



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

FABIANA FELIX DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL RELAÇÃO ENTRE A EUTROFIZAÇÃO CAUSADA
POR CIANOBACTÉRIAS E A PRESENÇA DE MICRONÚCLEOS EM PEIXES DA
ESPÉCIE *Oreochomis Niloticus* EM RESERVATÓRIOS URBANOS DE CAMPINA
GRANDE PB.**

CAMPINA GRANDE

2017

FABIANA FELIX DA SILVA

AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL RELAÇÃO ENTRE A EUTROFIZAÇÃO CAUSADA POR CIANOBACTÉRIAS E A PRESENÇA DE MICRONÚCLEOS EM PEIXES DA ESPÉCIE *Oreochomis Niloticus* EM RESERVATÓRIOS URBANOS DE CAMPINA GRANDE PB.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Graduação em Ciências Biológicas como requisito obrigatório para a conclusão do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Genética.

Orientador: Prof. Dr. Walclécio Morais Lira

CAMPINA GRANDE

2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do Trabalho de Conclusão de Curso.

S586a Silva, Fabiana Felix Da.
Avaliação da possível relação entre a eutrofização causada por cianobactérias e a presença de micronúcleos em peixes da espécie *Oreochomis Niloticus* em reservatórios urbanos de Campina Grande-PB [manuscrito] / Fabiana Felix da Silva. - 2017

25 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação : Prof. Dr. Walclécio Morais Lira ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Eutrofização. 2. Cianotoxinas. 3. Mutagenicidade. 4. Genotoxicidade.

21. ed. CDD 577.6

FABIANA FELIX DA SILVA

AValiação DA POSSÍVEL RElaÇÃO ENTRE A EUTROFIZaÇÃO CAUSADA POR CIANOBACTÉRIAS E A PRESENÇA DE MICRONÚCLEOS EM PEIXES DA ESPÉCIE *Oreochomis Niloticus* EM RESERVATÓRIOS URBANOS DE CAMPINA GRANDE PB.

Artigo apresentado ao Programa de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

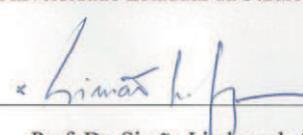
Área de concentração: Genética.

Aprovada em: 22/09/2017.

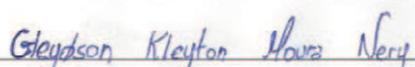
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Walclécio Morais Lira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Ms. Gleydson Kleyton Moura Nery
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico este trabalho aos meus pais (Fátima e Moisés), a todas as pessoas que me apoiaram em toda a minha trajetória. A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste, e em especial a um ente querido, ausente por decisão divina, mas que em vida foi um dos que mais me motivou e incentivou nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado, a força que divinamente tem conferido a mim, para conseguir alcançar meus objetivos, que mesmo longe da casa e do seio da família consegui lutar e vencer muitas batalhas. A minha família, que mesmo distante tem me apoiado, em especial a minha mãe, confidente e amiga, a quem admiro pela garra e coragem que sempre teve e pelos ensinamentos, como professora das séries iniciais e meu guia durante toda a minha trajetória. Aos meus amigos, companheiros de jornada sejam no trabalho ou na faculdade que contribuíram e muito com o meu desenvolvimento pessoal e profissional. São muitos a quem agradeço por todo apoio e cuidado para comigo. Aos mestres, que com sua vasta experiência transmitiram ao longo desses anos muitos ensinamentos e lições de vida. A Adara Sousa, que com muito esforço e boa vontade, ofereceu auxílio durante as coletas, bem como com indicação de literaturas para elaboração do trabalho. Ao orientador Walclécio Lira por todo apoio e compreensão da realidade ao qual estou exposta desde o início do projeto. A banca examinadora por ter aceitado o convite e também por todo o apoio e ensinamentos, Simão Lindoso, pelo excelente professor e mediador que é, e por todo conhecimento transmitido. Gleydson Moura por todo apoio, aporte literário e conhecimento compartilhado. Expresso todo o meu carinho e gratidão a todos os presentes e ausentes, mas que quando aqui estiveram, fizeram diferença em minha caminhada, e esta, por sua vez ainda com muitos sonhos a galgar, com muita força de vontade para ir à busca deles, com muito para agradecer por que até aqui o senhor nos ajudou. Pai, que sabe dos meus anseios e desejos do meu coração, confio nos teus propósitos e nos teus desígnios, a ti, meu muito obrigada por tudo!

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando a beira mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante dos meus olhos”. (Isaac Newton).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 MATERIAIS E METODOS	11
2.1 Campo de Estudo.....	11
2.2 Amostragem.....	12
2.3 Preparação de Lâminas e análise Citológica	12
2.4 Caracterização da comunidade fitoplanctônica	13
2.5 Teste Estatístico	13
3 RESULTADOS	14
3.1 Teste de Micronúcleo.....	14
3.2 Comunidade fitoplanctônica.....	14
4 DISCUSSÃO	17
5 CONCLUSÃO.....	20
6 REFERÊNCIAS.....	20

AValiação DA POSSÍVEL RElaÇÃO ENTRE A Eutrofização CAUSADA POR CIANOBActÉRIAS E A PRESENÇA DE MICRONÚCLEOS EM PEIXES DA ESPÉCIE *Oreochomis Niloticus* EM RESERVATÓRIOS URBANOS DE CAMPINA GRANDE PB.

Fabiana Felix da Silva¹

RESUMO:

A eutrofização em açudes do trópico semiárido tem tomado conotações dramáticas, sendo promovida pelo excesso de poluentes que afetam o funcionamento do ecossistema, favorecendo o desenvolvimento de Cianobactérias produtoras de toxinas que podem causar alterações em células de peixes que habitam esses reservatórios. O teste de micronúcleo, por ser um teste simples, rápido, de baixo custo tem sido amplamente utilizado para avaliar a possível genotoxicidade e/ou mutagênicidade em peixes de ambientes contaminados. Neste trabalho, foram realizadas avaliações biológicas por meio de indicadores da qualidade da água dos reservatórios urbanos de Campina grande-PB, Açude Velho e Açude de Bodocongó, identificando a comunidade fitoplanctônica, a fim de avaliar a possível relação entre a eutrofização causada por cianobactérias, e utilizando a espécie *Oreochromis niloticus*, para medir o número de micronúcleos. A metodologia utilizada para a captura dos peixes foi com uso de tarrafas, foi coletado sangue periférico destes para preparação de esfregaços em lâminas, que foram fixadas, coradas e posteriormente analisadas em teste cego. Para análise citológica foi utilizado microscópio óptico, com aumento de 1000x para contagem de 2000 eritrócitos por indivíduo. Para a comunidade fitoplanctônica, as amostras foram coletadas em garrafas de polietileno, fixadas com lugol e resfriadas durante transporte ao laboratório, às identificações das populações foram feitas em microscópio binocular com contraste de fase. Os resultados obtidos através do teste de micronúcleo na espécie *Oreochromis niloticus*, indicam que o açude de Bodocongó, embora não tendo apresentado diferença estatística, obteve maior número de micronúcleos quando comparado ao açude Velho. Para os resultados de Cianobactérias, Bodocongó também apresenta maior índice de produção de espécies da classe Cyanophyceae, o que confere um elevado grau de poluição. Desta forma, acredita se que a presença de uma alta abundância de Cianobactérias produtoras de toxinas pode favorecer o potencial mutagênico nos organismos estudados.

Palavras-Chave: Eutrofização, Cianotoxinas, Mutagenicidade.

¹ Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.
E-mail: fabiana.bio.silva@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Os reservatórios são ecossistemas modificados, construídos em resposta às demandas de crescimento econômico, com o intuito de múltiplos usos, tais como: abastecimentos domésticos, agricultura e pecuária. (TUNDISI, *et al.*, 2006). Sendo os reservatórios "atratores" de desenvolvimento econômico, estimulam a migração e promovem a reorganização geral dos sistemas regionais e locais. (TUNDISI *et al.*, 2008). Tornou-se comum o aumento populacional próximo a estes sistemas, sendo caracterizados pelo excesso de poluentes que afetam o funcionamento do ecossistema promovendo a homogeneização do habitat e reduzindo a diversidade de espécies (MORON *et al.*, 2006), o que favorece a adaptação de espécies mais resistentes.

Os reservatórios hídricos localizados na cidade de Campina grande na Paraíba, conhecidos como Açude Velho e Açude de Bodocongó, foram construídos partir das águas dos riachos que cortam a cidade, inicialmente para consumo humano e para viabilizar atividades econômicas, prensas hidráulicas, curtumes, fábricas têxteis e etc. Com o acelerado crescimento econômico e urbano do século XX, as demandas foram ampliadas, e os recursos hídricos da cidade não mais atendiam a suas necessidades de consumo. A solução veio com a construção de reservatórios localizados em bacias hidrográficas de outros municípios paraibanos, como por exemplo, o Açude Epitácio Pessoa, ou Boqueirão (década de 1950, município de Boqueirão). (BARROS, *et al.*, 2012). Os dois mananciais urbanos têm sofrido com o depósito de poluentes, provenientes da ação humana e da falta de tratamento de esgoto, contudo ainda conta com atividades pesqueiras, especialmente em Bodocongó onde a pesca é uma atividade praticada intensamente pela população local segundo, (GUEDES, *et al* 2011).

A eutrofização em açudes do trópico semiárido tem tomado conotações dramáticas, haja vista, ser bem estabelecidos, uma vez que os ecossistemas aquáticos dessa região fornecem vários habitats para uma ampla variedade de organismos desde grandes vertebrados, á invertebrados microscópicos (FARIAS, *et al.*, 2006). Em ambientes eutrofizados é comum às florações de Cianobactérias que apresentam alta afinidade por compostos de nitrogênio e de fósforo (DEBERDT, *et al.*, 2002). Intensas florações de cianobactérias são prolíficas em condições eutróficas (aumento de concentrações de nitrogênio e fósforo), essas florações afetam a qualidade da água ao mudar o PH, a transparência e a biodiversidade, produzindo odores e/ou Toxinas tais como cianotoxinas (VASCONCELOS, *et al.*, 2008). As florações de cianobactérias se caracterizam pelo intenso crescimento dos microrganismos na superfície da

água, formando uma densa camada de células com vários centímetros de profundidade. A capacidade de crescimento nos mais diferentes meios é uma das características marcantes das cianobactérias. (RIBEIRO, *et al.*, 2007)

O crescimento massivo desses organismos nos ecossistemas aquáticos continentais limita utilização daqueles ambientes como áreas de recreação e de abastecimento em razão do odor e gosto desagradáveis gerado pelas florações, aspecto repugnante e, nos casos de degradação da floração, anoxia da coluna da água. (MOLICA, *et al.*, 2009). O estudo de CHAVES, *et al.*, (2005), relata que atualmente são conhecidos cerca de 150 gêneros e 2.000 espécies de cianobactérias, dos quais aproximadamente 40 gêneros são descritos como produtores de cianotoxinas, o que torna o estudo da morfologia e fisiologia desses microrganismos extremamente importante.

Existe atualmente uma grande preocupação com o efeito das alterações antrópicas sobre os sistemas aquáticos e sua biota associada (VILLA, *et al.*, 2009). As comunidades de peixes são persistentes e se recuperam rapidamente dos distúrbios naturais, além de apresentar um amplo espectro de tolerância, sendo que cada espécie apresenta um padrão específico para cada tipo de alteração. Dados da história de vida, requisitos ambientais e distribuição da maioria das espécies são relativamente bem conhecidos. (VILLA, *et al.*, 2009). Os peixes se constituem em um dos modelos para monitoramento genotóxico aquático pela habilidade de metabolizar xenobióticos e, em alguns casos, apresentarem acúmulo de poluentes, (MORON, *et al.*, 2006).

Portanto, a necessidade de avaliação das condições cênicas/ambientais é necessária, para investigar os impactos causados pela diversidade de substâncias poluentes encontradas nesses ecossistemas, e devido ao fato dos peixes se constituírem indicadores biológicos, a *Oreochromis niloticus* foi selecionada para espécie teste, por apresentar algumas características que os tornaram modelo zootécnico da piscicultura nacional, tais como rápido crescimento corporal, alta rusticidade e tolerância às variações ambientais, bem como desenvolvimento larval simples. (ROCHA, *et al.*, 2006). Embora sendo uma espécie que foi introduzida no Brasil na década de 70, se destaca pela amplitude de sua distribuição geográfica, por sua abundância e importância sócio econômica para a região do semiárido brasileiro (ATTAYDE, *et al.*, 2007). Este peixe pertence à família dos Cilídeos de Ordem Perciformes, e trata se de uma espécie com grande capacidade de adaptação, resistência elevada a doenças, e atinge peso comercial em pequeno intervalo de tempo, por esta razão confere uma elevada aceitação no mercado consumidor, o que sem dúvida facilita

disponibilidade de indivíduos, tanto para piscicultura como para pesquisas científicas, por ser uma espécie já estabelecida no nordeste segundo, (ROCHA, *et al.*, 2006).

Apesar de várias agências como a ANA (Agência Nacional das Águas) e o PNQA (Programa Nacional de avaliação da Qualidade das Águas), entre outros órgãos, adotarem vários métodos para monitoramento e análise da qualidade das águas dos nossos mananciais e ambientes hídricos, não temos ainda testes biológicos envolvendo teste de micronúcleos na espécie *Oreochromis niloticus*, nos reservatórios de Bodocongó e açude Velho. Tendo em vista que esta espécie tem sido listada nos últimos tempos como bons bioindicadores ambientais, sendo utilizado no monitoramento da qualidade da água, conforme o estudo de DUARTE, *et al.*, (2012), ainda de acordo com este autor, a espécie em questão também é utilizada na avaliação de efeitos genotóxicos e mutagênicos dos variados xenobióticos ao meio ambiente, por meio do teste do micronúcleo. (DUARTE, *et al.*, 2012).

O teste de micronúcleo detecta alterações genômicas, na divisão mitótica da célula, indicando que ali houve perda de DNA. Os MN possuem um formato arredondado e é composto por pedaços ou até mesmo de cromossomos inteiros, resultantes da quebra do DNA em processo de mitose. Geralmente, sua presença é analisada em eritrócitos em estágio ainda de amadurecimento, contendo ribossomos. (AZEVEDO, *et al.*, 2003). Outra definição mais detalhada para MN de acordo com (RIVERO, *et al.*, 2007) é que os micronúcleos são massas de cromatina originada de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros, que se perdem durante a anáfase na divisão celular, devido aos eventos clastogênicos ou aneugênicos, também podem ser formados pela interação de agentes químicos, físicos e biológicos com estruturas não genômicas, que promovem distúrbios na maquinaria mitótica e falha na segregação dos cromossomos. Ainda segundo, (RIVERO, *et al.*, 2007), a ação dos agentes pode originar os micronúcleos, um ou vários por célula, que resultam em fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos que se atrasam em relação aos demais em migração para os polos da célula durante a anáfase.

O teste foi descrito pela primeira vez por Schimidt, em 1975, tendo sido realizado em mamíferos *in vivo*. Ele tem a propriedade de detectar alterações cromossômicas durante a divisão celular, provocadas por substâncias mutagênicas que quebram os cromossomos (substâncias clastogênicas) ou que interferem na formação do fuso mitótico alterando a distribuição equitativa dos cromossomos durante a divisão celular. (FLORES, *et al.*, 2008). A técnica original para o teste, desenvolvida por Schmid (1975) foi adaptada de roedores para aplicação laboratorial em peixes por Hooftman e Raat (1982). Segundo (RIVERO, *et al.*,

2007). Por esta razão o teste tem sido considerado uma técnica vantajosa, cuja análise é relativamente simples, podendo ser facilmente identificados no citoplasma de eritrócitos de peixes, que tem se mostrado de fácil análise de micronúcleos, portanto sendo adequado para o teste. Além disso, a simplicidade e rapidez na obtenção do sangue periférico desses organismos tornam a técnica ainda mais adequada para a avaliação da contaminação ambiental. (DUARTE, *et al.*, 2012). A metodologia do teste é simples, mais para garantir a qualidade e confiabilidade se faz necessário obedecer a requisitos preliminares, como, por exemplo, protocolos bem padronizados quanto à coleta e processamento de células. (FLORES, *et al.*, 2008). Desta forma o objetivo deste trabalho consiste em realizar avaliações biológicas que sirvam de indicadores da qualidade da água dos reservatórios urbanos de Campina grande-PB, Açude Velho e Açude de Bodocongó, identificando a comunidade fitoplanctônica, a fim de avaliar a possível relação entre a eutrofização causada por cianobactérias, e utilizar a espécie *Oreochromis niloticus*, para medir o número de micronúcleos.

Cianobactérias produtoras de toxinas em ambientes eutrofizados podem ser indicadoras de potencial mutagênico em peixes?

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Campos de Estudo

Foram avaliados dois reservatórios urbanos da Cidade de Campina Grande-PB: Açude Velho e Açude de Bodocongó, ambos localizado no Agreste-Semiárido da Borborema, onde o clima é classificado como AS' (quente e úmido com chuvas de outono/inverno). O primeiro manancial é localizado no centro da cidade e foi construído em 1928 no antigo leito do Riacho das Piabas, é um dos principais cartões postais de Campina grande. Suas margens são utilizadas para lazer, práticas de esporte e contemplação. (FILHO, *et al* 2012). O açude Bodocongó situado a Noroeste da cidade (7° 13' 11'' S e 35° 52' 31''W; altitude de 550 m) foi construído na confluência do rio Bodocongó e riacho Caracóis. Este açude pertence à Bacia Hidrográfica do rio Bodocongó, com uma área de drenagem de 981 km² contribuinte da Bacia do Médio rio Paraíba, com capacidade máxima de 1.020.000 m³, profundidade máxima de 8,50m; extensão máxima de 1.500m e uma descarga máxima de 44.250 m³ (DNOCS, 1996, apud, ABÍLIO, *et al.*, 2006). O mesmo foi construído para abastecer o

município no ano de 1917, o reservatório já perdeu cerca de 40% de sua área alagada e toda sua mata ciliar, que se encontrada impactada, sofreu maiores impactos com a obra de urbanização, acelerando ainda mais o processo de assoreamento do corpo hídrico. (Farias 2016). Com todo processo de revitalização/urbanização, o açude Bodocongó, é considerado o berço da limnologia do Brasil, pelo fato de ter sido utilizado para os primeiros, grandes e pequenos estudos limnológicos do País, (Farias 2016). O manancial recebeu, no lugar da sua mata ciliar, o parque ecológico de Bodocongó, inaugurado no ano em que completa 100 anos de existência.

2.2 Amostragem

As amostragens foram coletadas entre os meses de Dezembro/2016 e Junho/2017, as margens dos reservatórios. A identificação da comunidade fitoplanctônica, foi realizada através de amostras de água para análises de Cianobactérias, as amostras foram coletadas na superfície, fixadas com lugol, acondicionadas em garrafas de polietileno e resfriadas durante transporte ao laboratório. Para a comunidade de peixes, as coletas foram realizadas com tarrafas. O esforço de captura foi semelhante entre os reservatórios estudados, Foram coletados 15 indivíduos da espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo), de cada reservatório para coleta de sangue por punção branquial. Ambas as coletas foram executadas as margens dos reservatórios, os peixes foram retirados das tarrafas e colocados em um recipiente para coleta do sangue e preparação das lâminas, logo após a preparação destas, foram devolvidos ao reservatório.

2.3 Preparação de Lâminas e análise Citológica

Foi coletada uma gota de sangue para realização do esfregaço em cada lâmina (duplicata), decorrido 24 horas após a preparação, estas foram fixadas no álcool metílico por 15 minutos e secas em temperatura ambiente. No dia seguinte com aproximadamente 24 horas, as lâminas foram coradas com Giemsa por um intervalo de 20 minutos. O excesso de corante foi retirado com água destilada, logo após secas, foram codificadas para análise em teste cego e armazenadas em geladeira para conservação até a análise citológica.

Para análise citológica, foi utilizado microscópio óptico com aumento de 1000x a fim de identificar o material citológico para contagem das células. Foram contabilizados 2000 eritrócitos por animal para a verificação da frequência de células micronucleadas, considerando apenas hemácias nucleadas com membranas nucleares e citoplasmáticas intactas.

2.4 Caracterização da comunidade fitoplanctônica

As identificações das populações fitoplanctônicas foram feitas em microscópio binocular Zeiss Axio Lab. A1 com contraste de fase, ocular micrometrada, câmara clara e câmara digital acoplada, sendo feito a análise de características morfológicas e morfométricas das fases vegetativa e reprodutiva. A abundância das populações fitoplanctônicas (ind mL⁻¹) foram estimadas pelo método da sedimentação de Utermöhl (1958), em microscópio invertido Carl Zeiss, modelo Axiovert 25, a 400 aumentos. O volume sedimentado foi definido de acordo com a concentração de algas e/ou de detrito. O tempo de sedimentação foi de pelo menos três horas para cada centímetro de altura da câmara (MARGALEF 1983). Os indivíduos (células, colônias, filamentos) foram enumerados em campos aleatórios (UHELINGER 1964), em número suficiente para alcançar 100 indivíduos da espécie mais frequente, sendo o erro inferior a 20%, (LUND *et al.* 1958).

2.5-Teste Estatístico

Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão da média, os valores para diferença de MN de um reservatório para o outro foram obtidos por meio do teste t. Teste de comparação entre grupos. Para a comunidade fitoplanctônica foi verificada a abundância total e relativa dos táxons e espécies

3 RESULTADOS

3.1 Teste de Micronúcleo

De acordo com as análises, os resultados para MN não foram estatisticamente significativos, uma vez que o valor de P para o teste T foi maior que 0,05. Os resultados da avaliação de micronúcleos na espécie *Oreochromis niloticus*, estão representados na tabela 1 e

indicam que açude de Bodocongó apresenta maior índice de micronúcleos em relação ao açude Velho.

Tabela 1. Avaliação de Micronúcleos na espécie *Oreochromis niloticus* nos reservatórios de Açude velho e Bodocongó para comparação do nível de degradação ambiental.

Origem da Coleta	Média de MN	Desvio Padrão	Teste T
Açude Velho	1,26	1,16	0,29
Açude de Bodocongó	1,8	1,32	

De acordo com os resultados, Bodocongó apresenta um possível maior indicativo de mutagenicidade para o teste de micronúcleo.

Comunidade Fitoplanctônica

Trinta e um taxons de fitoplancton foram encontrado nos sistemas estudados, sendo que 11 foram comuns aos reservatórios (Cyanophyceae: *Aphanocapsa annulata*, *Aphanocapsa incerta*, *Chroococcus limneticus*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Dolychospermum solitarum*, *Oscillatoria limosa*, *Oscillatoria tenuis*, *Pseudanabaena catenata*; Clorophyceae: *Oocystis borgeii* e *Tetraedron muticum*; Euglenophyceae: *Lepocinclis ovum*.

A composição fitoplanctonica diferiu entre os sistemas (Figura 1), para o açude Velho foram observados 22 espécies distribuídas em três classes, a classe Clorophyceae apresentou o maior número de espécies (68,2%), seguido de Cyanophyceae (22,7%) e Euglenophyceae (9,1%). Enquanto que, para o açude de Bodocongó foram encontradas 16 espécies distribuídas em cinco classes, onde a que apresentou o maior número de espécies foi Cyanophyceae (43,8%), Clorophyceae (31,3%), Euglenophyceae (12,5%), Bacillariophyceae (6,3%) e Zygnemaphyceae (6,3%).

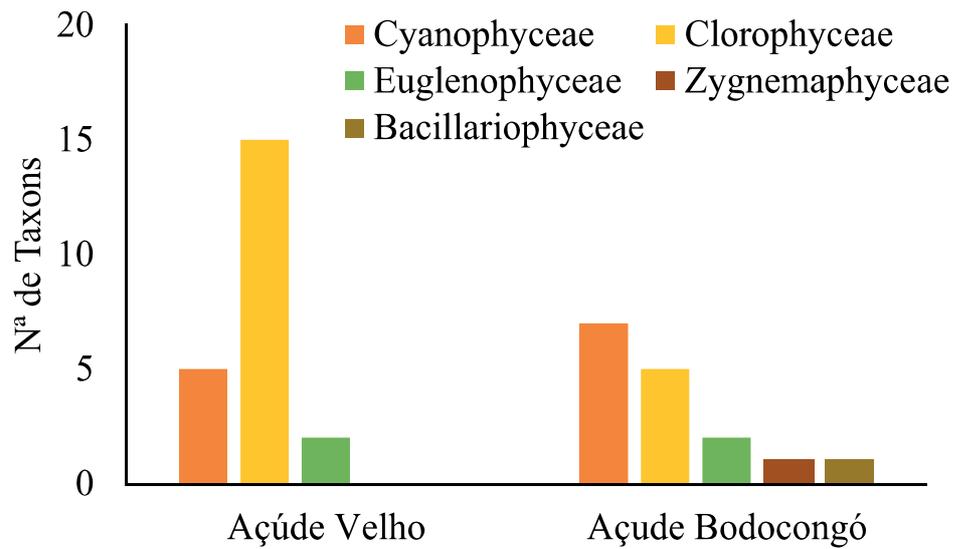


Figura 1. Abundância de indivíduos das diferentes classes de algas entre os açúdes de Bodocongo e Velho.

A densidade também diferiu quanto ao número de indivíduos de cada espécie, entres os sistemas estudados (Figura 2), para o açúde velho foram observados 21328 indivíduos, sendo distribuídos em apenas 3 classes, a classe Clorophyceae apresentou um maior número de indivíduos (14497), seguido de Euglenophyceae com (4383), e Cyanophyceae com (2448). Já para o açúde de Bodocongó, foram encontradas 17720 indivíduos, distribuídos em 5 classes, a maior densidade foi encontrada na classe Cyanophyceae, (10637) seguido da classe Clorophyceae com (3439), logo após, Euglenophyceae (2597), e Zygnemaphyceae com apenas (978), sendo a classe Bacillariophyceae o grupo com menos indivíduos representantes (68). O resultado indica que Bodocongó apresenta maior densidade de indivíduos para a classe Cyanophyceae, o que confere uma maior representatividade em relação as cianobactérias.

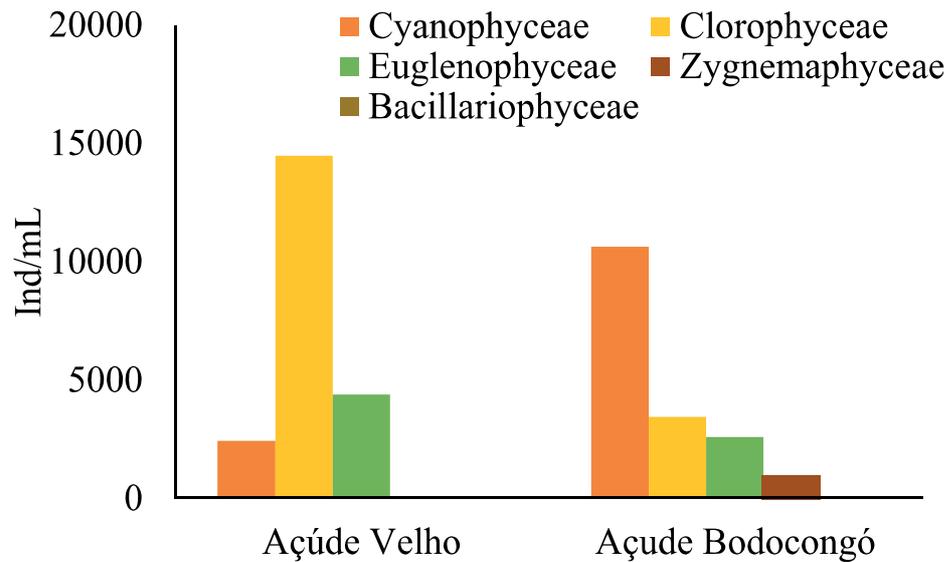


Figura 2. Densidade de indivíduos observadas entre os açudes Velho e Bodocongó.

Quanto a abundância das Cianobactérias, foram encontradas 8 espécies, sendo 4 comuns aos dois reservatórios, Bodocongó não apresenta abundância para as espécies de *Dolychospermum solitarum*, e açude velho não possuem conforme os resultados, representantes de: *Aphanocapsa incerta*, *Oscillatoria limosa* e *Oscillatoria tenuis*. Açude velho apresentou *Pseudanabaena catenata*, com maior número de espécies sendo (1469) seguido de *Chroococcus limneticus*, com (686), *Cylindrospemopsis raciborskii*, (147), *Aphanocapsa annulata*, com (122) espécies e *Dolychospermum solitarum*, com o menor número de espécies encontradas, (24). Já em Bodocongó foram identificados *Oscillatoria limosa*, com o maior número de representante, (5421), seguido de *Cylindrospemopsis raciborskii*, com (3553), *Pseudanabaena catenata*, com (1048), *Oscillatoria tenuis*, (273), *Chroococcus limneticus*, com (114), e com menor número de representantes, *Aphanocapsa annulata*, (137) e *Aphanocapsa incerta*, com (91).

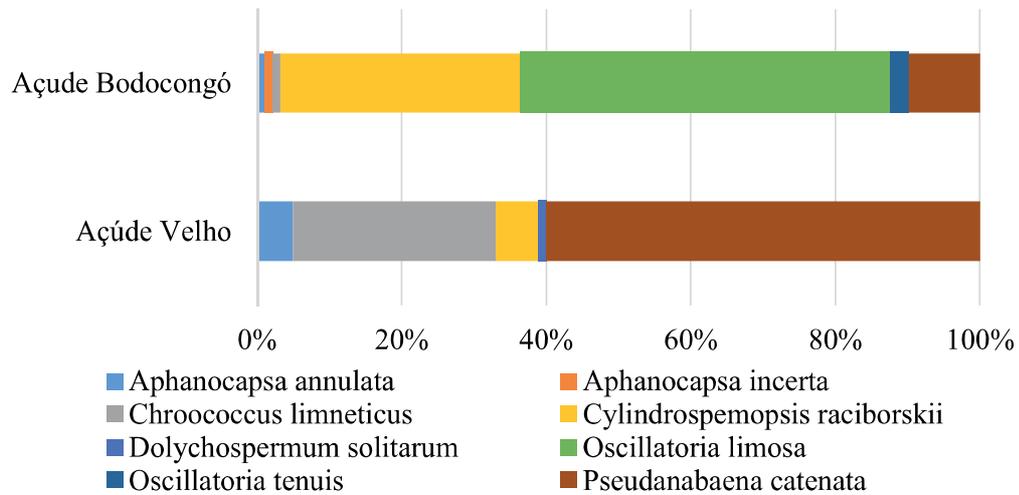


Figura 3. Abundância das espécies de Cianobactérias encontradas nos reservatórios Bodocongó e açude Velho.

4 DISCUSSÃO

Os resultados indicaram que o açude de Bodocongó apresenta maior nível de poluição, tanto na análise da comunidade fitoplanctônica, uma vez que a ocorrência de Cianobactérias nesse reservatório foi maior quando comparado ao açude Velho, como para a quantidade de micronúcleos encontrada na espécie *Oreochromis niloticus*. De acordo com estudos anteriormente realizados, este reservatório tem sofrido com a deposição de resíduos sólidos, em decorrência da ocupação irregular e desordenada as margens do açude. Existe uma carência de serviços de esgotamento sanitário, coleta de lixo e vazamento de canos, refletindo num sistema de saneamento inadequado, contribuindo para a deterioração da área. Ainda, muitos dos resíduos sólidos produzidos pelos moradores ao redor do açude são lançados indiscriminadamente nas encostas, terrenos nas proximidades e no córrego, que com o decorrer dos tempos passam a constituir com sérios problemas, como a poluição, desequilibrando o sistema natural, uma vez que por ocasião das chuvas, acabam atingindo diretamente o açude. (FILHO, *et al.*, 2011).

O processo de eutrofização nas águas do Bodocongó ocorre devido a grande presença de resíduos sólidos solúveis totais incorporados nas águas do açude, diminuindo a quantidade de oxigênio, contribuindo para o favorecimento e a invasão de plantas macrófitas, plantas que são indicadoras de água em estágio de eutrofização. Este processo contribui com a

diminuição de organismos responsáveis pela aeração da água e conseqüentemente diminuindo de forma drástica a biodiversidade do local. (FILHO, *et al.*, 2011). De acordo com Ceballos *et al.* (1998) o açude Bodocongó é classificado como hipereutrófico, sendo o aporte de nutrientes e a presença de grande quantidade de bactérias de origem fecal a causa da deterioração das condições trófico-sanitárias deste corpo hídrico. (ABÍLIO, *et al.*, 2006).

Diante de determinadas condições ambientais, as cianobactérias podem se tornar parcela dominante do fitoplâncton de lagos, reservatórios e rios, formando muitas vezes florações. (Molica, *et al.*, 2009). Alguns tipos particulares e algas que cresce, em ambientes eutrofizados, liberam na água toxinas, que mesmo em baixa concentração pode causar danos em células de diversos organismos. Existem diversas formas moleculares de toxinas, dentre elas as denominadas neurotoxinas (anatoxinas e saxitoxinas), que são alcalóides produzidos por espécies do gênero *Anabaena*, *Oscillatoria* e *Cylindrospermopsis*. (CÂMARA, *et al.*, 2007). No caso de Bodocongó, duas espécies foram identificadas como dominantes. *Oscillatoria limosa*, com o maior número de representante, (5421), seguido de *Cylindrospermopsis raciborskii* com (3553). Estudo realizado em um lago artificial em processo de esvaziamento da Cidade de Goiânia-GO, sobre bactérias fitoplanctônicas proporcionou a ocorrência de *Oscilatória limosa*, associada ao fato do reservatório possuir baixa profundidade. (NOGUEIRA, *et al.*, 2011). Essa espécie apresenta papel pioneiro na formação de florações de cianobactérias devido a sua capacidade de eficiência em corrigir o dinitrógeno (Stal *et al.*, 1984), Esta cianobactéria filamentososa não forma heterocistos ou qualquer outra adaptação morfológica conhecida, e poderia estar envolvida com a Proteção da nitrogenase do oxigênio. (STAL, *et al.* 1990). Possivelmente, essas características justificam a sua ocorrência como Cianobactéria dominante para o açude de Bodocongó, tendo em vista que e este, vem sofrendo processo de assoreamento, segundo FILHO, *et al.* (2011), bem como apresentou maior dominância por Cyanophyceae quando comparado com açude Velho.

A *Cylindrospermopsis raciborskii*, foi à segunda Cianobactéria com maior dominância em Bodocongó. Esta espécie tem uma grande importância pela sua competitividade com as demais espécies do fitoplâncton e pela potencialidade de produzir cianotoxinas (CARLA, *et al.*, 2006). O estudo de CARVALHO *et al.* (1999) em um reservatório de Pernambuco observou que o sertão é a região com maior intensidade e duração de florações de *C. raciborskii*. A espécie em questão é considerada invasora e pode representar 10% do total de biomassa fitoplanctônica dependendo das condições ambientais (SANTIAGO *et al.*, 2012). Apesar de serem dominantes por todo o ano, se proliferam com maior intensidade quando há

baixa pluviosidade e tempo seco (SANTIAGO, *et al.*, 2012). Entre as toxinas produzidas por *C. raciborskii*, estão a cilindrospermopsina (CYN), o estudo de MOLICA *et al.* (2009), cita que o mecanismo da ação dessa toxina se dá por inibição da síntese proteica, e que foram observados danos severos em células renais, pulmonares e cardíacas dos animais exposto a testes *in vivo* e *in vitro*, demonstrando que a cilindrospermopsina pode causar danos genéticos.

Silva (2008) expôs tilápias juvenis (*Oreochromis niloticus*) à células íntegras de *C. raciborskii* e ao extrato celular contendo CYN e observou que os organismos expostos ao primeiro tratamento parecem não ter tido seu crescimento suprimido ou aumentado. No entanto, os peixes tiveram seu crescimento diminuído quando expostos por 15 dias a baixas concentrações de extrato celular contendo CYN. Porém, quando os animais foram expostos por 30 dias às mesmas concentrações não houve influência no crescimento, o que provavelmente está relacionado com o processo de detoxificação do animal. Observou-se também que os peixes acumularam toxina nos tecidos (vísceras e músculo) durante a ingestão tanto do extrato tóxico quanto em células íntegras, mas não houve mortalidade dos animais ao longo dos tempos de exposição. (SANTIAGO, *et al.*, 2012). Silva (2009) obteve resultados significativos relacionados à exposição corpórea de *O. Niloticus* a microcistina na concentração de 103,725µg/L através do teste de micronúcleo quando relacionado aos controles."

As microcistinas são as cianotoxinas com maior ocorrência em todo o mundo, (MOLICA, *et al.*, 2009). Estudos relatados em outros reservatórios do Nordeste paraibano tem demonstrado que microcistina acumulada em tecidos tem potencial para promover efeitos mutagênicos em peixes, segundo, (VASCONCELOS, *et al.*, 2013). Um estudo realizado com a indução de micronúcleos em *Piaractus Mesopotamicus* exposto ao Herbicida Atrazina, na Universidade Oeste Paulista-SP, indica que Efeitos tóxicos em ambientes com cargas elevadas de poluentes, resultam em alterações bioquímicas e fisiológicas no sangue dos peixes, podendo ser indicadoras do seu estado fisiológico. (MORON, *et al.*, 2006).

Toxinas produzidas por Cianobactérias podem ser potentes causadoras de efeitos genotóxicos, ou seja, alteram a sequência nucleotídica do DNA e podem acelerar ou aumentar o aparecimento de mutações que estão associadas ao desenvolvimento de neoplasias. A presença de micronúcleos pode ser considerada como uma indicação de ocorrência prévia de aberrações cromossômicas em algum momento do ciclo de vida das células em organismos aquáticos como os peixes, pois estes podem acumular substâncias obtendo-as diretamente da

água contaminada ou indiretamente através da ingestão de organismos aquáticos contaminados ou dos próprios produtores destas toxinas (algas). (MOSER, *et al.*, 2011). Assim, as toxinas produzidas pelas Cianobactérias encontradas no açude de Bodocongó, associadas ao processo de descargas de poluentes nesse reservatório, podem ser indicadoras do aumento de micronúcleos nos peixes da espécie *O. Niloticus*, bem como apresentar indicativo de mutagenicidade nesses organismos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através do teste de micronúcleo na espécie *Oreochromis niloticus*, indicam que o açude de Bodocongó, embora não tendo apresentado diferença estatística, obteve maior número de micronúcleos quando comparado ao açude Velho. Para os resultados de Cianobactérias, Bodocongó também apresenta maior índice de produção de espécies da classe Cyanophyceae, o que confere um elevado grau de poluição. Desta forma, acredita-se que a presença de uma alta abundância de Cianobactérias produtoras de toxinas pode favorecer o potencial mutagênico nos organismos estudados.

EVALUATION OF THE POSSIBLE RELATIONSHIP BETWEEN CYANOBACTERIA
ETHANIZATION AND THE PRESENCE OF MICRONUCLE IN FISH OF THE
SPECIES *Oreochromis Niloticus* IN URBAN RESERVOIRS OF CAMPINA GRANDE PB.

Fabiana Felix da Silva¹

ABSTRACT:

Eutrophication in dams in the semi-arid tropics has taken on dramatic connotations, being promoted by the excess of pollutants that affect the functioning of the ecosystem, favoring the development of toxin-producing Cyanobacteria that can cause changes in fish cells that inhabit these reservoirs. Micronucleus testing, as a simple, rapid, low cost test, has been widely used to assess possible genotoxicity and / or mutagenicity in fish from contaminated environments. In this work, biological evaluations were carried out by means of water quality indicators from the urban reservoirs of Campina Grande-PB, Açude Velho and Açude de Bodocongó, identifying the phytoplankton community in order to evaluate the possible relationship between eutrophication caused by Cyanobacteria, and using the species *Oreochromis niloticus*, to measure the number of micronuclei. The methodology used for the capture of the fish was with the use of flasks, the peripheral blood was collected for the preparation of smears on slides, which were fixed, stained and later analyzed in a blind test. For cytological analysis, an optical microscope was used, with an increase of 1000x for counting 2000 erythrocytes per subject. For the phytoplankton community, the samples were collected in polyethylene bottles, fixed with lugol and cooled during transport to the laboratory, to the identifications of the populations were made in binocular microscope with phase contrast. The results obtained through the micronucleus test in the species *Oreochromis niloticus* indicate that the Bodocongó reservoir, although not presenting a statistical difference, obtained a higher number of micronuclei when compared to the Velho reservoir. For the results of Cyanobacteria, Bodocongó also presents a higher production index of species of the class Cyanophyceae, which confers a high degree of pollution. Thus, it is believed that the presence of a high abundance of Cyanobacteria producing toxins may favor the mutagenic potential in the organisms studied.

Keywords: Eutrophication, Cyanotoxins, Mutagenicity.

REFERÊNCIAS

ABÍLIO, F. J. P.; GESSNER, A. A. F.; LEITE, R. L.; RUFO, T. L. D. M. Gastrópodes e outros invertebrados do sedimento e associados à macrófita *Eichhornia crassipes* de um açude hipertrófico do semiárido Paraibano. **Revista de Biologia e Ciências da terra**. Suplemento especial n.1, 2006.

ANNA, E. N. E. S.; MENEZES, R.; COSTA, I. S.; PANOSSO, R. D. F.; ARAUJO, M. F.; ATTAYDE, J. L. D. Composição da comunidade zooplantônica em reservatórios eutróficos do semi árido do Rio Grande do Norte. **Oecologia Brasiliensis**. v.11 (3), p. 2-10, 2007.

ATTAYDE, J. L. Impactos da introdução da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sobre a estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos do Bioma Caatinga. **Oecologia Brasiliensis**, p. 450-461, 2007.

AZEVEDO, L.; GOMES, J. C.; STRINGHETA, P.C.; GONTIJO, A.M., PADOVANI, C.R.; RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F. Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, v.41, p.1671-1671, 2003.

BARROS, F. M. N. M.; BONATES, M. F.; GALVÃO, C. D. O.; MIRANDA, L. I. B.; OLIVEIRA, I. B.; PANET, M. D. F.; PASSOS, L. A.; QUEIROZ, M. V. D.; RUFINO, I. A. A.; SILVA, H. D. A. Tecidos Urbanos e sistemas de espaços livres em Campina grande-PB. Uma descrição da qualidade da sua forma urbana. **Colóquio Quapá**. v.7, p. 9-11, 2012.

BRETANO, D. M.; CARDOSO, G. C.; SOUZA, B. Cianotoxinas em um manancial dominado por *Cylindrospermopsis raciborskii* e a avaliação da toxicidade aguda deste ambiente. **SEPEI (4º Seminário de Pesquisa Extensão e Inovação do IFSC)**. p.1-4, 2014.

CÂMARA, F. R. D. A. Demanda Química de oxigênio, Clorofila a e comunidade Fitoplantônica como indicadores de qualidade da água no Canal de Pataxó-RN. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. **Departamento de Oceanografia e Limnologia-UFRN**, 2007.

CHAVES, P. F.; ROCHA, S.B D. L.; DUTRA, A. T. M.; YNES, J. S. Ocorrência de Cianobactérias produtoras de Cianotoxinas no Rio dos Sinos (RS) entre os anos de 2005 e 2008. **Unidade de Pesquisas em Cianobactérias., Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG)**. Rio Grande, RS, Brasil, 2008.

CARLA, G. Aspectos da morfologia e ecologia de *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszinska) Seenayya et Subba Raju e produção de cianotoxinas na Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Brasil. **Repositório Institucional da UFSC**, 2006.

CARVALHO, A. D. P.; NETO, J. M. D. M.; LIMA, V. L. A. D.; SILVA, D. J. K.C E. Estudo da degradação ambiental do açude de Bodocongó em Campina grande-PB. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 6, (2), p. 2-10, 2009.

DEBERDT, G. L. B. Estudo de Cianobactérias em Reservatório com elevado grau de trofia (Reservatório de Salto Grande - Americana - SP). **Tese de Mestrado**, São Carlos, SP, 2002.

DUARTE, I. D.; DIAS, M. C.; DAVID, J. A. D. O.; MATSUMOTO, S. T. A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Biociências. Brazilian Journal of Biosciences**. v. 10(2) p. 211-219, 2012.

FILHO, D. H. G.; NETO, S. F.; JUNIOR, J. A. S.; SUASSUNA, J. F.; BARACUHY, J. G. V. Uso e Ocupação nas margens do açude de Bodocongó. **Revista Educação Agrícola Superior. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior - ABEAS**, v.27, (1) p. 72-74, 2012.

FLORES, M.; YAMAGUCHI, M. U. Teste de micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica, **Revista Saúde e Pesquisa**, v.1, n.3, p. 337-340, 2008.

MOLICA, R.; AZEVEDO, S. Ecofisiologia de Cianobactérias produtoras de Cianotoxinas. **Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Garanhuns, PE, Brasil. Laboratório de Ecotoxicologia de Cianobactérias, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)**. RJ, Brasil, 2009.

MORON, S. E.; POLEZ, V. L. P.; ARTONI, R. F.; RIBAS, J. L. C.; TAKAHASHI, H. K. Estudo de Alterações na Concentração de Íons Plasmáticos e da Indução de Micronúcleos em *Piaractus mesopotamicus* Exposto ao Herbicida Atrazina. **JBSE SETAC- Brasil**, v.1, n.1, p. 27-30, 2006.

MONTEIRO, F. M. Influência das variáveis ambientais na dinâmica espaço/temporal da comunidade fitoplanctônica do Açude Bodocongó, Semiárido. **Dspace.bc.uepb.edu.br**, 2014.

MOSER, M. C. Avaliação Ecotoxicológica do manancial da Lagoa de Peri: Testes Genotóxicos, Citotóxicos e Mutagênicos. Universidade Federal de Santa Catarina – **Centro Tecnológico** – Florianópolis, 2011.

NOGUEIRA, I. D. S.; JUNIOR, W. A. G.; ALESSANDRO, E. B.D. Cianobactérias planctônicas de um lago artificial urbano na cidade de Goiânia, GO. **Revista Brasil. Bot.** V.34, n.4, p.575-592, 2011.

RIBEIRO, P. C. Análise de fatores que influenciam a proliferação de Cianobactérias e algas em lagoas de estabilização. **Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais- Curso de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental**, 2007.

RIVERO, C. L. G, et al, Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil. **Dissertação de Mestrado; Programa de Pós graduação em Patologia molecular**. P. 32-34, 2007.

ROCHA, E. D. S.; Sustentabilidade ambiental do cultivo intensivo de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede e a capacidade de suporte de quatro reservatórios em uma região semiárida tropical. Dissertação. **(Mestrado em Meio Ambiente, Cultura e Desenvolvimento) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal**, 41 f. p. 12-14, 2006.

SANTIAGO, L. L. Avaliação dos efeitos genotóxicos e de acumulação induzidos pela Cilindroperpermopsina (cianotoxina) em *Chironomus Xanthus* (Diptera Chironomidae). Universidade Federal de Itajubá – UNIFEI – Itajubá-MG, 2012.

STAL, L.J.; BERGMAN, B. Immunological characterization of nitrogenase in the filamentous non-heterocystous cyanobacterium *Oscillatoria limosa*. **Planta Springer-Verlag**, 1990.

VASCONCELOS, J. F.; BARBOSA, J. E. L.; DINIZ, C. R.; CEBALLOS, B. S. O. Cianobactérias em reservatórios do Estado da Paraíba: Ocorrência, toxicidade e fatores reguladores. **Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba; Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba** – Campina grande, 2013.

VASCONCELOS, J.F.; BARBOSA, J.E.L.; LIRA, W.L.; AZEVEDO, S.M.F.O. Microcystin bioaccumulation can cause potential mutagenic effects in farm fish; **National Institute of Oceanography and Fisheries. Egyptian Journal of Aquatic Research**. p. 187, 2013.

VILLA, U. J.; CARAMASCHI, E. P. Índices de Integridade Biótica usando peixes de água doce: Uso nas regiões Tropical e Subtropical. **Laboratório de Ecologia de Peixes, Depto. De Ecologia, Inst. De Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Programa de Pós graduação em Ecologia, , Inst. De Biologia UFRJ, 2009.**