem ser veículos para o aporte de metais traço (Karvelas *et al.* 2003; Krishna & Mohan, 2013).

Alguns estudos demonstram efeitos de metais sobre a AChE. Frasco *et al.* (2007) realizaram um amplo estudo sobre efeito inibitório de mercúrio inorgânico (HgCl_2) sobre acetilcolinesterases de algumas espécies, indicando uma variação interespecífica para esta inibição. Ainda neste estudo, eles concluíram que o padrão de inibição é dependente da

presença ou ausência de uma cisteína livre sensível na enzima. O cádmio (Cd) também é capaz de causar inibição *in vitro* na AChE de cérebro e músculo *Oreochromis niloticus*, porém os IC50 *in vitro* são da ordem de milimolar (Silva & Pathiratne, 2008). O cádmio *in vivo* foi tóxico somente em altas concentrações no ambiente, mas quando presente junto com um organofosforado (clorpirifos) causa efeito sinérgico promovendo forte inibição da AChE cerebral (Silva & Pathiratne, 2008). Em trabalho realizado com *Clarias gariepinus*, um tipo de bagre africano, o cromo hexavalente (Cr^{+6}) mostrou inibição de atividade de butirilcolinesterase de rim após 7 dias de exposição do peixe a concentração subletal (2-8 mg.L^{-1}) (Kori-Siakpere *et al.* 2012).

Em nosso estudo, as baixas atividades verificadas nas duas coletas de Imboassica comparadas com a da Lagoa Encantada, indicam que a espécie coletada esteve exposta a xenobióticos com propriedades anticolinesterásicas. A acetilcolinesterase é biomarcador que está sujeito a variações relacionadas ao estágio de vida do peixe, sendo importante garantir coleta de espécimes de mesmo tamanho para evitar validar resultados equivocados, pois indivíduos mais jovens costumam apresentar maiores atividades de AChE cerebral que indivíduos adultos (Flamarion *et al.* 2002; Oliveira *et al.* 2007). No trabalho atual, os peixes coletados apresentaram comprimentos semelhantes nas duas primeiras coletas Imboassica A e Encantada, mas na terceira coleta, Imboassica B, os animais foram menores (dados não apresentados). Apesar deste fato, os parâmetros analisados (fator de condição, atividade de AChE e micronúcleos) não parecem ter sido afetados pela diferença do tamanho dos peixes apresentados em Imboassica.

O teste de micronúcleos avalia o aparecimento de efeito genotóxico e tem sido aplicado em estudos com peixes (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Hayashi *et al.* 1998; Llorente *et al.* 2002). No trabalho atual, as amostras de Imboassica (A e B) deixam poucas dúvidas sobre a presença de compostos genotóxicos nesta lagoa quando comparados a Lagoa Encantada (sítio de referência). Eritrócitos sanguíneos micronucleados são biomarcadores de exposição subletal à pesticidas, Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bifenilas policlorados (PCBs) e metais (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).

A espécie amazônica *Apteronotus bonapartii* quando exposta à 25 ppm de benzeno por 72 h apresentou aumento do número de micronúcleos (Bücker *et al.* 2012). A mistura complexa de poluentes oriundas de efluentes industriais, agrícolas e domésticos podem

apresentar compostos genotóxicos. Lemos *et al.*(2008), que usando como organismo sentinela a espécie nativa *Astyanax jacuhiensis* exposta a efluentes da atividade petroquímica apresentaram aumento do número de eritrócitos micronucleados e anormalidades nucleares nos sítios submetidos ao impacto da indústria petroquímica quando comparados ao sítio de referência. Lemos *et al.* (2001) verificou aumento na frequência de micronúcleos de eritrócitos de *Pimephales promelas* em presença de cromo hexavalente (Cr^{+6}).

Em estudo realizado com tilápias (*Oreochromis niloticus*) coletadas em um córrego na cidade de Franca (São Paulo, Brasil) observou-se diversos efeitos genotóxicos provocados por cromo detectado no local (Matsumoto *et al.* 2006). Além do cromo, o selênio, o mercúrio e metil-mercúrio podem ser desencadeadores do efeito clastogênico (quebra de cromossomos) que determina a formação dos micronúcleos de eritrócitos de peixes (Al-Sabti & Metcalfe, 1995). Çavas *et al.*(2005) expôs duas espécies de peixes (*Cyprinus carpio* e *Carassius gibelio*) a cromo (Cr), cádmio (Cd) e cobre (Cu) por 21 dias verificando a formação de micronúcleos em eritrócitos periféricos sanguíneos, brânquias e fígado.

Nossos resultados indicam o efeito genotóxico causado por xenobióticos presentes na Lagoa Imboassica. Este fato indica processo de degradação da qualidade do ambiente aquático que promoverá reflexos na sobrevivência das espécies aquáticas com conseqüente perda da biodiversidade e possíveis danos genéticos das populações que ainda permanecerem no ambiente.

CONCLUSÃO

A lagoa Imboassica é um recurso hídrico que sofre forte influência das atividades antrópicas do seu entorno. Este estudo revelou que os parâmetros ecotoxicológicos, embora não sejam definitivos, são reveladores de situações adversas para os peixes desta lagoa. As informações dos biomarcadores (acetilcolinesterase e micronúcleo) revelam que as espécimes foram expostas à compostos genotóxicos e neurotóxicos. Mesmo com a não detecção de teores de metais traço no músculo do peixe, não está descartada a ação de outros metais como mercúrio (Hg), arsênio (As) e cobre (Cu), bem como de compostos orgânicos (HPA, PCB, toxinas de cianobactérias ee etc). São necessários mais estudos sobre outras espécies da lagoa além de estudo epidemiológico relacionado ao consumo do pescado.

REFERÊNCIAS

- Al-Sabit K, Metcalfe CD (1995) Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water Mutation Research 343: 121-135
- Azmat, R., Talat, R. and Ahmed, K. (2007). The length – weight relationship. Condition factor and impact of fluoride concentration in *Johnius belangerii* of Arabian Sea. Research Journal of Environmental Toxicology 1(3): 138 – 143.
- Branco CWC., Kozlowsky-Suzuki, B, Esteves F.A. (2007) Environmental changes and zooplankton temporal and spacial variation in a disturbed brazilian coastal lagoon. Brazilian Journal of Biology, v.67, n.2, pp. 251-262.
- Brasil. Ministério da saúde. Decreto n° 55.871, de 26 de março de 1965. Estabelece normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos. DOU 09 de abril de 1965.
- Brasil.Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 685 de 27 de agosto de 1998.DOU 28 de agosto de 1998.
- Brasil. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, DF, 09 de mai. de 2005.
- Bücker¹ A, Carvalho M S, Conceição M B, Alves-Gomes J A (2012) Micronucleus test and comet assay in erythrocytes of the Amazonian electric fish *Apteronotus bonapartii* exposed to benzene. J. Braz. Soc. Ecotoxicol. 7(1): 65-73 doi: 0.5132/jbse.2012.01.010
- Canli M, Ay ö, Kalay M (1998) Levels of Heavy Metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in Tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River, Turkey. Tr. J. of Zoology v. 22 p.149-157
- Camara EA, Caramaschi E P, Petry A C (2011) Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em Pesquisas ecológicas com peixes. *Oecologia Australis* v. 15, n. 2, p. 249-274. 2011
- Çavas T, Garanko NN, Arkhipchuk V V. (2005) Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. Food Chem Toxicol; 43:569–574.

Ellman, G. L. *et al.* 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7: 88-95.

Esteves FA (1998a) Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do município de Macaé (RJ). NUPEM/UFRJ, Editado por Francisco de Assis Esteves, Rio de Janeiro, 464p.

Esteves FA Fundamentos de Limnologia. Interciência. 2 Ed. Rio de Janeiro, 1998b. 601p.

Fagr KA, El-Shehawi AM, Seehy MA (2008) Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. *African Journal of Biotechnology*, v.7, n. 5, pp. 606-612.

Flammarion P, Noury P, Garric J, (2002) The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leuciscus cephalus*): the Wsh length should not be ignored. *Environmental Pollution*. 120, 325–330.

Frasco M F, Colletier J P, Weik M, Carvalho F, Guilhermin L, Stojan J, Fournier D (2007) Mechanisms of cholinesterase inhibition by inorganic mercury. *FEBS Journal* 274: 1849–1861

Frasco M F, Fournier D, Carvalho F, Guilhermino L (2005) Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers* v. 10, n. 5, p. 360-375.

Frota, LOR, Caramaschi EP (1998) Aberturas artificiais da barra da lagoa Imboacica e seus efeitos sobre a fauna de peixes. In: Esteves, F. A. Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do município de Macaé (RJ). Rio de Janeiro, 464p..

Gaitonde, D.; Sarkar A, Kaizary S. Silva CD, Dias C, Rao D P, Ray D, Nagarajan R, De Souza S N, Sarker, S, Patill D Acetylcholinesterase activities in marine snail (*Cronia contracta*) as a biomarker of neurotoxic contaminants along the Goa coast, West coast of India. *Ecotoxicology* v. 15, n 4, p. 353 -358. 2006.

Hayashi M, Ueda T, Uyno K, Wada K, Kinai N, Saotome K, Tanaka N, Takai A, Sasaki Y F, Asano N, Sofuni T, Ojima Y (1998) Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms. *Mutat. Res.* 339:125-133

Huggett RJ, Kimerle RA, Mehrle Jr PM, Bergman HL. (1992). Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Boca Raton, Fla.: Lewis. 346 p.

Javed M, (2012). Growth responses of fish under chronic exposures of waterborne and dietary metals. *Int. J. Agric. Biol.*, 14: 281–285

Karvelas M, Katsoyiannis A, Samara C (2003) Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process. *Chemosphere* 53: 1201–1210

Kawakami, T. Takezawa, A. Nishi, I.; Watanabe, E. Ishizaka, M.; Eun, H.; Onodera, S. Monitoring of cholinesterase-inhibiting activity in water from the Tone canal, Japan, as a biomarker of ecotoxicity *Ecotoxicology* (2008) 17:221–228 DOI 10.1007/s10646-007-0188-3

Kori-siakpere O, Adamu, KM, Okobi, IJ (2012) Sublethal Effects of Chromium on Enzymatic Activities of the African Catfish: *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) *Notulae Scientia Biologicae* v.4, n. 1, p. 24-30.

Krishna K, Mohan K R (2013) Metal Contamination and Their Distribution in Different Grain Size Fractions of Sediments in an Industrial Development Area. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 90(2):170-175

Lemos C T , Iranço F A, Oliveira N C D, Souza G D, Fachel J M G (2008) Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. *Science of the Total Environment*. 406:337-343

Lemos CT, Rödel PM, Terra NR, (2001) Erdtmann B. Evaluation of basal micronucleus frequency and hexavalent chromium effects in fish erythrocytes. *Environ Toxicol Chem*;20(6):1320-1324.

Llorente M T, Martos A, Castañm A (2002) Detection of cytogenetic alterations and blood cell changes in natural populations of car

Macedo-Soares PHM, Camara EM, Caramaschi EP (2007) Efeito da abertura de barra de uma lagoa costeira sobre a comunidade de peixes no norte do Estado do Rio de Janeiro.. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu – MG.

Magalhães DP, Ferrão-Filho (2008) A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.* 12(3): 355-381

Masson P, Lockridge O (2010) Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Archives Biochemistry and Biophysics.* 494: 107-120

Massoulié, J.; Pezzementi, L.; Bom, S.; Krejci, E. & Vallete, F-M. (1993). Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases. *Progress in Neurobiology*, 41, 31-91.

Matsumoto ST, Mantovani MS, Malagutti AMI, Dias AL, Fonseca IC, Marin-Morales MA. (2006) Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genet Mol Biol*;29(1):148-158.

Menegário, A. A., & Giné, M. F.. Determinações multi-elementares de metais, Sulfato e Cloreto em amostras de águas por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). *Química Nova*, v. 21, n. 4, p.414-417. 1998.

Miller, P. A., Munkittrick, K. R., & Dixon, D. G. Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates and tissues of white sucker (*Catostomus commersoni*) at metal-contaminated sites. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* v. 49, p. 978–985. 1992

Monserrat JM, Yunes JS, Bianchini A (2001) Effects of anabaena spiroides (Cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 20(6):1228-1235

Oliveira M M, Silva Filho, M V, Cunha Bastos V L F, Fernandes F C, Bastos J C (2007) Brain acetylcholinesterase as a marine pesticide biomarker using Brazilian fishes. *Mar. Environ. Res.*, 63: 303-312.

Oliveira Ribeiro CA, Filipak Neto F, Mela M, Silva PH, Randi MAF, Rabitto IS, Alves Costa JRM, Pelletier E (2006) Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. *Environ. Res.*, v.101, p.74-80

Panosso, R F, Attayde J L , Muede, D. Morfometria das lagoas Imboassica, Cabiúnas, Comprida e Carapebus: implicações para o seu funcionamento e manejo. In: ESTEVES, F. A. Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do município de Macaé (RJ). Rio de Janeiro, 464p. 1998.

Potter, V. R. Tissue Homogenates. In: S.P. Colowick and N.O. Kaplan (ed.). *Methods in Enzymology*, v. 1, p. 10-15. 1955.

Rocha, M. A.; Ribeiro, E. L. A.; Mizubuti, I. Y.; Silva, L. D. F.; Borosky, J. C.; Rubin, K. C. P. Uso do fator de condição alométrico e de Fultyon na comparação de carpa (*Cyprinos carpio*), considerando os sexos e idade. *Semina: Ciências agrárias, Londrina*, v.26, n.3,p.429-434. 2005

Silva K T U, Pathiratne A.(2008) In vitro and in vivo effects of cadmium on cholinesterases in Nile tilapia fingerlings: implications for biomonitoring aquatic pollution *Ecotoxicology* 17:725–731

Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N P E (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol* v. 13, n. 2, p. 57-149

Van Dyk JS, Pletschke B (2011) Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. *Chemosphere* 82: 291-307.

Vazzoler A. E. M. 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá, EDUEM, 169p.

Wijeyaratne W M D N, Pathiratne A (2006) Acetylcholinesterase inhibition and gill lesions in *Rasbora caverii*, an indigenous fish inhabiting rice field associated waterbodies in Sri Lanka. *Ecotoxicology*. 15: 609-619

Yadav A, Gopesh A, Pandey RS, Rai DK, Sharma B (2009) Acetylcholinesterase: a potential biochemical indicador for biomonitoring of fertilizer industry effluent toxicity in freshwater teleost, *Channa striatus* Ecotoxicology 18:325-333

Tavares-Dias M, Marcon J L, Lemos J R G, Fim J D I, Affonso E G, (2008) Índices de condição corporal em juvenis de *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829) e *Colossomoma macropomum* (Cuvier, 1818) na Amazônia. B. Inst. Pesca, São Paulo, 34(2): 197 – 204

Uysal, K.; Emre, Y.; Köse, E. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey) Microchemical Journal v. 90 p. 67-70. 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A degradação dos ambientes aquáticos denotam que no passado recente e ainda hoje um certo descaso do poder público sobre estes valorosos ambientes que abrigam uma rica comunidade aquática. Ter acesso a um ambiente saudável é um direito alienável do cidadão. Os ambientes aquáticos necessitam ser devidamente utilizados conforme a finalidade a que está proposta e conservado em suas características. A ecotoxicologia vêm contribuindo para que a gestão dos recursos hídricos possa ocorrer de forma a garantir ações profiláticas que evitem algum impacto antropogênico.

Ações cooperadas entre o poder público e iniciativa privada e a academia podem ser promissoras na inclusão de novas tecnologias que possam ser aplicadas na avaliação e controle ambiental. Os biomarcadores junto aos tradicionais testes ecotoxicológicos são grandes aliados a esta nova perspectiva de ação.

Novas coletas devem ser realizadas em peixes da lagoa Imboassica para que o acompanhamento destes biomarcadores (Acetilcolinesterase e micronúcleo), além de outros não utilizados neste estudo, para que possam auxiliar as ações dos gestores locais e regionais responsáveis pela avaliação, controle e gestão do manancial.

REFERÊNCIAS

- DIAS, R. S. A formação de uma aglomeração industrial em Macaé, RJ: uma caracterização da espacialidade da indústria petrolífera e seus impactos no espaço urbano macaense e sua região de entorno. (Monografia) CEFET/Campos. Campos dos Goytacazes, 115p. 2005
- FEEMA. Diagnostico da qualidade da água da lagoa Imboassica. DEP-DIAG, Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente, Rio de Janeiro. 1989
- KJERFVE, B.; MAGILL, K. E. Geographic and hydrodynamic characteristics of shallow coastal lagoons, *Marine Geology*, v. 88, p. 187-199. 1989.
- LOPES-FERREIRA, C. Redução das concentrações de nitrogênio e fósforo dos efluentes domésticos lançados na Lagoa Imboassica, através de uma região colonizada por macrófitas aquáticas. In: ESTEVES, F. A. *Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do município de Macaé (RJ)*. Rio de Janeiro, 464p. 1998.
- PESSANHA, C. M. D. Modelagem computacional aplicada à gestão sanitário-ambiental da lagoa Imboassica-RJ. (Dissertação) Instituto Federal Fluminense, Macaé. 2012

APÊNDICES

APÊNDICE A

1 Situação geral

O presente relatório visa apresentar dados gerados pela licenciada em sociologia e especialista em planejamento em gestão social Joelma Vieira Peres e o biólogo Rodolfo S. Coutinho Coimbra entre os anos de 2011 e 2012 visando levantar os usos múltiplos ainda persistentes na Lagoa Imboassica com base em questionários *in loco* com pescadores no entorno deste corpo hídrico.

2 Metodologia

O projeto teve início no mês de abril de 2011 e término em abril de 2012. Com o objetivo de avaliar o potencial turístico e comercial da prática de pesca na Lagoa Imboassica, situada no Município de Macaé-RJ. Para tanto foi elaborado um questionário semiestruturado, cujo primeiro bloco visou caracterizar o perfil do pescador artesanal e o segundo bloco, caracterizarem a pesca na Lagoa Imboassica.

A frequência de aplicação dos questionários foi diária, aos pescadores que por ventura fossem encontrados na rota de monitoramento no entorno da lagoa, visto que a Secretaria de Ambiente realiza monitoramento diário do nível espelho d'água. Durante as entrevistas, foram feitos registros fotográficos com auxílio de máquina fotográfica, para auxiliar visualmente na compreensão de conceitos complexos.

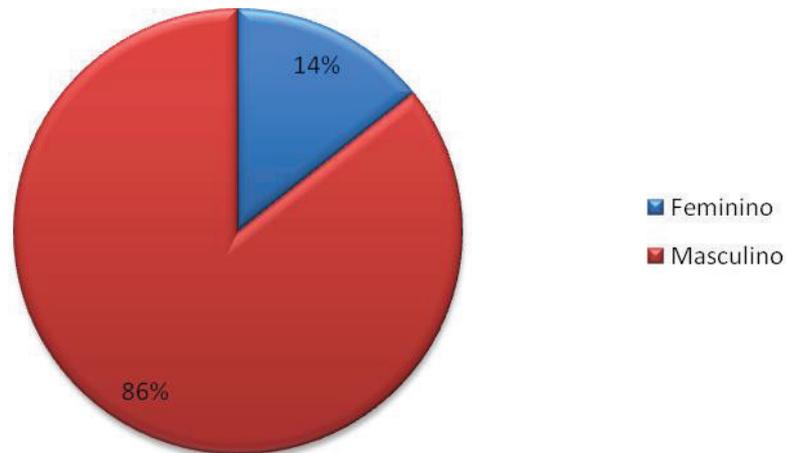
As entrevistas muitas das vezes eram feitas dentro da lagoa, durante a pesca, portanto a Lagoa foi percorrida com auxílio de um barco equipado com motor, o pescador Jorge Barcellos (Tio Jorge) auxiliou utilizando seu barco e nos orientou de como tratar os pescadores para que pudessem ser solícitos em nossos questionamentos.

3 Resultados

3.1 Perfil do Pescador Artesanal da Lagoa Imboassica

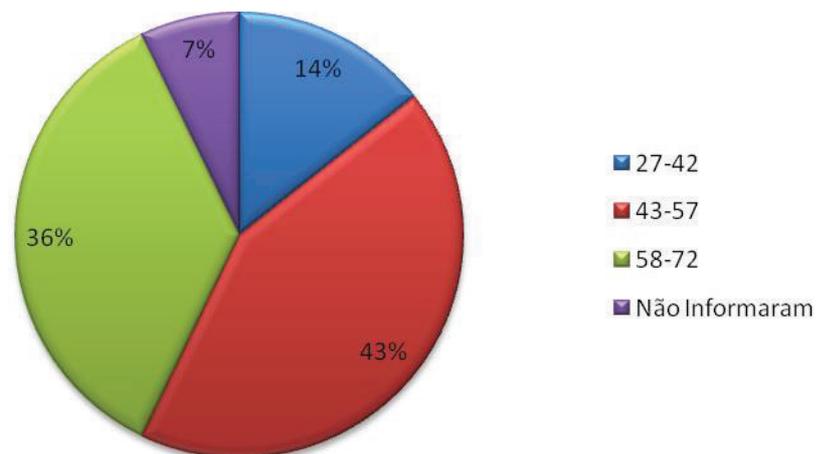
Neste bloco os entrevistados foram questionados quanto ao sexo, idade, escolaridade e endereço de residencial.

Quanto ao gênero dos pescadores pode-se observar uma predominância do sexo masculino em relação ao feminino visto que 86% dos entrevistados eram homens como observado no quadro 1 .



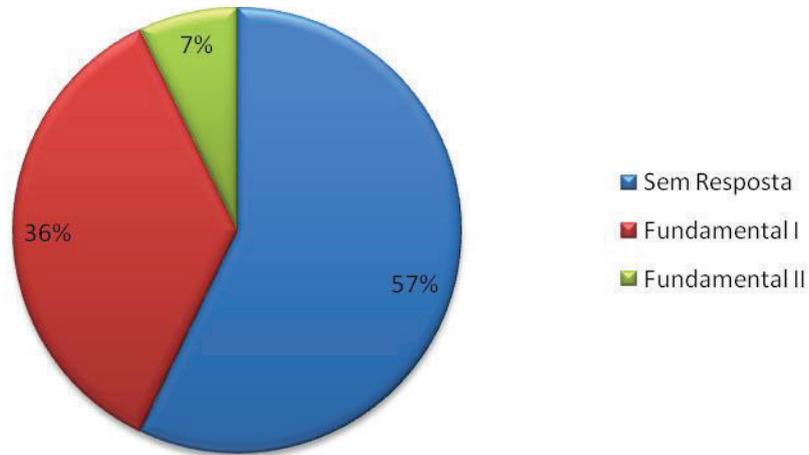
Quadro 1. Distribuição dos gêneros de pescadores entrevistados na Lagoa Imboassica

Em relação à idade dos entrevistados podemos observar uma frequência maior da classe entre os 43 e 57 anos de idade. Os resultados apresentados podem sugerir para a primeira classe, que corresponde os entrevistados entre 27 e 42 anos de idade que a prática da pesca neste ecossistema pode estar comprometida no que tange a tradição da pesca artesanal.



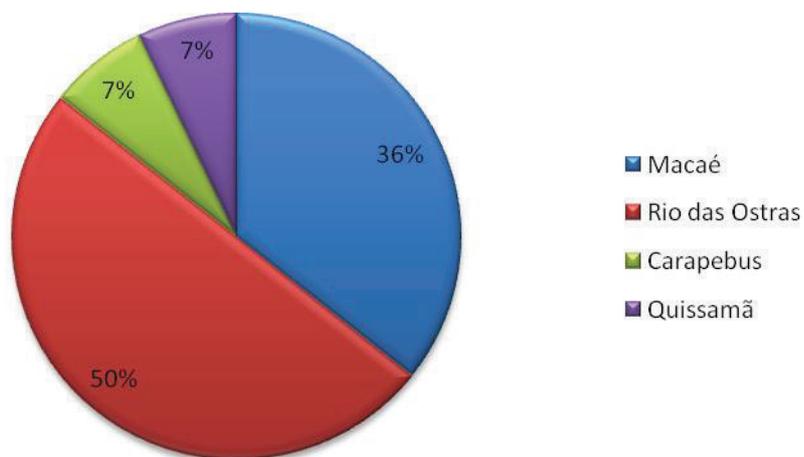
Quadro 2. Classes de idades encontrados no levantamento com pescadores na Lagoa Imboassica

Quanto à escolaridade somente foram encontrados pescadores com formação nos níveis fundamentais I e II como visto no quadro 3.



Quadro 3. Níveis de escolaridades encontrados com pescadores a Lagoa Imboassica

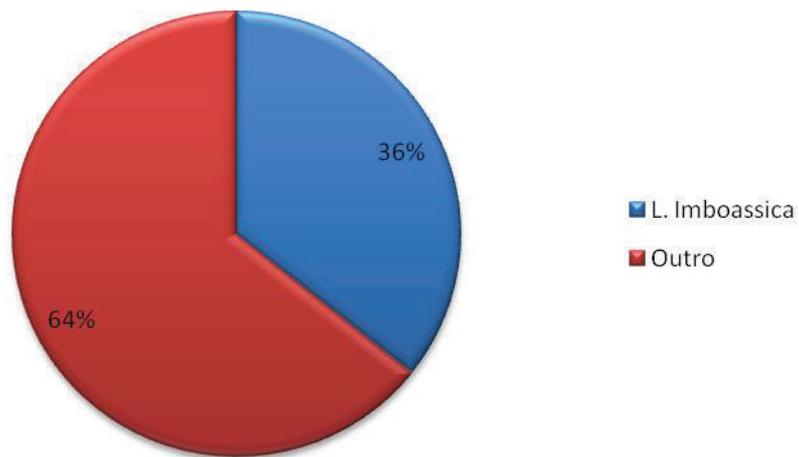
Quando questionados quanto à cidade de domicílio o perfil dos entrevistados é bastante diverso. O quadro 4 mostra os diversos municípios em que residem os pescadores abordados. O interessante a ser ressaltado é a presença maciça de pescadores do município de Rio das Ostras onde o entorno da lagoa está mais preservada.



Quadro 4. Gráfico de municípios onde os pescadores possuem residência

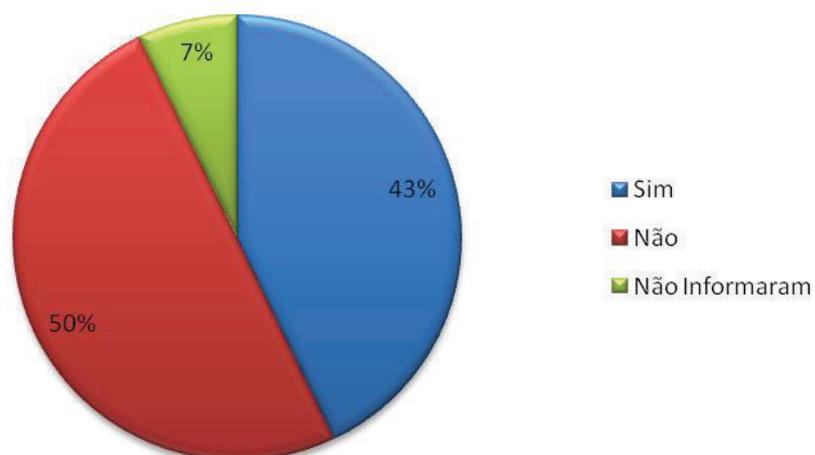
3.2 Caracterização da Pesca na Lagoa Imboassica

Quando questionados em relação ao local preferencial de pesca a maioria apontou que preferem atuar em outras lagoas como as do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba a freqüentar a Lagoa Imboassica. O quadro 5 mostra que somente 36% dos pescadores dão preferência a Lagoa Imboassica.



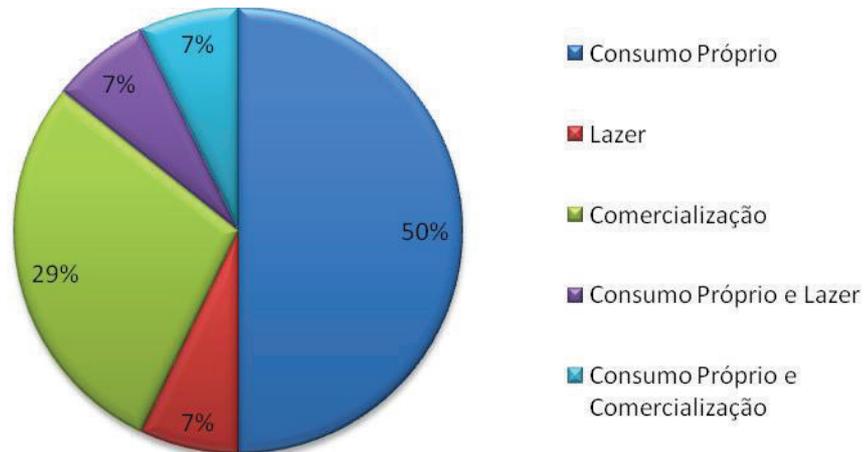
Quadro 5. Local preferencial de pesca dos entrevistados na Lagoa Imboassica

Os pescadores foram questionados se possuíam embarcação própria para atividade de pesca na lagoa no quadro 6 é possível observar que metade dos entrevistados as possui, entretanto o restante dos entrevistados não há possuem ou não opinaram.



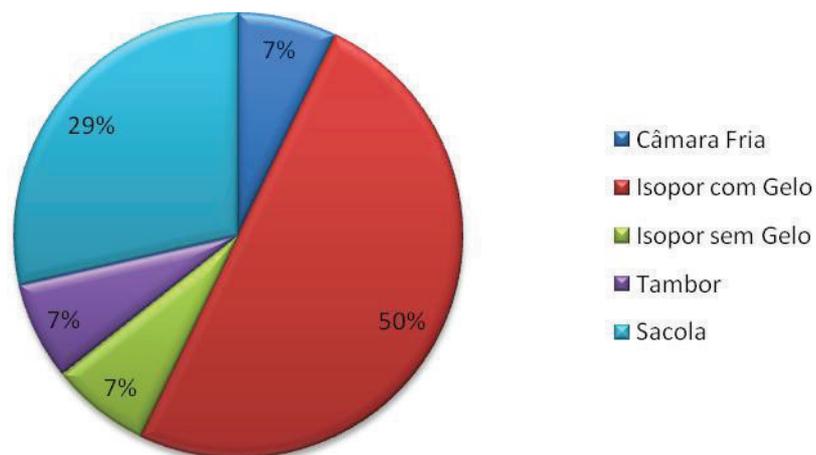
Quadro 6. Quantitativo de pescadores com embarcação própria

Nesta pesquisa, quando questionados ao destino final do pescado, os entrevistados apresentaram uma vasta opção de usos para este produto, seja ele para comércio lazer ou em sua maioria para consumo próprio, como visto no quadro 7.



Quadro 7. Gráfico de usos e destino final do pescado na Lagoa Imboassica

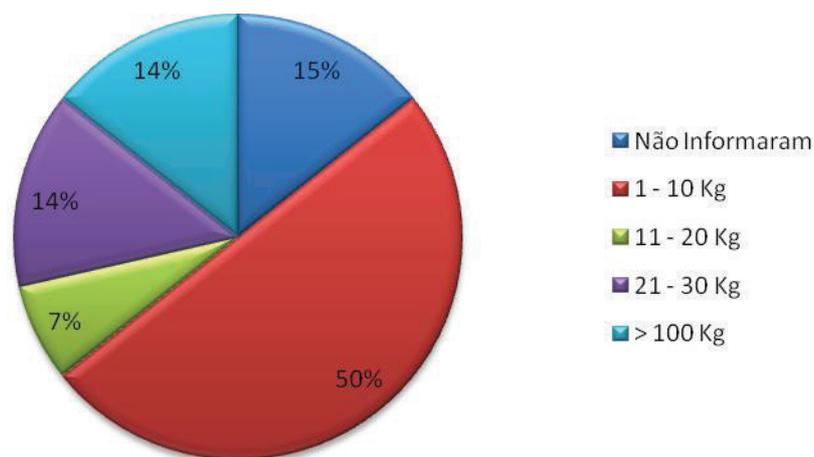
Em relação ao método de armazenamento, fica claro que apesar de uma porcentagem utilizar o pescado para comercialização o armazenamento deste ainda é feito na sua maioria por métodos convencionais e baratos.



Quadro 8. Métodos de armazenamento do pescado na Lagoa Imboassica

Quando questionados quanto à quantidade aproximada de pescado retirado da lagoa, pode-se observar que 50% dos entrevistados retiram em torno de 1 a 10 kg diariamente, entretanto foi possível observar alguns entrevistados que retiram até 100 kg, estes na sua maioria são aqueles que são de municípios vizinhos e somente utilizam o pescado para comercialização.

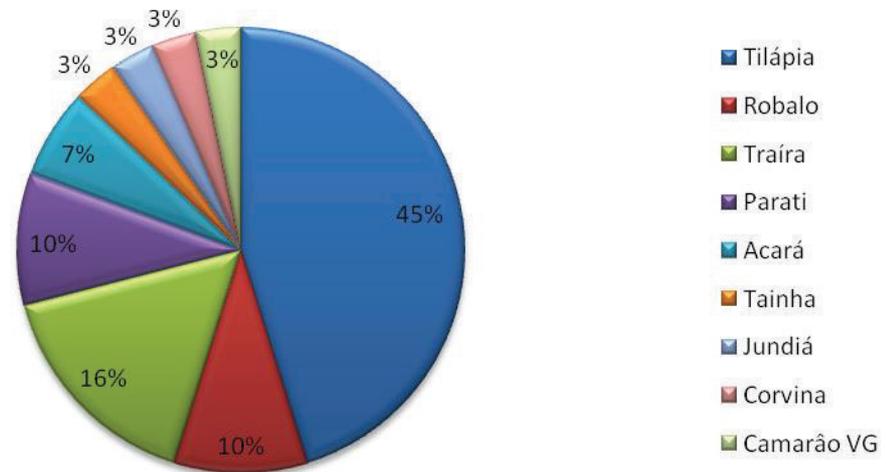
É interessante ressaltar aqueles que não demonstram interesse em informar a quantidade de peixe retirada diariamente. Isto se deve ao simples fato de não haver como mensurar este dado e muitas vezes por costume, como apontado por um dos entrevistados, já que se houver especulação de uma lagoa muito produtiva isto poderia atrair pescadores de outros locais e aumentar a competitividade pelas zonas de pesca.



Quadro 9. Quantidade de pescado retirado diariamente na Lagoa Imboassica

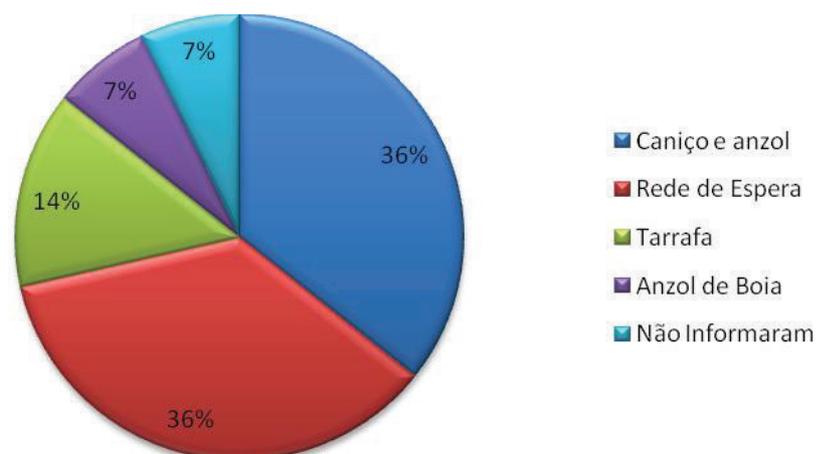
Uma das perguntas era relacionada à qual tipo de peixe é mais retirado na lagoa, entretanto como apontados pelos pescadores não há como haver esta definição, pois a diversidade de espécies é muito alta e ainda a pesca de um dia nunca será igual ao do dia anterior.

Desta forma houve mais de uma resposta, porém o primeiro peixe citado era sempre o que na opinião de cada um deles havia em maior quantidade. No quadro são apresentadas as respostas compiladas apontando que 45% dos pescadores acreditam que o organismo mais freqüente é a Tilápia, que não é uma espécie nativa, seguido pela traíra.



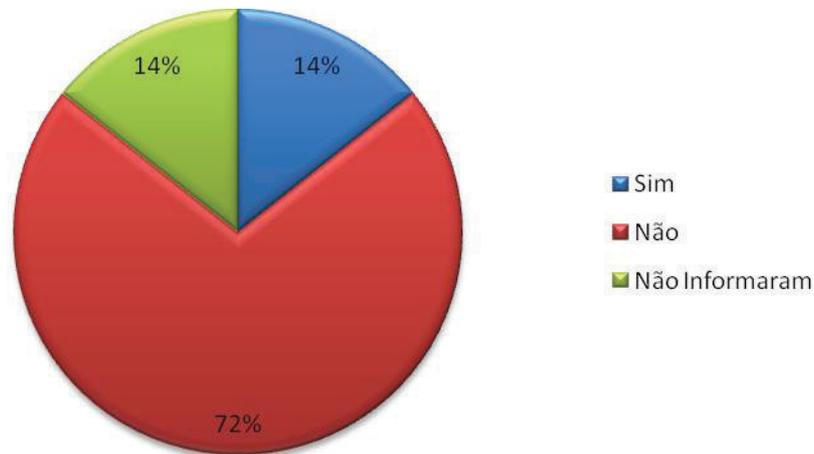
Quadro 10. Peixes com maior frequência de pesca na Lagoa Imboassica

Em relação às artes de pesca utilizadas neste ecossistema foi possível encontrar 36% dos pescadores utilizando caniço e anzol e outros 36% que utilizam a rede de espera como preferencial. Foi possível ainda encontrar pescadores que utilizam tarrafas e anzol de boia como visto no quadro 11.



Quadro 11. Artes de pesca utilizadas por pescadores na Lagoa Imboassica

Quanto à vinculação dos entrevistados a algum tipo de associação de pescadores o resultado mostrado no quadro abaixo identifica que grande parte não está associado, e como também apontado por alguns destes não há vantagens neste tipo de associação.



Quadro 12. Quantitativo de pescadores que atuam na Lagoa Imboassica filiados a associação de pescadores

Também foram elaboradas duas perguntas em relação à legislação de pesca a primeira deles se referia ao período de defeso do pescado que ocorre entre os meses de novembro e fevereiro, neste caso 92% informou que respeitava. Já em relação a uma resolução municipal deliberada pelo Conselho Municipal de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do município de Macaé, que dispõe sobre normas e critérios para a realização da atividade de pesca nesta lagoa, todos os entrevistados apontaram o não conhecimento da mesma.

4 Conclusão

Neste breve relato sobre a situação da cadeia pesqueira na lagoa Imboassica no município de Macaé foi possível observar algumas características peculiares com base em questionários aplicados aos pescadores no entorno deste corpo hídrico, que vem sendo fonte de debates por diversas décadas.

Estes debates e conflitos são gerados a partir dos problemas ambientais que são fruto do desenvolvimento acelerado do município em relação ao demais no seu entorno, assim como pela inércia dos poderes públicos e muitas vezes pela falta de conscientização da população acerca da real importância de manter íntegro este ecossistema.

Atualmente a pesca vem sendo alvo dos debates no que tange a capacidade desta lagoa em sustentar uma pesca predatória sem limites, visto que não há como visto no levantamento uma população tradicional que utilize este pescado para seu sustento e ainda um associação de pescadores que coíba a pesca desenfreada por praticantes sem limites.

A qualidade deste pescado também por vezes é questionada tendo em vista os diversos lançamentos de esgoto *in natura* e pela quantidade de empresas situadas no seu entorno que atuam no ramo de produção do petróleo.

Portanto, o estudo de medidas mitigadoras tanto pelo poder público assim como pelos pesquisadores para que este corpo hídrico não venha a ser fonte de mais um desastre que venha a comprometer a saúde pública da população, devem ser tratados como prioridade. Isto se deve não só pela necessidade de manter íntegra a saúde da população em geral, mas também contribuir com a conservação de um ecossistema que tem sido vítima da degradação causada pelo homem.

APÊNDICE B

Carta-Imagem de Lançamentos de Efluentes na Lagoa de Imboassica, Macaé-RJ

