

UTILIZAÇÃO DE BIOINDICADORES COMO ALTERNATIVA PARA AVALIAR O IMPACTO AMBIENTAL CAUSADO AO RIACHO CAVOUÇO- CAMPUS DA UFPE

Ana Vitória Araújo Lima¹; Maria Betânia Melo de Oliveira²

¹Estudante do Curso de Biomedicina-CCB-UFPE; ana.vitorialima@hotmail.com

²Docente/pesquisador do Depto de Bioquímica-CCB-UFPE; maria.bmoliveira@ufpe.br

SUMÁRIO: O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do descarte inadequado de efluentes laboratoriais no riacho Cavouço, utilizando a espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) como bioindicador, a partir do perfil da acetilcolinesterases. Foram realizados experimentos para verificar a presença desta enzima e sua avaliação físico-química. As análises foram descritivas do tipo caso-controle utilizando espécimes coletados no riacho Cavouço e como controle coletados na Base de Piscicultura Johei Koike, (UFRPE). Foi possível verificar que a atividade enzimática da acetilcolinesterase foi afetada consideravelmente nos espécimes do Cavouço, comparado ao controle. Na inibição por íons observou-se que, todos os íons apresentaram atividade inibitória em todas as concentrações utilizadas em ambos os grupos. O pH ótimo, foi de 8 e a temperatura ótima de 35°C para ambos os grupos não havendo diferenças quanto às propriedades físico-químicas. Os resultados demonstram que essa enzima pode ser um biomarcador enzimático para auxiliar no monitoramento do impacto ambiental causado nesse riacho. Contudo, pode-se afirmar que o ecossistema do Cavouço encontra-se impactado em nível bioquímico e com conseqüências ainda desconhecidas para as espécies que o habitam. Um Programa de Gerenciamento de Resíduos (PGR) é essencial para a destinação correta dos resíduos que atualmente são lançados nesse ambiente.

Palavras-chave: ambiente; enzimas; resíduos.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da sociedade e a expansão tecnológica, aliados à falta de fiscalização pelos órgãos responsáveis, geram o descarte inadequado de rejeitos químicos altamente diversificados no meio ambiente. Em função de a água ter a capacidade de dissolver diversas substâncias, os ambientes aquáticos têm sido utilizados como meio de descarte para vários produtos, resultando em uma diminuição ou perda da biodiversidade aquática, além de desequilíbrios a fauna, flora e aos ciclos biogeoquímicos (FREITAS, et al., 2011). Atualmente, uma urgência maior tem sido dada ao desenvolvimento de técnicas diagnósticas e prognósticas que sejam economicamente viáveis, bem como informativas e efetivas. As substâncias conhecidas como biomarcadores surgem como uma alternativa (COIMBRA et al., 2013). As enzimas representam papel importante, pelo alto grau de especificidade e rapidez na resposta às alterações pertinentes às substâncias-alvo. O uso de enzimas como biomarcadores baseia-se na interferência inibitória ou indutora, causada pelas substâncias-alvo, em sua atividade catalítica (ASSIS et al., 2011).

Nesse contexto, o grupo NuBIOMA (Núcleo de Biossegurança e Meio Ambiente) da UFPE, realizou anteriormente um levantamento quantitativo e qualitativo dos resíduos químicos gerados no *Campus* da UFPE, e constatou que mais de 80% dos laboratórios descartam seus resíduos químicos no riacho Cavouço.

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a influencia dos resíduos químicos descartados inadequadamente nesse ambiente utilizando como bioindicador a espécie

Tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foi dada ênfase à enzima acetilcolinesterase cerebral, uma vez que corresponde a uma categoria enzimática amplamente utilizada como biomarcador. A presença destas enzimas, bem como seu comportamento mediante diferentes condições, como variação de temperatura e pH, além da sua comparação com o grupo controle, fornecerá subsídios para um melhor conhecimento das alterações fisiológicas no perfil enzimático desta espécie quando submetida a um ambiente supostamente impactado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Exemplares juvenis foram coletados na nascente do riacho Cavouco e os espécimes considerados como controle, foram coletados na Base de Piscicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pesados, medidos e dissecados para separação dos órgãos de interesse. Os extratos foram obtidos segundo a metodologia de Bocquene et al., 2009. A concentração da proteína do extrato bruto foi determinada segundo metodologia de Bradford (1976). A determinação da acetilcolinesterase foi realizada de acordo como a metodologia de Ellman et al., 1961. Posteriormente foram avaliados o efeito dos íons $ZnCl_2$, $CuCl_2$, $CdCl_2$, Arsênio, $AlCl_3$, $MgSO_4$ e $MnCl_2$, nas concentrações de 0,001; 0,01; 0,1; 1 e 10mM. O pH ótimo e a temperatura ótima foram em uma faixa de pH que variou de 4,0 - 9,0 utilizando os tampões: citrato-fosfato (4,0 - 7,5) e Tris-HCl (7,2 - 9,0) e temperaturas de 25 a 80°C. A estabilidade térmica foi determinada submetendo a enzima às mesmas temperaturas durante 30 min e, depois de 15 min a 25°C.

RESULTADOS

Figura 1 Atividade específica de acetilcolinesterase utilizando-se o substrato acetilcolina.

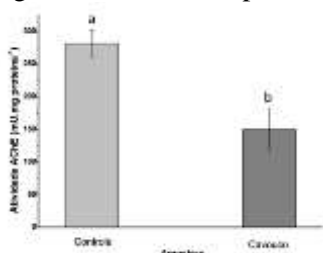
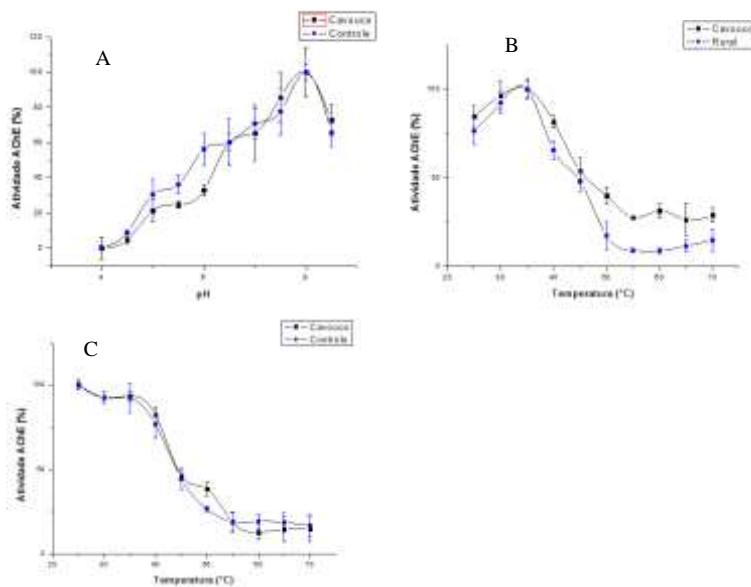


Tabela 1 Efeito de íons sobre a atividade enzimática da acetilcolinesterase

Concentração	Atividade Residual (%)							
	Controle	$AlCl_3$	$MgSO_4$	$MnCl_2$	$ZnCl_2$	$CuCl_2$	$CdCl_2$	Arsênio
10Mm								
Cavouco	100,00	86,5	68,5	82,7	75,7	49,1	27,6	7,3
Controle	100,00	88,2	90,0	80,5	76,2	40,2	25,0	8,7
1mM								
Cavouco	100,00	85,9	86,5	93,2	77,1	68,3	43,8	18,4
Controle	100,00	94,6	95,7	81,1	80,0	56,7	60,9	32,6
0,1mM								
Cavouco	100,0	96,7	86,2	95,8	73,3	85,2	68,2	23,1
Controle	100,0	102,8	93,0	78,6	86,4	62,8	67,6	34,7
0,01 mM								
Cavouco	100,0	91,7	92,2	94,9	91,9	83,8	94,3	44,3
Controle	100,0	104,4	92,0	98,0	81,7	81,6	83,5	43,0
0,001 mM								
Cavouco	100,0	105,3	91,7	96,3	94,7	87,6	83,2	42,7
Controle	100,0	92,9	91,2	94,2	82,7	89,0	85,5	71,9

Figura 2 Verificação da atividade enzimática em diferentes condições provenientes do riacho Cavouco e Controle: pH (A) Temperatura ótima (B) e Estabilidade Térmica (C).



DISCUSSÃO

A presença de agentes anticolinesterásicos (como organofosforados, carbamatos ou metais pesados) nas águas do riacho do Cavouco ficou evidenciada com o uso de substrato específico como se pode observar na figura 1. Na qual a atividade específica da AChE, nas amostras de cérebro de tilápias provenientes do riacho Cavouco (150,20 mU.mg de proteína⁻¹), apresentou decréscimo significativo em relação às amostras controle (281,64 mU.mg de proteína⁻¹): diminuição de 46,66%. Estes resultados indicam contaminação no riacho Cavouco por agentes anticolinesterásicos, demonstrados pela redução significativa.

Dos sete íons avaliados no presente trabalho, todos apresentaram efeito inibitório na concentração de 1mM, uma concentração considerada elevada para amostras ambientais não associadas a mineração ou empresas industriais (ASSIS et al, 2011). A acetilcolinesterase apresentou sensibilidade relativamente baixa ao íon CuCl₂ (Inibição ≥ 50% em 1mM), em relação a outras espécies como a *Aeapaima giga* (23%), *Colossoma macropomum* (35%), *Rachycentron canadu* (23%), *Electrophorus electricus* (78%) e *Cichla ocellaris* (53%) (ASSIS, 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2013).

O pH ótimo e a temperatura ótima encontrados foram de 8,0 e 35°C para ambas as populações. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores em outras espécies de peixes como o *Pleuronectes platessa* (8,5 e 33°C), *Cichla ocellaris*, *Colossoma macropomum* (8,0 e 45°C) (SILVA et al., 2013; ASSIS et al., 2010; BOCQNE et al., 1990). Em relação a termoestabilidade a enzima se manteve estável até a temperatura de 40°C, apresentando menos de 40% de atividade residual na temperatura de 50°C em ambas as espécimes.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam contaminação no riacho Cavouco por agentes anticolinesterásicos, uma vez a atividade desta enzima dos peixes coletados neste riacho apresentou uma redução significativa em relação ao controle. As investigações são preliminares, mas indicam a necessidade da continuidade nos experimentos planejados e o envolvimento de outras espécies. Ademais, conclui-se que os dados obtidos, apesar de saer em um baixo nível de organização biológica tem o potencial de antecipar efeitos em níveis superiores (populações, comunidades e ecossistemas), servindo como um alerta de

contaminação química neste ecossistema. Dessa forma, torna-se essencial um programa de Gerenciamento de Resíduos (PGR), para a destinação correta dos efluentes e resíduos que atualmente são lançados no riacho. A continuação do monitoramento, juntamente com a investigação e neutralização das causas da poluição, pode fornecer elementos para a gestão do controle ambiental neste ecossistema.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq (bolsa e auxílio financeiro); a professora Maria Betânia Melo de Oliveira por sua dedicação e pelos sábios conhecimentos transmitidos; a co-orientadora Marlyete Chagas de Araújo pela paciência e atenção; a UFPE e ao Laboratório de Enzimologia (LABENZ) pela infraestrutura adequada para a realização dos trabalhos.

REFERÊNCIAS

- Assis, C.R.D., Castro, P.F., Amaral, I.P.G., Maciel Carvalho, E.V.M., Carvalho Jr., L.B., Bezerra, R.S., 2010. **Characterization of acetylcholinesterase from the brain of the Amazonian tambaqui (*Colossoma macropomum*) and in vitro effect of organophosphorus and carbamate pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29, 2243–2248.**
- Assis, C.R.D., Bezerra, R.S., Carvalho Jr., L.B., 2011. **Fish cholinesterases as biomarkers of organophosphorus and carbamate pesticides.** In: Stoytcheva, M. (Ed.), *Pesticides in Modern World – Book 5*. Intech, Rijeka, Croatia.
- BOCQUENE G. , GALGANI F. , TRUQUET P. 1990. **Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring.** *Mar Environ Res* 30:75–89.
- BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding.** *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248–254.
- Bocquené, G., Galgani, F., Truquet, P., 1990. **Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring.** *Marine Environmental Research* 30, 75–89.
- Coimbra, R.S.C.; Santos, C.R.S.; Saraiva, V.B.; Oliveira, M.M. 2013. **Biomarcadores como ferramentas na avaliação da qualidade do pescado contaminado com metais traço.** *Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego, Campos dos Goytacazes/RJ*, v. 7 n. 1, p. 153-172.
- ELLMAN GL, COURTNEY KD, ANDRES J, FEATHERSTONE RM, 1961. **A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.** *Biochem Pharmacol* 7:88–90.40
- Oliveira, V. M.; Assis, C. R. D.; Silva, R. P. F.; Bezerra, R. S. **Efeitos do FeCl₂ e CuCl₂ na atividade da acetilcolinesterase cerebral de *Oreochromis niloticus*.** *Natural Resources, Aquidabã*, v.2, n.2, p.27-36, 2012.
- Silva, K.C.C.; Assis, C. R. D.; Oliveira, V. M.; Carvalho JR, L. B.; Bezerra, R. S. **Kinetic and physicochemical properties of brain acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect of pesticides and metal ions.** *Aquatic Toxicology, Amsterdã*, v. 126, p. 191-197, jan. 2013.