

ALTERAÇÕES NUCLEARES ERITROCÍTICAS E HEMOPARASITOS COMO BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO EM LAGO LACUSTRE DA AMAZÔNIA ORIENTAL

Itallo Cristian da Silva de OLIVEIRA¹, Natália Jovita PEREIRA², Gabriel Silva Dias¹, Margareth Marques dos SANTOS², Ingrid Caroline Moreira Lima, Débora Martins Silva SANTOS⁴

1 Universidade Estadual do Maranhão – UEMA Campus Paulo VI; itallo_cristian@hotmail.com;

2 Universidade Estadual do Maranhão – UEMA Campus Paulo VI; natalia.jovita@hotmail.com

3 Universidade Estadual do Maranhão – UEMA. Campus Paulo VI. Dias_gabriel@outlook.com.br

4 Universidade Estadual do Maranhão – UEMA Campus Paulo VI. Margarethms23@gmail.com

5 Universidade Estadual do Maranhão – UEMA Campus Paulo VI. Deborasantos@professor.uema.br

Palavras-chave: Alterações nucleares, microbiologia, hemoparasitos

Introdução

O município de Conceição do Lago-Açu, Maranhão, tem economia baseada na atividade pesqueira realizada no Lago Açu, o maior corpo hídrico do local. Mesmo esse ele inserido em uma Área de Proteção, não apresenta programas de biomonitoramento sistemático. O Teste do Micronúcleo avalia lesões nos cromossomos, uma vez que enzimas que se relacionam com estresses oxidativos estão envolvidas no metabolismo de espécies reativas que geram modificações celulares, inclusive no material genético dos organismos [1, 2]. O presente estudo objetivou avaliar os impactos ambientais no ecossistema lacustre Lago Açu a partir de biomarcadores genotóxicos com a aplicação do Teste do Micronúcleo em espécies de peixes nativas, quantificar hemoparasitos dos peixes e analisar a qualidade microbiológica e físico-química da água, a fim de contribuir com ações de biomonitoramento aquático no município.

Material e Métodos

Foram realizadas duas coletas no período de estiagem, em três pontos do Lago Açu (S1, S2 e S3). As amostras de água foram analisadas através da técnica de identificação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* utilizando o teste de Colilert e interpretadas segundo as Resoluções do CONAMA n° 357/2005 e n° 430/2011 [3, 4], e ainda foram aferidos *in situ* os parâmetros físico-químicos de temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e salinidade. Coletou-se um total de 55 espécimes de peixes, sendo espécies nativas do lago como: 25 *Prochilodus lacustris*, 15 *Hoplias malabaricus* e 15 *Psectrogaster amazonica*. Em seguida realizou-se a retirada do sangue, ainda em campo, através da técnica de punção branquial [5]. Após a retirada do sangue, foram confeccionadas lâminas de esfregaço, que

secaram em temperatura ambiente durante 24 horas para serem coradas em Rosenfeld modificado [5].

Analisou-se 4.000 eritrócitos de peixes para contagem de Micronúcleo (MN), Alterações Nucleares Eritrocíticas (ANE) e de hemoparasitos, onde estes foram classificados morfológicamente segundo [6]. Os dados foram submetidos aos Testes de Normalidade Shapiro-Wilk e de Homogeneidade Levene. Atendido os pressupostos de normalidade ($p \geq 0,05$), as frequências foram comparadas por espécie através do Teste t. Para os dados que não atenderam aos pressupostos ($p \leq 0,05$), foi aplicado o teste não paramétrico ANOVA Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). Todas essas análises estatísticas foram realizadas no Statistica 7.1.30.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises microbiológicas da água das coletas do período de estiagem apresentaram valores acima do permitido para *E. coli* e coliformes totais no ponto S1 [3, 4]. Os pontos S2 e S3 tiveram presença de coliformes totais acima do permitido. Quanto aos parâmetros abióticos temperatura, pH, condutividade e salinidade apresentaram diferenças estatísticas (Kruskal Wallis $p \leq 0,05$) entre as coletas realizadas no período de estiagem. Todas as amostras de água coletadas apresentaram a presença de coliformes totais e *E. coli*. A avaliação da qualidade da água através da concentração de bactérias constitui um bom indicador da existência de microrganismos entéricos patogênicos, provenientes de esgotos, fezes humanas e/ou de animais de sangue quente. Assim, os altos índices de número mais provável de coliformes totais e presença de *E. coli* encontrados podem ser justificados pelo lançamento de efluentes domésticos no Lago, uma vez que só há 2,4% de saneamento adequado no município.

Micronúcleos (MN) e outras anormalidades nucleares eritrocitárias (ANE) foram encontrados nos eritrócitos das espécies *P. lacustris*, *H. malabaricus* e *P. amazonica* coletadas no Lago Açu. Os MN e ANE observadas nos peixes indicam a presença de contaminantes genotóxicos no lago Açu, no qual o nível de dano depende do tempo de exposição dos peixes e do nível trófico que ocupa na cadeia [7]. A formação de alterações nucleares nos eritrócitos de peixes causadas por agentes tóxicos, além de causar danos no material genético cromossômico, que podem ser transmitidos às próximas gerações, podem ainda comprometer a oxigenação dos tecidos, uma vez que os eritrócitos transportam os gases respiratórios [5]. Foram observadas frequências de MN e ANE nas

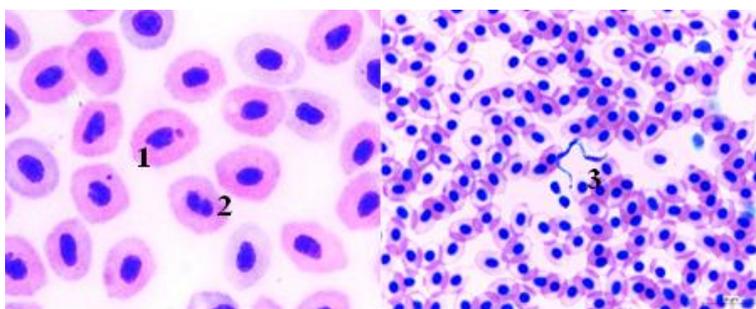
espécies de peixes coletadas no Lago Açu que podem ser prejudiciais à sobrevivência dos peixes (Tabela 1).

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão de Micronúcleos e anormalidades nucleares eritrocitárias observados em peixes coletados no Lago Açu, Maranhão, Brasil.

Coletas		Micronúcleo	Entalhado	Lobulado	Segmentado	Binucleado
Outubro/ 2019	<i>Prochilodus lacustris</i>	17,3 \pm 10,06	18,4 \pm 11,22	13,7 \pm 10,7	13,3 \pm 10,70	8,5 \pm 5,3
	<i>Hoplias malabaricus</i>	6,5 \pm 4,43	75 \pm 20,23	24 \pm 8,7	48,5 \pm 37,35	14,5 \pm 8,6
	<i>Psectrogaster amazonica</i>	12,4 \pm 2,6	6 \pm 3,1	4,4 \pm 2,6	9,6 \pm 5,17	12,8 \pm 4,60
Novembro/ 2019	<i>Prochilodus lacustris</i>	12,33 \pm 5,31	29,4 \pm 16,91	18 \pm 12,56	16,86 \pm 17,92	25,6 \pm 14,12
	<i>Hoplias malabaricus</i>	13 \pm 11	122,66 \pm 14,18	74 \pm 44,13	16,66 \pm 11,71	12,66 \pm 3,05
	<i>Psectrogaster amazonica</i>	21 \pm 11,39	16,6 \pm 6,75	13,5 \pm 7,56	27,2 \pm 9,63	27,2 \pm 9,6

Autores relataram que a frequência de ANE geralmente é maior do que a frequência de MN e sugeriram que as ANE são respostas primárias que antecedem a formação dos micronúcleos. Quando comparadas as frequências de ANE entre as espécies coletadas, anormalidades dos tipos Entalhado e Segmentado apresentaram diferença estatística significativa de *P. lacustris* e *P. amazonica* com *H. malabaricus* (ANOVA Kruskal-Wallis $p < 0,05$). Para Lobulado também foi observada diferença estatística, mas somente entre *P. amazonica* e *H. malabaricus* (ANOVA Kruskal-Wallis $p < 0,05$). Dessa forma as espécies biomonitoras respondem de formas diferentes fisiologicamente as expressões dos biomarcadores genotóxicos, fazendo com que eles tenham variações funcionais em resposta a estresses ambientais.

Figura 1- Micronúcleos (1), anormalidades nucleares eritrocitárias (2) e Hemoparasitos (3) observados em peixes coletados no Lago Açu, Maranhão, Brasil.



Foram encontrados hemoparasitos *Trypanosoma spp.* de Morfotipo 3 em 11% dos peixes e Morfotipo 4 em 89% das três espécies de peixes estudadas no Lago Açu. No Morfotipo 4, que foi o mais encontrado, os *Trypanosoma spp.* Apresentaram corpo alongado, extremidades mais estreitas, corpo mais retilíneo, o cinetoplastos bem visíveis

e corados. E os mesmos não apresentam flagelos livres bem nítidos [6]. Além de apresentarem o cinetoplastos mais próximo da extremidade posterior do que do núcleo.

Conclusões

Os resultados encontrados nas espécies sugerem maior sensibilidade a substâncias genotóxicas. A presença da fauna parasitaria pode ser indicadora das sanidades dos pescados. As espécies *P. amazônicas*, *P. lacustris* e *Hoplias malabaricus* demonstraram serem boas bioindicadoras, pois responderam com mecanismos de defesa contra os estresses causados. Dessa forma, vendo as tendências parasitárias, as análises da água e as altas taxas de anormalidades eritrocíticas percebeu-se a visível e elevada fragilidade ambiental comprometendo o funcionamento do ecossistema lacustre e interferindo na qualidade do ambiente estudado, nisso se faz o estudo de estratégias e logísticas de controle para a prevenção da poluição desse sistema hidrológico, contribuindo para o desenvolvimento pesqueiro do Lago contribuindo para a economia do Maranhão.

Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Estadual do Maranhão, ao PROCAD Amazônia pelo financiamento, a FAPEMA pela concessão da bolsa de pesquisa.

Referências

- [1] PEREIRA, C. H. J.. Avaliação da instabilidade genômica e do estresse oxidativo em agricultores expostos a agrotóxicos em um município do estado de Santa Catarina. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina 2017.
- [2] MARANHÃO. Decreto nº 11.900 de 11 de junho de 1991. Criação da Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense. Palácio do Governo do Estado do Maranhão, em São Luís, 11 de junho de 1991.
- [3] BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília: Diário Oficial da União, 2005.
- [4] BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Brasília: Diário Oficial da União, 2011.
- [5] RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: EdUEM; 135 p. 2013.
- [6] MOLINA, J. P.; MADI, R. R.; SOLFERINI, V. N.; CECCARELLI, P. S.; PINHEIRO, H. P.; UETA, M. T. Trypanosomatids (Protozoa: Kinetoplastida) in three species of Armored Catfish from Mogi-Guaçu river, Pirassununga, São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 2, p. 131-141, 2016.
- [7] BRITO, L. O.; LUZ, L. D. Avaliação e monitoramento da qualidade das águas: usando análises moleculares. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, v. 3, n. 2, p. 76-90, 2015.