

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
CURSO DE BACHARELADO EM BIOLOGIA

BIOMARCADORES DE TILÁPIA DO NILO E PARÂMETROS ABIÓTICOS DA ÁGUA  
PARA AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO RIO CHAPADINHA

MARILENE BÁRBARA DOS SANTOS

CRUZ DAS ALMAS  
BAHIA - BRASIL  
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
CURSO DE BACHARELADO EM BIOLOGIA

BIOMARCADORES DE TILÁPIA DO NILO E PARÂMETROS ABIÓTICOS DA ÁGUA  
PARA AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO RIO CHAPADINHA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia, como parte dos requisitos do Curso de  
Graduação de Bacharelado em Biologia, para  
obtenção do título de Bacharel em Biologia.

CRUZ DAS ALMAS

BAHIA - BRASIL

2018

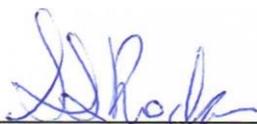
MARILENE BÁRBARA DOS SANTOS

BIOMARCADORES DE TILÁPIA DO NILO E PARÂMETROS ABIÓTICOS DA ÁGUA  
PARA AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO RIO CHAPADINHA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia, como parte dos requisitos do Curso de  
Graduação de Bacharelado em Biologia, para  
obtenção do título de Bacharel em Biologia.

APROVADO: 09 de março de 2018

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Sérgio Schwarz da Rocha  
CCAAB, UFRB



Ma. Ana Cátia Santos da Silva  
CCAAB, UFRB



Profa. Dra. Elissandra Ulbricht Winkaler  
Orientadora  
CCAAB, UFRB

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me tornar forte, calma e determinada, nos momentos de dificuldades, e por me proporcionar coragem e confiança para continuar seguindo em frente.

Aos meus pais, Luiza e Nelson, por todo amor, incentivo, dedicação e apoio.

A minha tia, Maria Eugênia (*in memorian*), por todo carinho, afeto e cuidados.

Aos meus irmãos, Nilton e Maria, por todo apoio e torcida.

As minhas avós Maria e Astrogilda pelas palavras de incentivo e por todo carinho dedicados a mim.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), e ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas por todo suporte oferecido.

A minha orientadora, Profa. Dra. Elissandra Ulbricht Winkaler, pela dedicação, ensinamentos e conselhos.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Sérgio Schwarz da Rocha e Ma. Ana Cátia Santos da Silva, por terem aceitado participar e contribuir com este trabalho.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA), Theila, Thaís e Lincon pelos bons momentos, trocas de conhecimentos e por toda ajuda fornecida.

As amigas Laís, Vanessa e Silvana, que tornaram esses últimos anos mais felizes e ajudaram a diminuir a angústia e o peso dos momentos difíceis.

A todos os tios, tias e amigos que contribuíram direta ou indiretamente para que o caminho escolhido pudesse ser trilhado.

A todos, muito obrigada!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Recursos hídricos e contaminação ambiental.....	3
2.2. Bioindicadores.....	4
2.3. Biomarcadores.....	6
2.4. Antioxidantes.....	7
2.5. Glutathione S-Transferase.....	8
2.6. Catalase.....	9
2.7. Parâmetros físico-químicos da água.....	10
2.8. Rio Chapadinha.....	12
3. OBJETIVO.....	13
3.1. Objetivo geral.....	13
3.2. Objetivos específicos.....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1. Aquisição dos bioindicadores.....	13
4.2. Área de estudo.....	14
4.3. Coleta da água.....	17
4.4. Coleta do material biológico.....	20
4.5. Preparação das amostras.....	21
4.6. Biomarcadores bioquímicos.....	21
4.7. Análise estatística.....	22
5. RESULTADOS.....	22
5.1. Dados pluviométricos.....	22
5.2. Biomarcadores bioquímicos.....	22
5.3. Parâmetros abióticos da água.....	25
6. DISCUSSÃO.....	26
7. CONCLUSÃO.....	29
8. BIBLIOGRAFIA.....	30

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Exemplar de tilápia (*Oreochromis niloticus*) utilizado como bioindicador nos testes ecotoxicológicos de 96 horas de exposição, para avaliação da qualidade da água do rio Chapadinha, nos bairros do Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, em Cruz das Almas, Bahia, utilizando biomarcadores bioquímicos enzimáticos (GST e CAT) do tecido hepático..... 6
- Figura 2.** Mapa do Brasil, com destaque para o estado da Bahia. No detalhe, o município de Cruz das Almas e os pontos de coleta de água no rio Chapadinha: Tapera (P01), Chapadinha (P02) e Campo Limpo (P03), que foram utilizadas em testes ecotoxicológicos (96 horas) com tilápias (*O. niloticus*)..... 14
- Figura 3.** Local da coleta de água no bairro da Tapera, usada em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas de exposição utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio..... 15
- Figura 4.** Local da coleta de água no bairro da Chapadinha, usada em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas de exposição utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio..... 16
- Figura 5** - Local da coleta de água na fazenda Campo Limpo, usada em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas de exposição utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio..... 17
- Figura 6.** Coleta (A) e triagem (B) da água dos pontos amostrados da Tapera, Chapadinha, Campo Limpo utilizadas em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas, utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador..... 18
- Figura 7.** Sistema de aquários com água coletada em diferentes pontos do rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha, Campo Limpo, utilizadas em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas de exposição utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador..... 19

**Figura 8.** Valores médios da atividade hepática da enzima Glutathione S-Transferase (GST) em *O. niloticus* após 96 horas de exposição a água do rio Chapadinha, Cruz das Almas, (BA) em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Colunas indicam médias e barra vertical indica  $\pm$  desvio padrão, com  $n = 20$ . Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos na mesma amostragem. Letras minúsculas indicam diferenças entre os experimentos. (\*) indica variação em relação ao controle..... 23

**Figura 9.** Valores médios da atividade hepática da enzima Catalase (CAT) em *O. niloticus* após 96 horas de exposição a água do rio Chapadinha, Cruz das Almas, (BA) em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Colunas indicam médias e barra vertical indica  $\pm$  desvio padrão, com  $n = 20$ . Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos na mesma amostragem. Letras minúsculas indicam diferenças entre os experimentos. (\*) indica variação em relação ao controle..... 24

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água coletadas nos 3 diferentes pontos do rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Dados correspondem a média  $\pm$  desvio padrão dos valores obtidos em 24, 48, 72 e 96 horas do início do teste. O CTR indica grupo controle: água de abastecimento do laboratório..... 20
- Tabela 2.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água nos pontos de coleta no rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, amostrados em dezembro de 2017..... 25
- Tabela 3.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água nos pontos de coleta no rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, amostrados em janeiro de 2018..... 25

## RESUMO

SANTOS, MARILENE BÁRBARA DOS, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, março de 2018. Biomarcadores de tilápia do Nilo e parâmetros abióticos da água para avaliação da degradação do rio Chapadinha. Orientadora: Elissandra Ubricht Winkaler

A preocupação com a qualidade ambiental tem desencadeado o surgimento de uma série de estudos, muitos destes voltados ao monitoramento de ecossistemas aquáticos. No centro de muitas destas discussões encontram-se as atividades antrópicas, as quais estão sendo apontadas como um dos principais fatores responsáveis pela introdução de poluentes no meio ambiente. A fim de encontrar possíveis alterações em um corpo hídrico fluvial, o objetivo desse trabalho foi identificar o nível de degradação aquática de diferentes pontos do rio Chapadinha, Cruz das Almas (BA), utilizando como marcadores a atividade das enzimas hepáticas Glutathione S-Transferase (GST) e Catalase (CAT) e os parâmetros abióticos da água (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade). Para tanto, exemplares de tilápias (*Oreochromis niloticus*), foram expostos durante 96h a amostras de água coletadas em 3 pontos do rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, em dezembro de 2017 e janeiro de 2018. Após a determinação dos parâmetros abióticos da água, amostras foram coletadas em baldes plásticos e transportadas até o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da UFRB. A água foi transferida para aquários de vidro (30L) onde foram acondicionados 10 exemplares de tilápias ( $15,56 \pm 3,27$  g). Ao encerrar o período de exposição (96h) os animais foram eutanaziados e o fígado retirado para realização das análises enzimáticas. No mês de dezembro de 2017, notou-se que, quando comparadas ao controle e aos demais pontos amostrados, a atividade da GST hepática foi significativamente maior nos organismos expostos a água coletada no ponto da Chapadinha. A CAT hepática, no mesmo período, foi significativamente maior nos organismos expostos a água da Tapera, em comparação com o controle e da fazenda Campo Limpo. Já no mês de janeiro de 2018, quando comparada ao controle, apenas a CAT hepática teve variação significativa na sua atividade, que foi significativamente menor nos organismos expostos a água do Campo Limpo. Comparando-se as duas coletas, pôde-se notar que as atividades das enzimas em tecido hepático de tilápias foram mais elevadas no mês de dezembro de 2017, em relação ao mês de janeiro de 2018, apresentando significância nos organismos expostos a água dos pontos da Chapadinha e do Campo Limpo. Os valores de pH, temperatura e salinidade registrados, em ambos os meses, nos pontos amostrados encontram-se dentro do padrão de qualidade e caracterização estabelecidos pelo CONAMA. Já o oxigênio dissolvido abaixo do ideal e a condutividade elétrica em valores elevados. Com os resultados dos biomarcadores bioquímicos e os dados abióticos da água pode-se indicar que todos os pontos estudados do rio Chapadinha apresentaram certo grau de degradação ambiental. Dessa forma, não foi possível identificar o ponto menos degradado, visto que, a atividade das enzimas GST e CAT variou significativamente em todos os pontos amostrados. No entanto, a maior variação dos biomarcadores estudados ocorreu nos animais expostos às amostras de água no mês de dezembro, o que pode estar relacionado com a maior incidência de chuva.

Palavras-chave: corpos hídricos, ecotoxicologia, enzimas hepáticas.

## ABSTRACT

SANTOS, MARILENE BÁRBARA DOS, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, March of 2018. Nile tilapia biomarkers and abiotic water parameters for evaluation of the degradation of the Chapadinha river. Advisor: Elissandra Ubricht Winkaler.

Concern about environmental quality has triggered the emergence of a series of studies, many of them focused on the monitoring of aquatic ecosystems. At the heart of many of these discussions are the anthropogenic activities, which are being singled out as one of the main factors responsible for the introduction of pollutants into the environment. In order to find possible changes in a fluvial water body, the objective of this work was to identify the level of aquatic degradation of different points of the Chapadinha River, Cruz das Almas (BA), using as markers the activity of hepatic enzymes Glutathione S-Transferase (GST) and Catalase (CAT) and the abiotic parameters of water (dissolved oxygen, pH, temperature, conductivity and salinity). For this purpose, samples of tilapia (*Oreochromis niloticus*) were exposed for 96h to water samples collected at 3 points of the Chapadinha River: Tapera, Chapadinha and Campo Limpo, in December 2017 and January 2018. After determination of the abiotic parameters of the water samples were collected in plastic buckets and transported to the UFRB Aquatic Ecotoxicology Laboratory. The water was transferred to glass aquariums (30L) where 10 specimens of tilapia ( $15.56 \pm 3.27$  g) were packed. At the end of the exposure period (96 h) the animals were euthanized, and the liver removed for enzymatic analysis. In December 2017, it was observed that, when compared to the control and other points sampled, the activity of hepatic GST was significantly higher in the organisms exposed to water collected at Chapadinha point. The hepatic CAT, in the same period, was significantly higher in the organisms exposed to tapera water, in comparison with the control and Campo Limpo farm. As early as January 2018, when compared to the control, only hepatic CAT had a significant variation in its activity, which was significantly lower in the organisms exposed to water from Campo Limpo. Comparing the two collections, it was observed that the activities of the enzymes in hepatic tissue of tilapia were higher in December 2017, in relation to the month of January, 2018, presenting significance in organisms exposed to water from points of Chapadinha and Campo Limpo. The values of pH, temperature and salinity registered in both months at the sampled sites are within the quality and characterization standard established by CONAMA. Already dissolved oxygen below the ideal and electrical conductivity at high values. With the results of the biochemical biomarkers and the abiotic data of the water it can be indicated that all the points studied of the Chapadinha river presented some degree of environmental degradation. Thus, it was not possible to identify the least degraded point, since the activity of the GST and CAT enzymes varied significantly in all the points sampled. However, the greatest variation of the studied biomarkers occurred in the animals exposed to the water samples in December, which may be related to the higher rainfall incidence.

Key words: water bodies, ecotoxicology, liver enzymes.

## 1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas do planeta vêm sendo influenciados pelo homem, seja de forma direta ou indireta, através de ações como o desmatamento, poluição dos corpos hídricos, queimadas e outros. Assim, o crescimento populacional nas grandes cidades é apontado como uma das principais causas responsáveis pelo processo de degradação dos recursos naturais, que é agravado devido à pressão realizada pelos meios de produção, e a consequente busca desenfreada por matéria prima (GOULART; CALLISTO, 2003; OLIVEIRA et al. 2016). Além disso, a ausência de políticas públicas adequadas, que visem a preservação dos recursos hídricos, também é um fator que contribui para o agravamento da qualidade da água (ZHANG et al., 2010; BORGA et al. 2018) a qual, está ligada a incidência de diversos problemas de saúde (MERTEN; MINELLA, 2002) e é apontada como responsável pela morte milhões de pessoas anualmente (MORAES; JORDÃO, 2002).

Com o aumento da concentração de poluentes no meio ambiente, decorrentes do aumento das atividades antrópicas, a química ambiental passou a explorar com assiduidade o tema qualidade de água (BILA; DEZOTTI, 2007), discutindo abordagens que envolvem o gerenciamento da água e o surgimento de novas tecnologias, além de mudanças comportamentais e institucionais para o uso da água (LARSON et al. 2016). Dentre os problemas que são abordados também tem-se as diversas características que são apresentadas pelos resíduos gerados durante tratamento da água, estes também apresentam produtos químicos e outras impurezas, o que contribui para dificultar esse processo de purificação (ACHON et al., 2013).

Oliveira et al. (2016) descrevem que a medida que a população aumenta, a pressão humana sobre os recursos hídricos também tende a aumentar. De modo complementar, Mannarino et al. (2013) citam que em geral, o tamanho da cidade é diretamente proporcional ao nível de complexidade dos rejeitos, o que dificulta ainda mais o tratamento desses resíduos. Por essa razão é necessário o uso ferramentas que confirmem a ausência de toxicidade nos efluente em seu estágio final. Assim, Buss et al. (2003) e Gavrilesco et al. (2014) estabelecem que o desenvolvimento de metodologias que permitam um diagnóstico eficaz, tais como as ferramentas de biomonitoramento, representa um passo inicial para que problemas de caráter social e ambiental sejam sanados, e também possuem um grande potencial, para avaliação de riscos ambientais.

No sentido de que novas tecnologias de avaliação da qualidade ambiental eram necessárias, surgiu a ecotoxicologia, ramo da ciência que se estendeu da toxicologia, e que

combinou-se com teorias ecológicas. Assim, avalia os efeitos tóxicos a níveis moleculares, bioquímicos, celulares, teciduais, morfológicos e comportamentais dos animais, frente a um contaminante. O uso da ecotoxicologia pode representar um auxílio na identificação de efeitos indiretos de contaminantes nos organismos (FLYNN; PEREIRA, 2011; GESSNER; TLILI, 2016).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), em sua resolução de número 357, de 17 de março de 2005, define testes ecotoxicológicos como ensaios que visam avaliar a capacidade de agentes químicos ou físicos em causar efeitos adversos nos mais variados seres vivos, auxiliando na identificação de possíveis perigos a saúde dos seres humanos.

Sisinno et al. (2006) e Oliveira Filho et al. (2017) reforçaram a importância de se realizar testes ecotoxicológicos para que se possa ter indício de uma resposta com um grau de precisão maior do que aqueles que utilizam apenas os parâmetros químicos nas verificações de variáveis ambientais, visto que, apenas a análise química não é capaz de determinar os reais efeitos em um organismo. Além disso, os testes ecotoxicológicos ajudam a identificar os efeitos prejudiciais de contaminantes ambientais, nos seres a estes expostos. Para Knie e Lopes (2004) os organismos têm a capacidade de perceber pequenos teores de substâncias no seu hábitat, concentrações tão mínimas que muitas vezes tornam-se imperceptíveis nas análises químicas. Corroborando com os argumentos anteriores, Arias et al. (2007) afirmaram que ao promover a incorporação dos bioindicadores nos estudos de biomonitoramento tem-se a chance de aumentar a precisão dos conhecimentos sobre a qualidade do meio ambiente.

Lins et al. (2010) salientaram a importância de obter o conhecimento sobre as consequências, os mecanismos e as principais fontes de contaminação, para ter um melhor monitoramento dos ambientes aquáticos. Chovanec et al. (2003) argumentaram que em alguns casos a entrada de componentes tóxicos nos ecossistemas aquáticos pode ocorrer de modo intermitente, provocando uma falsa interpretação da ausência de alterações. Os mesmos ainda relataram que as análises das concentrações de substâncias, muitas vezes são incapazes de revelar adversidades ecológicas e fisiológicas. Por essa razão, os autores enaltecem a importância do uso de organismos, tais como os peixes, que são sensíveis a presença de produtos químicos, muitas vezes complexos, em ecossistemas aquáticos característicos.

No meio ambiente, embora alguns níveis de substâncias pareçam seguros ecotoxicologicamente, existe o risco de que essas substâncias tenham um efeito bioacumulador nos organismos, ocasionando efeitos deletérios devido sua alta concentração (ZAGATTO; BERTOLET, 2008). Por isso, também é importante a criação de medidas que regulamentam a forma e a quantidade de compostos que podem ser lançados no ambiente. Dentre os requisitos

para serem inseridos no meio ambiente, os rejeitos não podem ter potencial poluidor, levando em conta, dentre outros fatores, a capacidade de suporte do corpo receptor e o estabelecimento da maior concentração do composto que não causa efeitos deletérios significativos na sobrevivência, e na reprodutibilidade dos organismos (CONAMA, 2011).

A qualidade da água é problema circunstancial em várias partes do mundo. No Recôncavo baiano essa situação não é diferente, e pode sofrer agravamento à medida que os poluentes alcançam os estuários e deste modo comprometem os ecossistemas costeiros (SANTOS; GÓIS, 2004). Assim, entendendo a importância dos ecossistemas hídricos naturais, o presente estudo visa a identificação do nível de degradação aquática de diferentes pontos do rio Chapadinha, localizado na cidade de Cruz das Almas, que está situada no recôncavo da Bahia. Este rio, desagua no rio Capivari, o qual é compreendido como um importante afluente do rio Paraguaçu.

Em uma avaliação da qualidade das águas, que foi realizada na bacia hidrográfica do rio Paraguaçu e em seus afluentes, pode-se observar que a incidência de dejetos orgânicos resultou no comprometimento da qualidade deste rio (TAVARES; SOUZA, 2016), reforçando assim a importância de estudos que identifiquem os aspectos degradativos, para que soluções possam ser implementadas.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Recursos hídricos e contaminação ambiental**

Substância mais abundante no planeta, a água tem seu lugar de destaque, ainda que contendo características e distribuição espacial diferentes. É um elemento essencial e indispensável para a manutenção da vida (DONADIO et al., 2005). No entanto, as inúmeras atividades humanas estão promovendo alterações no ciclo hidrológico e também na qualidade das águas (TUNDISI, 2006). Sendo assim, o homem é apontado como um agente capaz de causar alterações nas condições ambientais. A forma com a qual a humanidade utiliza os recursos, tais como o emprego do solo, acaba contribuindo para elevar a introdução de compostos, como os agrotóxicos, na água (VON SPERLING, 1996a).

Embora os danos ambientais de grandes proporções sejam os mais comentados via recursos midiáticos, deve-se dar igual ou maior atenção aos pequenos e cumulativos focos de poluição, os quais vão sendo depositados no ambiente de forma constante (MAZZER; CAVALCANTI, 2004). A situação torna-se ainda mais desfavorável, pois as próprias

características da água, que a permite ser descrita como um solvente, torna possível que a mesma incorpore a si várias impurezas (VON SPERLING, 1996a; VON SPERLING, 1996b).

No Brasil, o esgotamento doméstico, mais precisamente a ausência de um tratamento adequado para os esgotos, já pode ser considerado um enorme problema de saúde pública (SCHIRMER et al., 2009), devido a composição dos dejetos, os quais possuem águas utilizadas para higiene pessoal, cocção, lavagem de alimentos e utensílios, e etc. (PEREIRA, 2004). Por esse motivo, Tundisi (2008) relata a importância da promoção de estudos que possibilitem estabelecer no Brasil, uma série de estratégias para gestão dos recursos hídricos nacionais.

A capacidade dos rios de receberem efluentes está relacionada a diversos fatores, os quais influenciam na sua capacidade de viabilizar ou não a rápida depuração dos compostos nele despejados. Dentre estes fatores, estão aqueles de ordem química, física, geológicas, entre outros, acompanhados da participação, já citada, das atividades antrópicas. Deste modo, com tamanha diversidade estrutural e composicional, torna-se difícil a tentativa de traçar uma forma geral para cuidar desses corpos d'água (ANA, 2013).

Com o passar dos anos, nota-se o surgimento de discussões e esforços para tentar elaborar medidas que visem restaurar os sistemas hídricos danificados, tendo em vista que a relação das cidades com os rios que por elas perpassam, vem melhorando, devido ao aumento do interesse ambientalista (BAPTISTA; CARDOSO, 2013).

## **2.2. Bioindicadores**

O uso do biomonitoramento em estudos que visam avaliar ecossistemas hídricos, tem sido constantemente realizado, pois é visto como um modelo mais vantajoso para monitorar tais ambientes, que os métodos que realizam apenas análises químicas da água. Isso ocorre por conta da capacidade de expressar alterações discretas nos organismos, e apontar, com um grau de precisão maior, como poluentes complexos e a biota estão interagindo. Além disso, o monitoramento biológico permite decifrar com maior velocidade, as reações dos organismos ao expressarem a presença de um xenobiótico, dentre outros motivos que tornam esse método de análise mais atraente para determinar a qualidade ambiental (ZHOU et al., 2008).

Mudanças no ambiente, antropicamente estabelecidas ou impostas naturalmente, podem ser identificadas através do uso dos bioindicadores, estes vão auxiliar no estudo de diversos tipos de ambientes. Por definição os bioindicadores são tidos como espécies ou comunidades, que ao demonstrar qualquer ação sensível a perturbações decorrentes no seu habitat, podem determinar a qualidade daquele ambiente, indicando o surgimento de possíveis alterações no

local onde encontram-se presentes (CALLISTO; GONÇALVES, 2002; HOLT; MILLER, 2011).

O uso de bioindicadores está relacionado com a leitura da dimensão do estresse através da interpretação de respostas que os níveis de organização biológica podem apresentar. Isso possibilita um diagnóstico da situação atual do ambiente (ARIAS et al., 2007). Nos peixes, níveis bioquímicos e moleculares para indicação de estresse, são toxicologicamente mais relevantes, pois, respondem com maior velocidade. Além disso, possuem um nível de especificidade mais elevado, possibilitando uma melhor compreensão dos efeitos que um xenobiótico pode desencadear (ADAMS et al., 1989). Neste sentido, Chovanec et al. (2003) reforçam as características dos peixes como bioindicadores, comentando a sua capacidade de responder a um nível subcelular quando expostos a baixa e limitada ação de substâncias tóxicas e também podem apresentar mudanças funcionais e estruturais ao sofrerem uma exposição severa a um contaminante.

Fatores como a estrutura laboratorial, tipos de tecidos a serem utilizados, tipos de biomarcadores a serem analisados, devem ser levados em conta na hora da escolha do bioindicador, para deste modo, tornar possível a realização de um diagnóstico ambiental mais completo (BRITO; DA LUZ, 2015). Lins et al. (2010) também ressaltam a importância de estar atento ao tipo de tecido utilizado. Para estes, seria interessante que se fizesse uso de estruturas que estivessem em contato com o metabolismo de combate ao xenobiótico, tais como fígados e rins.

As tilápias também são utilizadas em ensaios ecotoxicológicos como indicadora do efeito de diversas substâncias, tais como inseticidas naturais (MILLAN et al, 2013), cloreto de mercúrio (DIAS et al., 2007), oxiclreto de cobre (BOOCK; MACHADO-NETO, 2000), dentre outros.

A maioria das tilápias são de origem africana, chegando a somar mais de 70 espécies existentes, sendo que as mais difundidas mundialmente no ramo da aquicultura são, a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), a tilápia áurea (*Oreochromis aureus*), a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*) e a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) (KUBITZA, 2000). As tilápias (Figura 1) fazem parte da família Cichlidae, grupo com muitos peixes de interesse do aquarismo, devido a suas colorações. No entanto, o interesse por muitas espécies de tilápias, em especial a *Oreochromis niloticus*, está no ramo econômico, por meio da aquicultura (NELSON, 2006).

**Figura 1.** Exemplar de tilápia (*Oreochromis niloticus*) utilizado como bioindicador nos testes ecotoxicológicos de 96 horas de exposição, para avaliação da qualidade da água do rio Chapadinha, nos bairros da Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, em Cruz das Almas, Bahia, utilizando biomarcadores bioquímicos enzimáticos (GST e CAT) do tecido hepático.



No Brasil, a tilápia do Nilo é o grupo mais difundido da família Cichlidae, chamando atenção não só pelo interesse no seu cultivo, mas também, por já ser caracterizada como uma espécie exótica, que se tornou invasora, e é apresentada como fator impactante na redução fahnística de invertebrados aquáticos e da ictiofauna nacional. Sua limitação de temperatura está na faixa mínima de 8°C e máxima de 42°C, e com relação a oxigênio dissolvido, é uma espécie com alta tolerância em ambientes com baixos níveis de oxigenação na água (LATINI et al., 2016). Ao longo dos anos, as espécies de tilápias estão sendo utilizadas em diversos estudos, possibilitando avaliar a saúde dos ecossistemas aquáticos, seja para monitorar processos de contaminação por agrotóxico (HENRY; KISHIMBA, 2006; ARIAS et al., 2007), poluição de bacias hidrográficas e rios (ERGENE et al, 2007; MOTA et al., 2009; OSMAN et al., 2012; BÜCKER; CONCEIÇÃO, 2012; CARVALHO et al., 2012) ou ainda, indicando a presença de poluição por esgotamento urbano (CABANELAS; MOREIRA, 2012), contaminação por metais pesados (BIRUNGI et al., 2007; EL-SHEHAW et al., 2007; AUTHMAN et al, 2012; OMAR et al., 2013), e a poluição de áreas que estão sobre influência de efluentes industriais (SOUZA; FONTANETTI, 2006; HOSHINA et al., 2008).

### **2.3. Biomarcadores**

Biomarcadores ou marcadores biológicos, são respostas biológicas geradas em função da exposição a um ambiente químico, capazes de representar a dimensão da exposição e, em

algumas ocasiões, os efeitos dessa exposição. Tais respostas podem ser a nível celular, molecular e de organismo (WALKER, 1995).

A utilização de análises de biomarcadores como ferramenta para realização de estudos sobre impactos ambientais, trouxe grande auxílio para os programas de monitoramento, pois permitiram identificar interações ocorrentes entre contaminantes e organismos vivos e desse modo ficou possível a mensuração de efeitos subletais (JESUS; CARVALHO, 2008). A popularidade do termo vem aumentando com o passar dos anos, isso também desencadeou um aumento na aplicabilidade desses biomarcadores (BENFORD et al., 2000).

Alguns biomarcadores também são vantajosos por possuírem metodologias de fácil desenvolvimento e que são bem fundamentadas, além de não serem dispendiosos, são sensíveis e promovem a obtenção de resultados em um espaço de tempo relativamente curto (FREIRE et al., 2008). Assim, também fornecem conhecimentos e evidências científicas necessárias para o desenvolvimento de políticas públicas que visem aplicar medidas de prevenção e a exercer uma prática de controle aos agentes químicos ambientais (AMORIM, 2003).

Algumas variáveis, tais como os dados bioquímicos, podem ser empregadas no diagnóstico de determinadas enfermidades em animais. Entretanto, para algumas categorias ainda existe a escassez de trabalhos (BORSA et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2016). Estima-se que ao serem interpretados de modo adequado, os valores de testes bioquímicos podem oferecer informações valiosas sobre o estado de saúde dos animais, determinando como estes encontram-se clinicamente (GONZÁLEZ et al., 2001).

Diferentes espécies de organismos aquáticos estão sendo estudados com o objetivo de quantificar a ação enzimática na presença de poluentes, notando-se que além de alterações no teor dessas enzimas tem-se também diferentes características de respostas a depender do organismo (VALAVANIDIS et al., 2006). Dentre estes, pode-se citar os mexilhões *Perna perna* (PEREIRA et al., 2007) e *Mytilus galloprovincialis* (TIM-TIM et al., 2009), os gastrópodes *Nucella lapillus* e *Monodonta lineata* (TIM-TIM et al., 2009), os caranguejos *Carcinus maenas* (GHEDIRA et al., 2011) e *Carcinus aestuarii* (RICCIARDI et al., 2010), o camarão *Litopenaeus vannamei* (WANG et al., 2012) e os peixes *Oreochromis niloticus* (FRANCO et al., 2010) e *Cathorops spixii* (AZEVEDO et al., 2013).

#### **2.4. Antioxidantes**

Os antioxidantes são compostos cuja função é reduzir ou inibir as avarias que os radicais livres podem vir a causar nas células. Podendo estar classificados como agentes antioxidantes

não-enzimáticos ou agentes antioxidantes enzimáticos, também denominados como protetores (BHATTACHARYA, 2015; BIANCHI; ANTUNES, 1999). Para facilitar a eliminação de compostos tóxicos que ofereçam riscos à saúde, o organismo, por meio de processos metabólicos, tenta produzir substâncias com hidrossolubilidade maior, adicionando alguns grupos funcionais, tais como –OH, –COOH ou –SH, mais facilmente abolíveis (GONÇALVES et al., 2014).

As células possuem mecanismos de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (EROs) e tais defesas são em grande parte proporcionadas por enzimas detoxificantes, como as Catalases e as Glutationas (BAYR, 2005). O peróxido de hidrogênio, por exemplo, é degradado, sendo transformado em água e oxigênio quando na presença da catalase (KRÖTZ et al., 2004).

Essas espécies reativas de oxigênio possuem grupos radicais com extremidades livres. Para um melhor entendimento, ao se referir a radicais livres, faz-se menção a moléculas, átomos ou qualquer outro componente que possua determinada instabilidade na sua distribuição de elétrons e por essa razão possuem alta reatividade. Na tentativa de se estabilizar, estes acabam reagindo com outros átomos ou moléculas podendo desencadear ações com capacidade de ocasionar danos as estruturas dos organismos (VASCONCELOS et al., 2007; BHATTACHARYA, 2015).

Por esse motivo, as células desenvolveram uma série de linhas de defesa antioxidantes, tais como o impedimento das reações em cadeia com os elementos cobre e ferro, a utilização de fontes exógenas como as vitaminas A, C e E, que atuam na interceptação de radicais livres e o aumento da produção de enzimas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

## **2.5. Glutathione S-Transferase**

Com a ampliação dos conhecimentos sobre função e estruturas da família das Glutationas, foi possível descobrir novas classes dessas enzimas, não apenas nos mamíferos, mas também em vários outros organismos. Descobriu-se também que as enzimas desta família possuem vastas funções, que vão desde a remoção de espécies reativas de oxigênio até a catálise de conjugação e regeneração proteica (WILCE; PARKER, 1994; SHEEHAN et al., 2001).

A Glutathione S-Transferase (GST) é uma enzima que está envolvida em processos de formação de conjugados envolvendo a Glutathione reduzida (GSH) e xenobiótico, para que estes sejam eliminados do organismo (HERMES-LIMA, 2004). Atuando nas duas primeiras linhas defensivas do organismo, a Glutathione reduzida (GSH) é um tripeptídeo de extrema importância envolvida em processos de remoção de compostos perigosos para a célula. A GSH tem na GST

sítios de ligação altamente específicos, o que favorece sua ligação à enzima de conjugação. Outro fator crucial para GST, que a torna uma importante enzima de fase II, é a sua inespecificidade com os xenobióticos, tornando-a eficaz na defesa do organismo contra várias substâncias tóxicas, provindas de reações que sofreram envolvimento com espécies reativas de oxigênio (EROs). Isso impede a destruição de componentes celulares, e a consequente morte da própria célula (WILCE; PARKER, 1994; HAYES; MCLELLAN, 1999).

A ampliação dos estudos sobre o grupo das GSTs aponta que estas enzimas também podem ser encontradas em organelas, tais como mitocôndrias e peroxissomos, ainda que originalmente descritas como citosólicas, por inicialmente terem sido descobertas em frações solúveis no organismo. Tais estudos também permitiram avaliar os mecanismos indutores da atividade da GST, isso possibilitou o reconhecimento de que, ao longo do processo evolutivo, tal enzima tenha sido estruturalmente moldada para agir na contenção do estresse oxidativo (HAYES et al., 2005; MANNERVIK et al., 2005).

Ao longo dos anos, diversos estudos tentam apontar por meio de análises bioquímicas, alterações na atividade cinética da enzima GST hepática de peixes coletados ou expostos a água de ambientes com possíveis focos de poluição, como é possível encontrar nos estudos de Arojojoye; Adeosun (2016) os quais utilizaram o peixe de gato africano (*Clarias gariepinus*) como bioindicador, Kammann et al. (2013), que utilizaram uma espécie de enguia (*Anguilla anguilla*), Osório et al. (2013) utilizando o peixe acará (*Geophagus brasiliensis*) e Pandey et al. (2003) tendo como bioindicador o peixe gato (*Wallago attu*).

## 2.6. Catalase

A catalase (CAT) é uma enzima responsável por catalisar a reação que tem a finalidade de decompor o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que eventualmente é gerado pela dismutação do superóxido, ação realizada pela enzima superóxido-dismutase (SOD). O  $H_2O_2$  é então convertido duas moléculas de água ( $H_2O$ ) e uma de oxigênio molecular ( $O_2$ ), seguindo a expressão:  $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ , processo que ocorre em dois estágios distintos, cujos mecanismos envolvidos para a quebra da molécula de  $H_2O_2$  vai depender do tipo de catalase que estará envolvida na reação (HERMES-LIMA, 2004; CHELIKANI et al., 2004; SINDHU et al., 2005). Ao inativar o peróxido de hidrogênio, a catalase evita que uma vasta quantidade de subprodutos, procedentes de reações de oxidoredução sejam formados (FERRO et al., 2010).

A enzima catalase possui elevada especificidade ao seu substrato, ligando-se apenas ao  $H_2O_2$  ou ao hidroperóxido monoalquílico (MAEHLI; CHANCE, 1954), assim a ação desta

enzima torna-se um dos principais meios de decomposição destes compostos. Valko et al. (2007) comentam que o peroxissoma tem a capacidade de equilibrar a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que é produzido durante o consumo de oxigênio em reações metabólicas, essa organela também regula o teor da enzima catalase que é produzida. Em caso de lesões na estrutura dessas organelas, inicia-se o processo de extravasamento do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, contribuindo para ocorrência de estresse oxidativo.

Espécies animais, a exemplo da *O. niloticus*, são utilizadas no monitoramento de áreas poluídas. Durante os monitoramentos, a ocorrência de variações na atividade da catalase, pode tornar possível a confirmação do alto grau de poluição de determinada área (BAINY et al., 1996; COGO et al., 2009; SANTANA et al. 2018). Estudos realizados por Fonseca et al. (2002) apontaram alterações na atividade da enzima catalase do peixe Birú (*Cyphocharax saladensis*) nos pontos onde a influência de atividades antrópicas era visivelmente mais intensa. Esse resultado pode reforçar a interpretação de que animais que vivem em ambientes com valores altos de contaminação, tendem a desenvolver respostas para reduzir os efeitos do estresse.

Outros trabalhos também tentaram realizar uma interpretação da qualidade ambiental com base na atividade hepática da enzima catalase; Vaseem e Banerjee (2016) conseguiram comprovar a ocorrência de estresse oxidativo em carpa indígena (*Labeo rohita*) ao identificar alterações na atividade da catalase e de outras enzimas. Batista et al. (2014), utilizando o Lambari (*Astyanax bimaculatus*) como bioindicador e a catalase como um dos biomarcadores, buscou avaliar a qualidade de um ecossistema aquático.

O mesmo foi realizado por Franco et al. (2010) e Wilhelm Filho et al. (2001), os quais fizeram uso deste biomarcador para avaliar possíveis alterações em ambientes aquáticos. Estudos que visam identificar os efeitos de metais em peixe também usam a catalase como um biomarcador que pode apontar os riscos destes compostos em determinadas concentrações, como pode ser encontrado em Atli e Canli (2010), Crestani et al. (2006) e Loveline et al. (2018).

## **2.7. Parâmetros físico-químicos da água**

O CONAMA é o órgão consultivo e deliberativo, que faz parte do Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA), sua finalidade é estudar, propor e assessorar políticas governamentais para o cuidado com o meio ambiente e com os recursos naturais, por meio do estabelecimento de normas e padrões que visem garantir o equilíbrio ambiental. Esse órgão teve sua instituição estabelecida pela Lei 6.938/81, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, a qual é regulamentada pelo Decreto 99.274/90 (BRASIL, 1981).

Nos últimos anos, o Brasil está tentando, de modo inovador, se disciplinar no que diz respeito a questões ambientais. E isso, em grande parte, deve-se ao estabelecimento normativo operado pelo CONAMA. Dentre as preocupações deste órgão, está o controle da poluição ambiental, motivo que levou a criação de diversas resoluções (CONAMA, 2012). Entre essas temos a resolução número 357 de 17 de março de 2005 publicada no diário oficial da união, de número 053 de 18 de março 2005, a qual dispõe sobre a classificação dos corpos d'água, bem como os valores ideais para seus parâmetros físico-químicos, e as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, lei regulamenta também o padrão para o lançamento de efluentes (CONAMA, 2005).

Fatores físico-químicos são utilizados como métodos para avaliação e monitoramento da qualidade da água. Alguns destes fatores são usados para calcular o índice de qualidade da água. Os padrões de qualidade dos corpos hídricos são estabelecidos com o intuito de obter um controle de poluição e limitar a quantidade em que determinadas substâncias poderão se apresentar em um corpo d'água (CARVALHO et al., 2000; PAIVA; SOUZA, 2010).

A incorporação de matéria orgânica nos ecossistemas aquáticos pode promover a diminuição do oxigênio dissolvido nesses ambientes. Visto que, efluentes ricos em matéria orgânica resultam no aumento da taxa respiratória de diversos micro-organismos, conduzindo a elevação da quantidade de metano e CO<sub>2</sub> na água, e tornando comum nesses ambientes a urgente demanda por oxigênio (FIORUCCI; BENEDETTI FILHO, 2005). Outro fator que pode estar envolvido com formação característica de um ambiente aquático é a temperatura. Esta, pode exercer influência na caracterização química da água, podendo determinar a forma com a qual um composto químico pode se apresentar. Isso implica na velocidade das reações químicas, solubilidade de substâncias e no metabolismo dos organismos no meio aquático (MEYER, 1994; BRASIL, 2014).

A presença ou quantidade de substâncias na água, sejam estas por influências naturais ou artificiais, também podem alterar a intensidade do potencial hidrogeniônico (pH) o qual determina as condições de acidez e alcalinidade de um líquido (BRASIL, 2014).

O transporte de elétrons na água, também é uma variável medida em estudos de qualidade da água, como encontrado em Silva et al. (2008), Silva et al. (2011) e Looock-Hattingh et al. (2015). Essa capacidade da água em realizar a condução de corrente elétrica é denominada de condutividade elétrica. Este parâmetro possui ligação com a quantidade de íons presentes na no corpo hídrico. A relação da quantidade de íons e a condutividade elétrica, pode ser descrita como diretamente proporcional, deste modo a medida que a condutividade elétrica aumenta, a quantidade de íons dissolvidos também tenderá a aumentar (SOUZA et al., 2010). Essa variável

pode apresentar uma relação com a salinidade, pois a condutividade representa a quantidade de sais dispostos na água (OLIVEIRA et al., 2010). Boeuf e Payan (2001) citam a importante função da salinidade como um dos fatores determinantes ao crescimento de peixes.

## **2.8. Rio Chapadinha**

O rio Chapadinha nasce no ponto de coordenadas 12°40'21"S e 39°7'32"W, e flui até chegar ao ponto de coordenadas 12°38'54"S; 39°2'40"W, local onde encontra sua foz, no rio Capivari (CONERH, 2010). O rio Chapadinha está localizado no município de Cruz das Almas, no recôncavo da Bahia. O rio teve seu enquadramento transitório estabelecido na resolução de número 79 de 18 de novembro de 2010, pelo Conselho Estadual de Recursos Hídricos – CONERH. Assim, além da sua trajetória, foi estabelecida também a sua classificação, com base no teor de sais disponíveis e na sua destinação de uso. O rio foi definido como pertencente à categoria de água doce, dentro da classificação de número 2 (CONERH, 2010).

Os corpos hídricos dulcícolas que se encontram na classe 2, tem por característica possuir salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰, além disso, seu uso pode ser destinado ao abastecimento para consumo humano. Caso receba tratamento adequado, pode servir à proteção dos organismos aquáticos, também podendo ser utilizada na irrigação de vegetais, atividades aquícolas e recreativas (CONAMA, 2011).

Não há muitas informações sobre o rio Chapadinha, o que visualmente se contempla é um corpo hídrico com baixa profundidade, trechos encobertos pela vegetação, onde quase não se nota a presença de água, outros bastante antropizados, com presença de resíduos sólidos em seu entorno. A principal atividade notada próxima aos pontos onde este estudo foi realizado foi o uso da água na dessedentação de animais, mais precisamente cavalos e a criação de gado. A instalação recente de uma estação de tratamento de esgoto nas proximidades do rio Chapadinha tem atraído a atenção para esse corpo hídrico, na busca pela interpretação sobre o tipo de influência que este tipo de empreendimento pode trazer para o rio, e para os demais corpos d'água ligados a este.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

O objetivo desse trabalho foi identificar o nível de degradação aquática de diferentes pontos do rio Chapadinha, Cruz das Almas (BA), utilizando como marcadores a atividade das enzimas hepáticas Glutathione S-Transferase (GST) e Catalase (CAT) e os parâmetros abióticos da água (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Determinar a atividade da enzima Glutathione S-Transferase (GST) no fígado dos peixes após 96 horas exposição às amostras de água do rio Chapadinha;
- Determinar a atividade da enzima Catalase (CAT) no fígado dos peixes após 96 horas exposição às amostras de água do rio Chapadinha;
- Identificar o ponto mais degradado utilizando os resultados dos biomarcadores bioquímicos de tilápias (GST e CAT).
- Observar a ocorrência de diferenças significativas nos resultados dos animais expostos a água coletada nos diferentes pontos do rio Chapadinha e do grupo controle.
- Comparar os parâmetros abióticos da água (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade) com os dados preconizados pelo CONAMA.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1. Aquisição dos bioindicadores**

As tilápias foram fornecidos pela Aquavale piscicultura, Ituberá, BA. Um total de 250 animais ( $15,56 \pm 3,27$  g e  $9,79 \pm 0,72$  cm) foram acomodados em sacos plásticos contendo oxigênio, e cuidadosamente transferidos para o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA), no Setor de Ciências Biológicas “Prof. Elinsmar Adorno” da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). No laboratório, os peixes foram transferidos gradualmente para tanques de polietileno com capacidade para 250 L de água e com sopradores de ar.

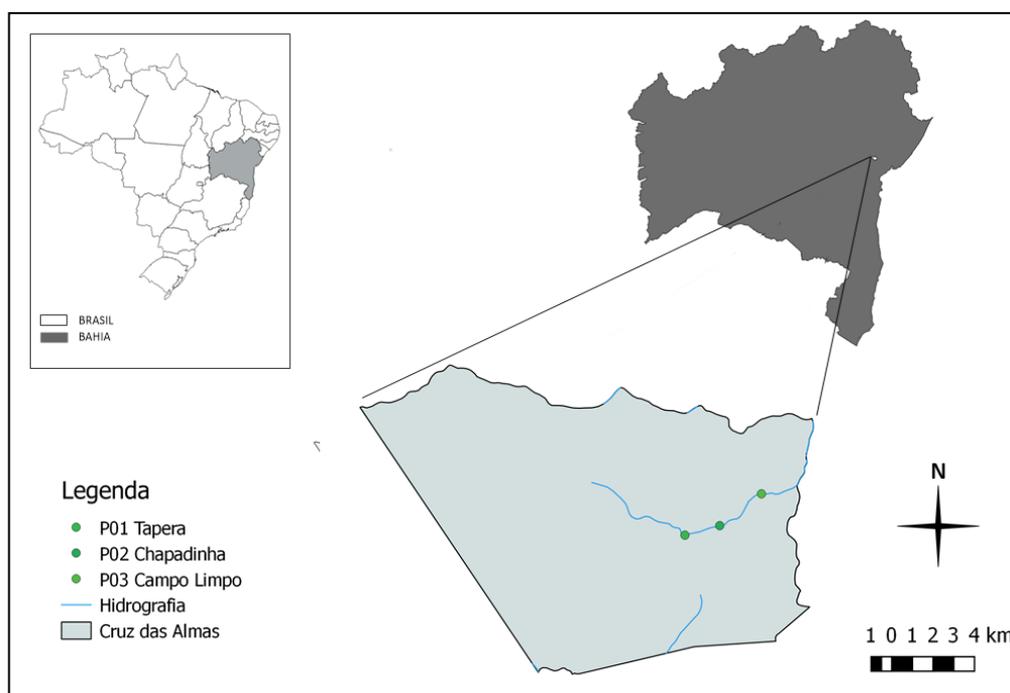
Os animais passaram por período de aclimação de 15 dias, com fotoperíodo controlado (12 horas claro/ 12 horas escuro), temperatura ambiente (28°C) e alimentação *ad libitum*.

Durante o período de aclimação foram feitas trocas parciais da água dos tanques e diariamente os tanques foram sifonados para retirada de dejetos.

## 4.2. Área de estudo

Para a realização do estudo, escolheu-se 3 pontos do rio Chapadinha, localizado no município de Cruz das Almas, BA (Figura 2).

**Figura 2.** Mapa do Brasil, com destaque para o estado da Bahia. No detalhe, o município de Cruz das Almas e os pontos de coleta de água no rio Chapadinha: Tapera (P01), Chapadinha (P02) e Campo Limpo (P03), que foram utilizadas em testes ecotoxicológicos (96 horas) com tilápias (*O. niloticus*).



O primeiro ponto possui as coordenadas latitudinais  $12^{\circ}41'29.05''S$  e longitudinais  $39^{\circ}5'27.03''O$  e está situado no bairro da Tapera (Figura 3), na lateral direita do rio Chapadinha. Esse ponto caracteriza-se por extensa área de pastagem, intercaladas por árvores, e vegetação ribeirinha.

**Figura 3.** Local da coleta de água no rio Chapadinha (Cruz das Almas, BA), no bairro da Tapera, para realização de testes ecotoxicológicos (96 horas) com tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio.



O segundo ponto, de coordenadas latitudinais  $12^{\circ}41'16.60''S$  e longitudinais  $39^{\circ}44'1.06''O$ , fica no entorno da estação de tratamento de esgoto doméstico, no bairro da Chapadinha (Figura 4), a margem esquerda do rio. O local de coleta encontra-se encoberto por macrófitas, ocultando o leito do rio e dificultando o acesso. No entorno encontra-se uma área de pasto, com a presença de animais.

**Figura 4** Local da coleta de água no rio Chapadinha (Cruz das Almas, BA), no bairro da Chapadinha, para realização de testes ecotoxicológicos (96 horas) com tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio.



O terceiro ponto, cujas coordenadas latitudinais e longitudinais são  $12^{\circ}40'35.09''S$  e  $39^{\circ} 3'46.04''O$  respectivamente, está localizado dentro da fazenda Campo Limpo (Figura 5), que fica alguns metros do bairro da Sapucaia e faz divisa com a UFRB. Nesse ponto observa-se uma vegetação rasteira, com a presença de algumas árvores. Também foi notada a presença de um grande número de macrófitas no curso do rio.

**Figura 5** - Local da coleta de água no rio Chapadinha (Cruz das Almas, BA), na fazenda Campo Limpo, para realização de testes ecotoxicológicos (96 horas) com tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador. A seta indica o curso do rio.

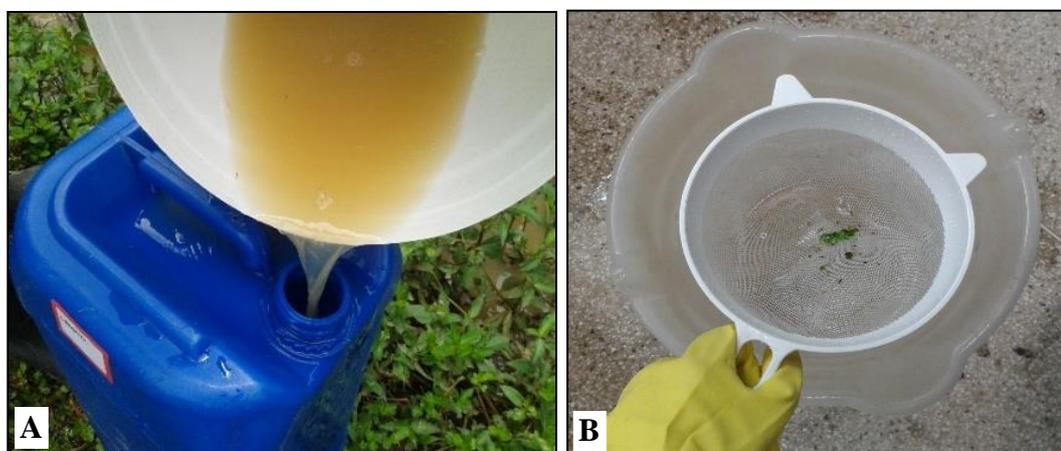


### 4.3. Coleta da água

Para a realização dos testes ecotoxicológicos, em cada ponto de amostragem foram realizadas duas coletas de água: em dezembro de 2017 e janeiro de 2018. No momento da coleta da água nos pontos selecionados, foram determinados os parâmetros (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade) com auxílio de uma sonda multiparâmetro da marca Hanna, modelo HI9828.

As amostras de água foram coletadas com o auxílio de baldes e galões de 30 L<sup>-1</sup> (Figura 6A) e na sequência foram transportadas para Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA), no Setor de Ciências Biológicas “Prof. Elinsmar Adorno” da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), onde foram peneiradas para retirada de partículas sólidas contidas na água. Após o processo de remoção das partículas maiores (Figura 6B), as amostras de água foram distribuídas em aquários de vidro (30 L<sup>-1</sup>) compondo os seguintes grupos: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo.

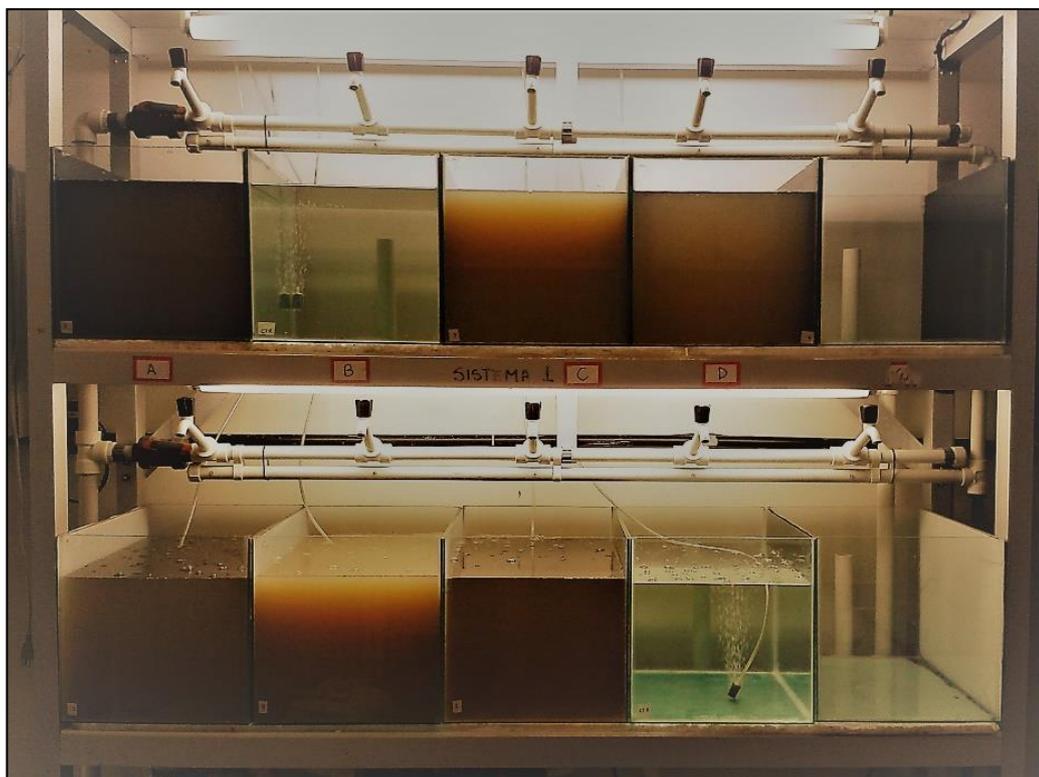
**Figura 6.** Coleta (A) e triagem (B) da água dos pontos amostrados da Tapera, Chapadinha, Campo Limpo utilizadas em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas, utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador.



Concomitantemente, um aquário serviu como grupo controle (CTR), contendo apenas água proveniente do sistema de abastecimento do laboratório. Para cada grupo foi realizado uma réplica, totalizando assim 8 tratamentos.

Os peixes foram transferidos individualmente para os aquários com auxílio de redes, totalizando 10 indivíduos por aquário. Como para cada grupo foi montada uma réplica, o número final de organismos por grupo foi igual a 20. Os grupos foram dispostos casualmente em um sistema de aquários de 30 L<sup>-1</sup> (Figura 7), com controle do fotoperíodo (12 horas claro/ 12 horas escuro) e oxigenação por sopradores de ar.

**Figura 7.** Sistema de aquários com água coletada em diferentes pontos do rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha, Campo Limpo, utilizadas em testes ecotoxicológicos com duração de 96 horas de exposição utilizando tilápias (*O. niloticus*) como organismo bioindicador.



O teste realizado foi do tipo estático (sem renovação de água) e com duração de 96 horas. Durante esse período os animais não foram alimentados e os parâmetros abióticos da água: oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade foram medidos diariamente, com auxílio de sonda multiparâmetro (Hanna, HI9828). Os valores estão dispostos nas Tabelas 1, para os experimentos realizados no mês de dezembro de 2017 e janeiro de 2018.

**Tabela 1.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água coletadas nos 3 diferentes pontos do rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Dados correspondem a média  $\pm$  desvio padrão dos valores obtidos em 24, 48, 72 e 96 horas do início do teste. O CTR indica grupo controle: água de abastecimento.

Pontos de Coleta	Dados Abióticos do Experimento 1 – dezembro de 2017				
	Oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C)	Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )	Salinidade (‰)
CTR	4,03 $\pm$ 1,75	7,38 $\pm$ 0,55	26,73 $\pm$ 1,08	426,3 $\pm$ 65,43	0,20 $\pm$ 0,03
Tapera	4,52 $\pm$ 1,43	7,94 $\pm$ 0,65	26,53 $\pm$ 0,98	934,5 $\pm$ 256,04	0,46 $\pm$ 0,13
Chapadinha	5,36 $\pm$ 0,47	7,87 $\pm$ 0,20	26,62 $\pm$ 0,98	510,03 $\pm$ 193,55	0,28 $\pm$ 0,03
Campo Limpo	5,75 $\pm$ 0,41	8,12 $\pm$ 0,28	26,51 $\pm$ 0,79	724 $\pm$ 115,85	0,34 $\pm$ 0,07
Pontos de Coleta	Dados Abióticos do Experimento 2 – janeiro de 2018				
	Oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C)	Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )	Salinidade (‰)
CTR	3,67 $\pm$ 0,63	7,38 $\pm$ 0,27	26,21 $\pm$ 1,04	372,75 $\pm$ 26,61	0,17 $\pm$ 0,01
Tapera	3,95 $\pm$ 0,47	8,13 $\pm$ 0,12	26,99 $\pm$ 0,88	775,25 $\pm$ 140,51	0,37 $\pm$ 0,07
Chapadinha	4,24 $\pm$ 0,29	8,43 $\pm$ 0,79	26,92 $\pm$ 0,94	842,5 $\pm$ 183,57	0,41 $\pm$ 0,09
Campo Limpo	4,08 $\pm$ 0,19	8,18 $\pm$ 0,10	27,02 $\pm$ 0,87	877,25 $\pm$ 104,30	0,43 $\pm$ 0,08

Os dados pluviométricos e as temperaturas referentes aos períodos da coleta foram adquiridos no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), foi feito o somatório do volume de chuva de 15 dias antes até o dia da primeira coleta, e dos dias subsequentes até a data de realização da segunda coleta, e a temperatura foi registrada nos dias cada amostragem.

#### 4.4. Coleta do material biológico

Ao término do período de exposição (96 h), os animais foram retirados individualmente dos aquários e analgesiados por hipotermia. Para tanto, foram transferidos para um balde contendo água e gelo, onde permaneceram até redução da atividade natatória e redução do batimento opercular, averiguados por observação e via tentativas de estímulo com bastão de vidro. Na ausência da demonstração de sensibilidade evidente, os organismos foram, rapidamente, retirados da situação hipotérmica e envoltos em pano úmido. Em seguida realizou-se a eutanásia por secção medular, seguida da abertura cirúrgica da região ventral para remoção do fígado, que foi utilizado para as análises dos biomarcadores bioquímicos.

Os fígados dos animais foram acondicionados em microtubos (Eppendorf) rotulados e imediatamente levados ao ultrafreezer (Sanyo, MDF-U33V) a -80°C, onde permaneceram

congelados até o momento das análises. Em seguida, foram anotados os valores de massa corpórea (mg), comprimento total e comprimento padrão (cm) dos animais utilizados nos testes.

#### **4.5. Preparação das amostras**

Para a determinação dos biomarcadores bioquímicos, o fígado retirado dos organismos foi pesado ainda congelado e em seguida, disposto em becker sobre superfície resfriada, onde adicionou-se ao recipiente o tampão fosfato de potássio, pH: 7,0 com o volume correspondente a 10 vezes o valor do peso do fígado. Na sequência o fígado foi macerado até se caracterizar em uma solução homogênea. Com o auxílio de um micropipetador monocanal (Discoveri Comfort, DV1000), essa solução foi transferida para microtubos criogênicos (Eppendorf) e centrifugada durante 25 minutos, com rotação de 12000 RPM, na temperatura de 4°C em microcentrifuga refrigerada (Hettich, Mikro 220R). Após esse procedimento, o sobrenadante foi separado com auxílio de micropipetador e armazenado novamente no ultrafreezer, para posterior determinação da atividade cinética das enzimas Glutathione S-Transferase e Catalase e para a determinação da concentração de proteínas totais hepáticas.

#### **4.6. Biomarcadores bioquímicos**

A atividade da GST foi determinada segundo o método descrito por Keen et al (1976), método baseado na catalisação da reação de conjugação do substrato 1-26 cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) com a glutathione reduzida (GSH) pela GST, o que resulta em um tio éter. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis (Biochom, Libra S32 PC) utilizando o software Reaction kinetics, no comprimento de onda de 340 nm, usando cubetas de acrílico com quatro lados ópticos.

A atividade cinética da catalase (CAT) hepática foi avaliada pelo método de Aebi (1984). O método se baseia na degradação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) exógeno, pela CAT, gerando como subproduto a água e o oxigênio. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro UV/Vis, utilizando o software Reaction kinetics, no comprimento de onda de 240 nm, usando cubetas de quartzo.

A atividade das enzimas GST e CAT hepáticas é baseada na quantidade de proteínas totais do fígado. Para tanto, a quantificação da concentração de proteínas totais hepáticas foi realizada com kits comerciais (Interkit), utilizando a solução de biureto (reagente), solução padrão e o zero (água destilada). Após as preparações das amostras, estas foram homogeneizadas em vórtex e colocadas em repouso por um período de 15 minutos, em seguida

fez-se a transferência do conteúdo para cubetas de acrílico com quatro lados ópticos, e a leitura foi realizada em espectrofotômetro UV/Vis, com comprimento de onda de 545 nm.

Os valores da atividade das enzimas GST e CAT foram expressos em micromolar por minuto a cada miligrama de proteínas ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>).

#### **4.7. Análise estatística**

O resultado foi submetido à análise de variância (ANOVA) utilizando o software estatístico PAST versão 2.17 C. Na ocorrência de variações entre as médias ( $p < 0,05$ ) o teste de TUKEY foi aplicado para identificar os grupos que se distinguem (HAMMER et al., 2001).

### **5. RESULTADOS**

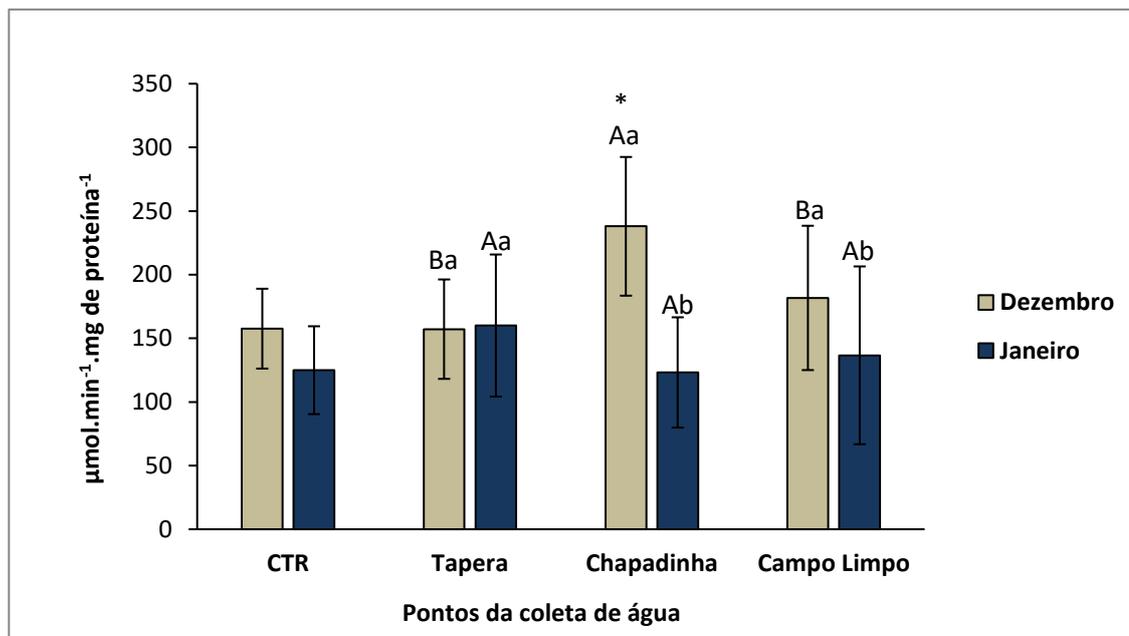
#### **5.1. Dados pluviométricos**

O observado para o índice pluviométrico, foi a ocorrência de um volume de chuva de 101,8 mm e 60,8 mm na primeira e segunda amostragem, respectivamente. Também foram registradas as médias de temperaturas máximas ambientais, dos meses de dezembro e janeiro, sendo 26,04°C e 25,40°C, respectivamente, às quais não diferiram muito das temperaturas encontradas na água do rio Chapadinha.

#### **5.2. Biomarcadores bioquímicos**

No primeiro teste (dezembro de 2017), a maior atividade da enzima GST ( $237,98 \pm 54,48 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) foi observada nos peixes expostos durante 96 h a água da Chapadinha, quando comparado com os resultados dos pontos Tapera ( $157,20 \pm 39,05 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>;  $p < 0,001$ ) e Campo Limpo ( $181,73 \pm 56,68 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>;  $p < 0,01$ ). A atividade hepática da GST dos peixes expostos a água da Chapadinha também foram significativamente maior que a dos animais do grupo controle ( $157,59 \pm 31,36 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>;  $p < 0,001$ ), que foram expostos a água de abastecimento do laboratório. Os grupos da Tapera, Campo Limpo e o controle não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). Nos experimentos realizados em janeiro de 2018, a atividade da GST das tilápias foi igual para os peixes expostos aos diferentes pontos do rio Chapadinha (Figura 8).

**Figura 8.** Valores médios da atividade hepática da enzima Glutationa-S-Transferase (GST) em *O. niloticus* após 96 horas de exposição a água do rio Chapadinha, Cruz das Almas, (BA) em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Colunas indicam médias e barra vertical indica  $\pm$  desvio padrão, com  $n = 20$ . Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos na mesma amostragem. Letras minúsculas indicam diferenças entre os experimentos. (\*) indica variação em relação ao controle.

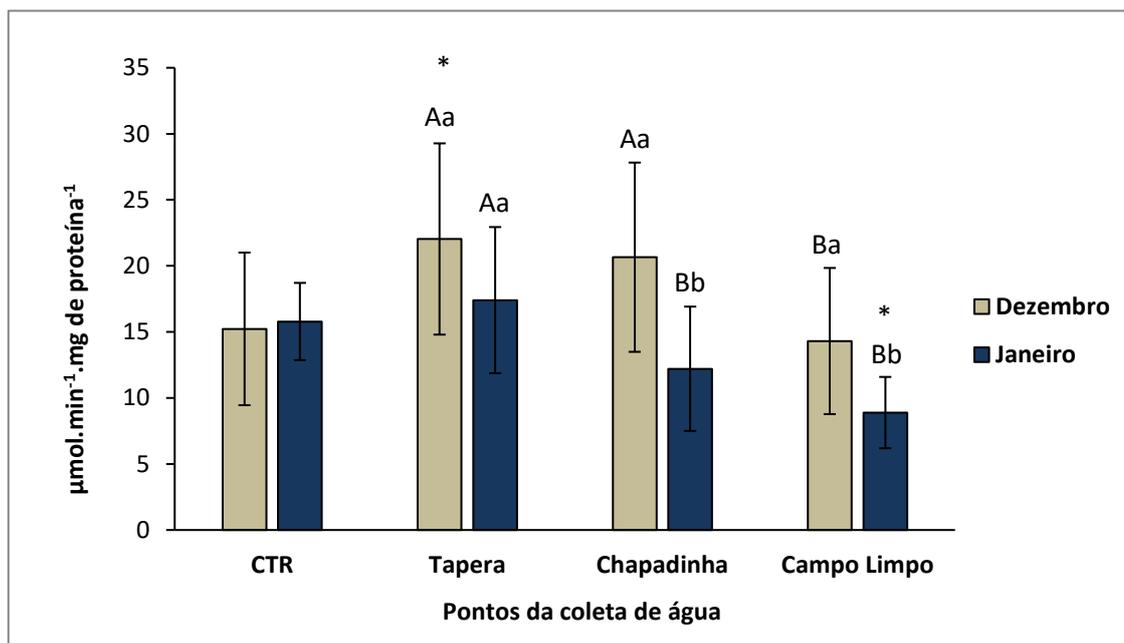


Na comparação entre as datas de realização dos testes (dezembro e janeiro), observa-se que a atividade da GST foi maior nos peixes expostos a água da Chapadinha ( $237,98 \pm 54,48 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,001$ ) e Campo limpo ( $181,73 \pm 56,68 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ) no mês de dezembro de 2017, quando comparados respectivamente, com janeiro de 2018 ( $123,19 \pm 43,34 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$  e  $136,65 \pm 69,83 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ). Não houve diferença significativa na atividade da GST hepática dos peixes expostos à água do ponto da Tapera entre os meses de amostragem ( $p > 0,05$ ) (Figura 8).

Para a atividade da CAT (Figura 9), nos experimentos realizados em dezembro de 2017, notou-se que a atividade dessa enzima foi significativamente maior nos animais expostos a água da Tapera ( $22,04 \pm 7,24 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ), quando comparado com os resultados de exposição ao ponto do Campo Limpo ( $14,31 \pm 5,53 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,01$ ) e ao grupo controle ( $15,23 \pm 5,78 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ). Os dados para o experimento no ponto da Chapadinha ( $20,66 \pm 7,16 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ) e Campo Limpo também foram significativamente distintos entre si ( $p < 0,05$ ). A atividade da enzima

não diferiu entre os organismos expostos a água do ponto da Tapera e aqueles do ponto da Chapadinha ( $p > 0,05$ ).

**Figura 9.** Valores médios da atividade hepática da enzima Catalase (CAT) em *O. niloticus* após 96 horas de exposição a água do rio Chapadinha, Cruz das Almas, (BA) em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Colunas indicam médias e barra vertical indica  $\pm$  desvio padrão, com  $n = 20$ . Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos na mesma amostragem. Letras minúsculas indicam diferenças entre os experimentos. (\*) indica variação em relação ao controle.



No experimento realizado em janeiro de 2018, a menor atividade da CAT foi observada nos organismos expostos a água do ponto da fazenda Campo Limpo ( $8,89 \pm 2,70 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ) e Chapadinha ( $12,21 \pm 4,71 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ) quando comparados com os resultados da exposição a água da Tapera ( $17,41 \pm 5,53 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,01$ ). Os resultados da atividade da CAT referente a exposição a água da fazenda Campo Limpo também foram significativamente menores quando comparados com o grupo controle ( $15,79 \pm 2,92 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $p < 0,001$ ). A atividade da enzima nos organismos do controle e da Tapera não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ). Na comparação entre os meses em cada ponto, observa-se a menor atividade da CAT foi observada no mês de janeiro de 2018, nos pontos da Chapadinha ( $p < 0,001$ ) e Campo Limpo ( $p < 0,001$ ) (Figura 9).

### 5.3. Parâmetros abióticos da água

Na Tabela 2. estão apresentados os valores dos dados abióticos da água de cada ponto de coleta no rio Chapadinha, durante o primeiro experimento, realizado em dezembro de 2017. Com os resultados pode-se observar que a concentração de oxigênio dissolvido foi praticamente zero nos pontos da Tapera e Chapadinha. O maior valor de oxigênio dissolvido foi no ponto do Campo Limpo, enquanto que, no mesmo ponto foram observados os maiores valores de condutividade e salinidade. A temperatura da água não variou de maneira expressiva entre os pontos de coleta da água.

**Tabela 2.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água nos pontos de coleta no rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, amostrados em dezembro de 2017.

Pontos de Coleta	Dados Abióticos do Experimento 1 – dezembro de 2017				
	Oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C )	Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )	Salinidade (‰)
Tapera	0,20	7,8	25,7	721	0,3
Chapadinha	0,17	7,4	25,6	515	0,2
Campo Limpo	2,24	7,8	26,4	784	0,4

Nas medições referentes ao mês de janeiro de 2018 (Tabela 3), o oxigênio dissolvido na água dos pontos coletados, baixou ao extremo, chegando a ser registrado situações anóxicas nos pontos da Tapera e da Chapadinha. O ponto da fazenda Campo Limpo, novamente, apresentou maior concentração de oxigênio dissolvido e os maiores valores de pH, condutividade elétrica, temperatura e salinidade.

**Tabela 3.** Valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água nos pontos de coleta no rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, amostrados em janeiro de 2018.

Pontos de Coleta	Dados Abióticos do Experimento 2 – janeiro de 2018				
	Oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C )	Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )	Salinidade (‰)
Tapera	0	7,2	25,2	828	0,4
Chapadinha	0	7,1	26,2	1023	0,5
Campo Limpo	0,35	7,4	31,7	1040	0,5

## 6. DISCUSSÃO

Neste trabalho, ao analisarmos a atividade da enzima GST, pode-se perceber que sua maior atividade ocorreu nos indivíduos expostos a água do ponto de coleta que está situado no bairro da Chapadinha, um dos trechos mais antropizados no curso do rio, e que fica no entorno da estação de tratamento de esgoto da cidade de Cruz das Almas. Pandey et al. (2003), ao averiguarem a sanidade do rio Yamana, na Índia, encontraram maior atividade da enzima GST ( $1,455,06 \pm 114,95 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) nos fígados de wallago (*Wallago attu*), no ponto considerado com o maior nível de poluição.

Azevedo et al. (2013) ao realizar estudos utilizando o peixe bagre (*Cathorops spixii*) como bioindicador, conseguiram registrar as respostas antioxidantes destes animais frente a diferentes intensidades de contaminação por ações antrópicas. Segundo o autor, a atividade da enzima GST, no período do verão, foi mais elevada em indivíduos de dois, dos três pontos com níveis de danos ambientais maiores que o local referência, classificado como livre de poluição.

Resposta semelhante também foi observada por Osório et al. (2013) para a mesma estação do ano, utilizando o acará (*Geophagus brasiliensis*) como bioindicador. Em seu estudo, esses autores perceberam que a atividade da enzima GST, teve maior atividade no grupo amostrado em um local onde há intensa atividade agrícola (pouco mais de  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>). Dessa forma, podemos inferir que a maior atividade da GST hepática de peixes pode estar relacionada a ambientes aquáticos mais impactados.

A cidade de Cruz das Almas possui atividade agrícola expressiva, com atuação na produção de hortaliças, frutas, mandioca, etc. (RODRIGUES; GUEDES, 2006). Com isso torna-se importante a realização do monitoramento dos corpos hídricos presentes na cidade, visto que, o processo de escoamento superficial, pode carrear agroquímicos que poderão poluir tais ambientes. Merten e Minella (2002) salientam que a atividade agropecuária exerce uma alta influência na elevação da contaminação de mananciais. A situação ainda pode sofrer um agravamento caso o solo esteja sendo erroneamente utilizado, pois, segundo os autores, isso favoreceria a ocorrência de deflúvio superficial.

A elevação na atividade da GST hepática, muitas vezes, pode ser sinal da sua ação no mecanismo de defesa contra xenobióticos e/ou endobióticos com capacidade para danificar as células. Como tal enzima encontra-se envolvida no processo de proteção do organismo contra compostos tóxicos que podem vir a causar danos a estrutura celular (BRITO et al., 2012), o aumento na sua atividade pode indicar uma resposta frente a exposição de poluentes e contaminantes presentes no ambiente aquático, e que podem vir a causar estresse oxidativo.

Assim, para proteger o organismo, pode haver o aumento na produção de enzimas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Franco et al. (2010) ao realizarem testes *in situ* no rio do Braço (SC), registraram uma maior atividade da GST em tecido hepático de *O. niloticus* em um local com um alto nível de antropização e com forte influência industrial (cerca de 1,000  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>).

O ponto do Tapera situa-se trecho do rio Chapadinha que fica a pouco mais que 4 quilômetros da sua nascente, e assim como o ponto da Chapadinha também é bastante antropizado. Em um estudo com o peixe acará (*Geophagus brasiliensis*) pesquisadores analisaram a atividade das enzimas antioxidantes nos exemplares desta espécie, coletados em um local poluído e em outro não poluído, como resultado, puderam notar atividade mais elevada da atividade da enzima catalase ( $29,2 \pm 2,4 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) nos peixes dos locais onde havia poluição (WILHELM FILHO et al., 2001).

Franco et al. (2010) em seu estudo também encontraram maior atividade hepática da enzima catalase (em torno de 150  $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) em um local onde o desafio oxidativo apresentava-se mais elevado, o que corrobora com os resultados encontrados na primeira amostragem do presente trabalho, onde foi registrado uma maior atividade da enzima catalase ( $22,04 \pm 7,24 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) nos organismos expostos ao ponto localizado no bairro do Tapera. Tais resultado reforça a importância uso das enzimas detoxificantes como biomarcadoras, com grande potencial para ser utilizada na sinalização possíveis focos de poluição ambiental.

Uma menor atividade da enzima Catalase também pode indicar alguma interferência no processo de defesa antioxidante dos animais (JONSSON; AOYAMA, 2010). Na amostragem do mês de janeiro, atividade da enzima catalase, no tecido hepático de *O. niloticus*, declinou no grupo exposto à água no ponto da fazenda Campo Limpo ( $8,89 \pm 2,70 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>) em relação aqueles do grupo controle ( $15,79 \pm 2,92 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>). A atividade também diferiu da demonstrada nos organismos expostos a água do ponto da Tapera ( $17,41 \pm 5,53 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>).

Alguns trabalhos descrevem a diminuição da atividade cinética da enzima catalase em peixes, ao realizarem exposição deste organismos a diferentes tipos e percentuais de metais e agroquímicos, como observado por Atli e Canli (2010) após exposição de tilápias (*O. niloticus*) ao cobre e ao cromo ( $511,37 \pm 31,5 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>), e em Crestani et al. (2006) ao exporem o jundiá (*Rhamdia quelen*) ao clomazona (cerca de 1,75 e 1,85  $\text{E}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>). Jonsson e Aoyama (2010) salientaram que inibição da atividade enzimática pode ocorrer em virtude de um processo metabólico competitivo, onde enzima e xenobiótico

disputam por um substrato específico. Como a interação enzima substrato diminui, tende igualmente a diminuir o processo catalítico, e conseqüentemente há diminuição na atividade da enzima.

Por outro lado, alguns estudos realizados em rios, não conseguiram determinar a ocorrência de variação dessas enzimas, tais como o realizado no Yellow river, na China, onde pesquisadores não encontraram diferenças significativas na atividade da enzima catalase no fígado de carpas (*Cyprinus carpio*) (Huang et al, 2007). O mesmo relatado por Avci et al. (2005) que não obteve diferenças significativas na atividade da enzima catalase no tecido hepático de peixes siluros (*Silurus glanis*) coletados em pontos a jusante e montante de um empreendimento petroquímico na Turquia.

As variações nas atividades das enzimas dos peixes expostos a água coletada nos pontos da Tapera, Chapadinha e Campo Limpo pode ter sido influenciada pelo volume de chuva. Silva e Souza (2013) comentam que a intensidade, qualidade e quantidade dos materiais carreados para os corpos d'água durante a chuva podem exercer alguma influência em alguns parâmetros analisados. Em um estudo realizado no rio Paraíba do Sul (São Paulo, Brasil), Souza e Fontanetti (2006) sugeriram que a concentração de poluentes tinha dependência da precipitação, tornando-se mais diluídos com o aumento do volume de água. Corroborando com isto, Carvalho et al. (2000) concluíram que possíveis efeitos de diluição de ácidos orgânicos podem acontecer com o a ocorrência de volumes de chuva maiores.

No presente estudo, a precipitação pode ter contribuído para diminuição do valor da condutividade elétrica durante a primeira coleta, quando relacionada com a segunda, onde houve aumento desse fator em todos os pontos. Lemos et al. (2010) relataram que o aumento da condutividade elétrica da água, no estudo que realizaram, estaria associado a falta de precipitação e ao aumento na taxa de evaporação da água. Os autores também notaram que a condutividade mais elevada se deu em conjunto com uma maior concentração de sais na água. No presente estudo, o período amostrado onde o índice pluviométrico foi menor, teve-se um aumento na condutividade e na salinidade nos pontos amostrados, conforme o discutido por Lemos et al. (2010).

Segundo Brasil (2014), o valor da condutividade para águas naturais, devem ser de 10 a 100  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ . Em ambientes com determinado grau de poluição por resíduos industriais ou por esgotamento domésticos, essa característica pode elevar-se a 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ . Tal informação leva-nos a inferir a possibilidade da existência de poluentes, com características similares, presentes no rio Chapadinha, devido ao valor elevado deste parâmetro que foi registrado. No presente estudo, os valores registrados ultrapassaram em até cinco vezes o valor máximo

descrito para águas naturais, estando relativamente altos. O valor para condutividade com maior expressão foi encontrado na fazenda Campo Limpo ( $1040 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ ). Os autores também comentam que, com exceção dos estados sulistas, a temperatura dos ecossistemas aquáticos nacionais, estão dentro da faixa de temperatura que vai  $20^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , o padrão encontrado no rio Chapadinha.

Com base na indicação da resolução do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), seção II, destinado a caracterização das condições e padrões para águas doces, podemos apontar um teor de oxigênio dissolvido na água em todos os pontos amostrados, estão muito abaixo do considerado como ideal, sendo estabelecido como desejado valores acima de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ . Essa redução na concentração de oxigênio dissolvido pode estar associada à processos de decomposição de matéria orgânica e pelo processo respiratório da fauna e flora aquática. Para pH, os valores desejados estariam de 6 à 9, deste modo, todos os pontos amostrados apontaram estar dentro dos padrões considerados ótimos já que apresentaram um mínimo de 7,2 no ponto da Chapadinha e máximo de 7,6. A salinidade inferior a 0,5 ‰ reforça a caracterização do ambiente como dulcícola, apenas havendo medições em torno de 0,5 ‰ nos pontos da Chapadinha e do Campo Limpo, no período em que foi realizada segunda amostragem.

## 7. CONCLUSÃO

Não foi possível estabelecer um maior ou menor nível de degradação para os locais amostrados do rio Chapadinha, visto que, todos os pontos deste rio apresentaram certo grau de degradabilidade ambiental, tanto representado pela variação na atividade das enzimas GST e CAT em tilápias, quanto ao ser relacionado aos parâmetros abióticos analisados (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade).

A variação da atividade das enzimas hepáticas de tilápias, observadas entre os meses de dezembro e janeiro, nos pontos da Chapadinha e no Campo Limpo, são um indicativo da necessidade de maior atenção para esses trechos do rio, visto que tal diferença pode estar relacionada a mudanças na intensidade e na diversidade dos compostos depositados neste rio.

Os valores de oxigênio e condutividade da água apontam uma baixa qualidade para o rio Chapadinha sendo necessário aprofundar as investigações para descobrir quais os tipos de compostos químicos e/ou orgânicos podem estar afetando este rio.

## 8. BIBLIOGRAFIA

ACHON, C. L.; BARROSO, M. M.; CORDEIRO, J. S. Resíduos de estações de tratamento de água e a ISO 24512: desafio do saneamento brasileiro. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 115-122, 2013.

ADAMS, S. M.; SHEPARD, K. L.; GREELEY JR, M. S.; JIMENEZ, B. D.; RYON, M. G.; SHUGART, L. R.; MCCARTHY, J. F.; HINTON, D. E. The use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. **Marine Environmental Research**, v. 28, n. 1-4, p. 459-464, 1989.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**. v. 105, p. 121-126, 1984.

AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 6, n. 2, 2003.

ANA (Agência Nacional de Água - Brasil). **Cuidando das águas: soluções para melhorar a qualidade dos recursos hídricos**. Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, Brasília, ed. 2, p. 157, 2013.

ARIAS A. R. L.; BUSS D. F.; ALBURQUERQUE C.; INÁCIO A. F.; FREIRE M. M.; EGLER M.; MUGNAIR.; BAPTISTA D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência e saúde coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.

AROJOJOYE, O. A.; ADEOSUN, A. M. Effect of environmental pollution on oxidative stress biomarkers in african cat fish (*Clarias gariepinus*) from asejire river in oyo state, Nigeria. **Journal of Environmental and Occupational Science**, v. 5, n. 4, p. 71, 2016.

ATLI, G.; CANLI, M. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 8, p. 1884-1889, 2010.

AUTHMAN, M. M. N; ABBAS, W. T.; GAAFAR, A. Y. Metals concentrations in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from illegal fish farm in Al-Minufiya Province, Egypt, and their effects on some tissues structures. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 84, p. 163-172, 2012.

AVCI, A.; KAÇMAZ, M.; DURAK, İ. Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 1, p. 101-105, 2005.

AZEVEDO, J. S.; BRAGA, E. S.; DE ASSIS, H. S.; RIBEIRO, C. O. Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 96, p. 220-230, 2013.

BAINY, A. C. D.; SAITO, E.; CARVALHO, O. S. M.; JUNQUEIRA, V. B. C. Oxidative stress in Gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. **Aquatic Toxicology**, v. 34, p. 151-162, 1996.

BAPTISTA, M.; CARDOSO, A. Rios e Cidades: uma longa e sinuosa história. **Revista UFMG**, Belo Horizonte, v. 20, n. 2, p. 124-153, 2013.

BATISTA, M. T. O.; RODRIGUES JR, E.; FEIJÓ-OLIVEIRA, M.; RIBEIRO, A. C.; RODRIGUES, E.; SUDA, C. N. K.; VANI, G. S. Tissue levels of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in fish *Astyanax bimaculatus* from the Una River Basin. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 4, p. 621-631, 2014.

BAYR, H. Reactive oxygen species. **Critical care medicine**, v. 33, n. 12, p. S498-S501, 2005.

BENFORD, D. J.; HANLEY, A. B.; BOTTRILL, K.; OEHLSCHLAGER, S.; BALLS, M.; BRANCA, F.; CASTEGNARO, J. J.; DESCOTES, J.; HEMMINIKI, K.; LINDSAY, D.; SCHILTER, B. Biomarkers as predictive tools in toxicity testing. **Atla**, v. 28, n. 1, p. 119-132, 2000.

BHATTACHARYA, S. Reactive oxygen species and cellular defense system. In: **Free Radicals in Human Health and Disease**. Springer India, p. 17-29, 2015.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, 651-666, 2007.

BIRUNGI, Z.; MASOLA, B.; ZARANYIKA, M. F.; NAIGAGA, I.; MARSHALL, B. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 32, n. 15-18, p. 1350-1358, 2007.

BOEUF, G.; PAYAN, P. How should salinity influence fish growth? Comparative Biochemistry and Physiology Part C: **Toxicology & Pharmacology**, v. 130, n. 4, p. 411-423, 2001.

BOOCK, M.V; MACHADO-NETO, J.G. Estudos toxicológicos do oxiclreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, p.215-221, 2000.

BORGA, T; DE CAMPOS, R. F. F.; RIBEIRO, O. Análise das políticas públicas e o perfil da atual destinação de efluentes sanitários no interior do município de Caçador/SC. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 8, n. 1, 2018.

BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L. P.; SAITO, M. E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.4, p. 675-677, 2006.

BRASIL. **Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981**. Política Nacional do Meio Ambiente. Brasília, DF, 1981. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1980-1987/lei-6938-31-agosto-1981-366135-norma-actualizada-pl.pdf>>. Acesso em: 21 de março de 2018.

BRASIL. **Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS**. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Brasília: Funasa, p.112, 2014.

BRITO, I. A.; FREIRE, C. A.; YAMAMOTO, F. Y.; SILVA DE ASSIS, H. C.; SOUZA-BASTOS, L. R.; CESTARI, M. M.; GHISI, N. C.; PRODOCIMO, V.; FILIPAK NETO, F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarker evaluation in tropical fish. **Journal Environmental Monitoring**, v.14, p. 615-625, 2012.

BRITO, L. O.; DA 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. 076-090, 2015.

BÜCKER, A.; CONCEIÇÃO, M. B. D. Genotoxicity evaluation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to waters from two sites of Itajaí-Açu River (SC, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, 2012.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios Conceptual basis for the application of biomonitoring on stream water. **Caderno Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 465-473, 2003.

CABANELAS, I. T. D.; MOREIRA, L. M. A. Danos citogenotóxicos em ecossistema aquático submetido a esgotamento sanitário urbano. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 31-35, 2012.

CALLISTO, M.; GONCALVES, J. A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 182, p. 68-71, 2002.

CARVALHO, A. R.; SCHLITTLER, F. H. M.; TORNISIELO, V. L. Relações da atividade agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 618-622, 2000.

CARVALHO, C. D. S.; BERNUSSO, V. A.; ARAÚJO, H. S. S. D; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FERNANDES, M. N. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, n. 1, p. 60-69, 2012.

CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. C. Diversity of structures and properties among catalases. **Cellular and molecular life sciences**, v. 61, n. 2, p. 192-208, 2004.

CHOVANEC A.; HOFER, R.; SCHIEMER, F. Fish as bioindicators. In: Markert, B., Breure, T. and Zechmeister, H. **Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications**. Elsevier, Amsterdam, p. 639-676, 2003.

COGO, A. J. D.; SIQUEIRA, A. F.; RAMOS, A. C.; CRUZ, Z. M.; SILVA, A. G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line**, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). **Resolução nº357 de 17 de março de 2005**. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>> Acesso em: 25 fevereiro 2018.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). **Resolução nº430 de 13 de maio de 2011**. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> Acesso em: 25 fevereiro 2018.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). **Resoluções do conama**. Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012. Ministério do meio ambiente. Brasília. MMA, p. 1126, 2012.

CONERH. O Conselho Estadual de Recursos Hídricos (Brasil). **Resolução nº79 de 18 de novembro de 2010**. Disponível em: <[http://www2.sema.ba.gov.br/gestor/ArquivosSistemas/SistemaPublicacao/Arquivos/2460/RE\\_SOLUCAO\\_N\\_79\\_ENQ\\_TRANS\\_CBHP\\_PARAGUACU.pdf](http://www2.sema.ba.gov.br/gestor/ArquivosSistemas/SistemaPublicacao/Arquivos/2460/RE_SOLUCAO_N_79_ENQ_TRANS_CBHP_PARAGUACU.pdf)> Acesso em: 25 fevereiro 2018.

CRESTANI, M.; MENEZES, C.; GLUSCZAK, L.; DOS MIRON, S. D.; LAZZARI, R.; DUARTE, F. M.; MORSCH, M. V.; PIPPI, L. A.; VIEIRA, P. V. Effects of clomazone herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p. 48–55, 2006.

DIAS, D. C.; MAIORINO, F. C.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ISHIKAWA, N. M.; LOMBARDI, J. V.; FERREIRA, J. R.; FRANÇA, F. M.; FERREIRA, C. M. Avaliação histopatológica do baço, coração e encéfalo de tilápia *Oreochromis niloticus* (linnaeus, 1758) exposta ao cloreto de mercúrio. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 213-220, 2007.

DONADIO, N. M. M.; GALBIATTI, J. A.; PAULA, R. C. de. Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na bacia hidrográfica do Córrego Rico, São Paulo, Brasil. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.115-125, 2005.

EL-SHEHAWI, A. M.; ALI, F. K.; SEEHY, M. A. Estimation of water pollution by genetic biomarkers in tilapia and catfish species shows species-site interaction. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, 2007.

ERGENE, S.; ÇAVAŞ, T.; ÇELİK, A.; KÖLELİ, N.; AYMAK, C. Evaluation of river water genotoxicity using the piscine micronucleus test. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 48, n. 6, p. 421-429, 2007.

FERRO, C. O.; CHAGAS, V. L. A.; OLIVEIRA, M. F.; OLIVEIRA, P. L.; SCHANAIDER, A. Atividade da catalase no pulmão, rim e intestino delgado não isquemiado de ratos após reperfusão intestinal. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 1, p. 031-038, 2010.

FIORUCCI, A. R.; BENEDETTI FILHO, E. A importância do oxigênio dissolvido em ecossistemas aquáticos. **Química nova na escola**, v. 22, p. 10-16, 2005.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W. R. L. Abordagem Populacional na Ecotoxicologia. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia**, Risco Ambiental e Sociedade, v. 4, n. 3, p. 79-91, 2011.

FONSECA, S. M. D.; RODRIGUES, M. I.; MARRONI, N. P.; PERAWSKI, M. Determinação da lipoperoxidação e atividade da catalase em fígado e brânquias de peixes coletados no arroio sapucaia, bacia do guaíba, RS. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 1, 2002.

FRANCO, J. L.; TREVISAN, R.; POSSER, T.; TRIVELLA, D. B. B.; HOPPE, R.; ROSA, J. M.; DINSLAKEN, D. D.; DECKER, H.; TASCA, C. I.; LEAL, R. B.; MARQUES, M. R. F.;

- BAINY, A. C. D.; DAFRE, A. L. Biochemical alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 864–872, 2010.
- FREIRE, M. M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I. S. F.; ARIAS; A. R. L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasilienses**, v. 12 n.3, p. 347-354, 2008.
- GAVRILESCU, M.; DEMNEROVÁ, K.; AAMAND, J.; AGATHOS, S.; FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2014.
- GESSNER, M. O.; TLILI, A. Fostering integration of freshwater ecology with ecotoxicology. **Freshwater biology**, v. 61, n. 12, p. 1991-2001, 2016.
- GHEDIRA, J.; JEBALI, J.; BANNI, M.; CHOUBA, L.; BOUSSETTA, H.; LÓPEZ-BAREA, J.; ALHAMA, J. Use of oxidative stress biomarkers in *Carcinus maenas* to assess littoral zone contamination in Tunisia. **Aquatic Biology**, v. 14, n. 1, p. 87-98, 2011.
- GONÇALVES, E. S.; DA SILVA, J. M. B.; PAVESI, T.; MOREIRA, J. C. A importância da determinação analítica de intermediários reativos e de seus produtos de reações com biomacromoléculas: uma mini revisão. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 317-322, 2014.
- GONZÁLEZ F. H. D.; CARVALHO V.; MÖLLER V. A.; DUARTE F. R. Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, UFRGS. v. 29, p. 1-6, 2001.
- GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, ano 2, no 1. 2003.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T; RYAN, P.D. Past: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. **Paleontological Electronica**. v. 4, n. 1, p 9. 2001. Disponível em:<[http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)>. Acesso em: 26 de fevereiro de 2018.
- HAYES J.D.; MCLELLAN L. I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. **Free Radical Research**, v. 31, p. 273–300, 1999.
- HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferases. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 51-88, 2005.
- HENRY, L. K. M. A.; KISHIMBA, M. A. Pesticide residues in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Nile perch (*Lates niloticus*) from Southern Lake Victoria, Tanzania. **Environmental Pollution**, v. 140, n. 2, p. 348-354, 2006.
- HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K.B. (ed.) Functional metabolism: regulation and adaptation. **New York**, John Wiley & Sons, Inc., p. 319-368, 2004.
- HOLT, E. A.; MILLER, S. W. Bioindicators: using organisms to measure environmental impacts. **Nature Education Knowledge**, v. 3, n. 10, p. 8, 2011.

HOSHINA, M. M.; DE ANGELIS, D. D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 656, n. 1, p. 44-48, 2008.

HUANG, D. J.; ZHANG, Y. M.; SONG, G.; LONG, J.; LIU, J. H.; JI, W. H. Contaminants-induced oxidative damage on the carp *Cyprinus carpio* collected from the upper Yellow River, China. **Environmental monitoring and assessment**, v. 128, n. 1-3, p. 483-488, 2007.

INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). **Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em 14/02/2018.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasilienses**, v. 12, p. 680-693, 2008.

JONSSON, C. M.; AOYAMA, H. Alteração da atividade enzimática em organismos aquáticos por poluentes de origem agrícola: uma abordagem geral e sobre a suscetibilidade da fosfatase ácida. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p.920-928, 2010.

KAMMANN, U.; BRINKMANN, M.; FREESE, M.; POHLMANN, J. D.; STOFFELS, S.; HOLLERT, H.; HANEL, R. PAH metabolites, GST and EROD in European eel (*Anguilla anguilla*) as possible indicators for eel habitat quality in German rivers. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 4, p. 2519-2530, 2013.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v 251, n 20, p 6183-6188, 1976.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. **Florianópolis: FATMA/GTZ**, p. 289, 2004.

KRÖTZ, F.; SOHN, H.-Y.; POHL, U. Reactive oxygen species. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 24, n. 11, p. 1988-1996, 2004.

KUBTIZA, F. Tilápia: Um bom planejamento gera alta rentabilidade. **Panorama da Aquicultura**, v.10, n. 59, p. 44-53, 2000.

LARSON, K. L.; STOTTS, R.; WUTICH, A.; BREWIS, A.; WHITE, D. Cross-cultural perceptions of water risks and solutions across select sites. **Society & Natural Resources**, v. 29, n. 9, p. 1049-1064, 2016.

LATINI, A. O.; RESENDE, D. C.; POMBO, V. B.; CORADIN, L. (Org.). Espécies exóticas invasoras de águas continentais no Brasil. **Brasília: MMA**, (Série Biodiversidade, 39), p.791, 2016.

LEMONS, M.; NETO, M. F.; DIAS, N. D. S. Sazonalidade e variabilidade espacial da qualidade da água na Lagoa do Apodi, RN. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 14, n. 2, 2010.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; DA SILVA QUEIROZ, V.; CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.

LOOCK-HATTINGH, M. M.; BEUKES, J. P.; VAN ZYL, P. G.; TIEDT, L. R. Cr (VI) and conductivity as indicators of surface water pollution from ferrochrome production in South Africa: Four case studies. **Metallurgical and Materials Transactions B**, v. 46, n. 5, p. 2315-2325, 2015.

LOVELINE, O. C.; SAMUEL, P. O.; ARIMORO, F. O.; AYANWALE, A. V.; AUTA, Y. I.; MUHAMMED, A. Z. Effects of Lead Nitrate on catalase production levels in post juvenile *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2018.

MAEHLY, A.; CHANCE, B. Catalases and peroxidases. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 1, p. 357-424, 1954.

MANNARINO, C. F.; COSTA MOREIRA, J.; FERREIRA, J. A.; ARIAS, A. R. L. Avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado de lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos e esgoto doméstico sobre a biota aquática. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 11, 2013.

MANNERVIK, B.; BOARD, P. G.; HAYES, J. D.; LISTOWSKY, I.; PEARSON, W. R. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. **Methods in enzymology**, v. 401, p.1-8, 2005.

MAZZER, C.; CAVALCANTI, O. A. Introdução à gestão ambiental de resíduos. **Infarma**, Brasília, v. 8, p. 73-77, 2004.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 3, n. 4, p. 33-38, 2002.

MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 10, p. 99-110, 1994.

MILLAN, D. C.; SHIOGIRI, N. S.; SOUZA, N. E. D. S. D.; SILVA, H. R. D.; FERNANDES, M. N. (Ecotoxicity and hematological effects of a natural insecticide based on tobacco (*Nicotiana tabacum*) extract on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 2, 2013.

MORAES, D. S. D. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

MOTA, G. G. P.; BARBONI, S. D. A. V.; DE JESÚS, M. C. Tilápias (Actinopterygii: Cichlidae) comercializadas em feira de Santana (Bahia) como bioindicadores de poluição ambiental em rios da bacia do Paraguaçu. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 19, 2009.

NASCIMENTO, J. C. S.; SILVA, T. G. P.; RIZZO, H.; FONSECA FILHO, L. B.; DA SILVA SOARES, L. L.; DE SOUZA, W. M. A.; AMORIM, M. J. A. A. L. Indicadores bioquímicos e

corporais para avaliação do perfil metabólico e nutricional em ruminantes. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 19, n. 3, p. 63-74, 2016.

NELSON, J. S. Fishes of the world. **New York**: Wiley & Sons, n. 4, p. 622, 2006.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, D.; ZORTÉA, T. PEREIRA MACHADO DE OLIVEIRA, J., PIRES SANTOS, J. C. Resíduo piritoso provoca toxicidade aguda e crônica em *Collembola* e *Oligochaeta*. **Scientia Agraria**, v. 18, n. 1, 2017.

OLIVEIRA, A. P. S. C.; NOGUEIRA, S. A.; JUNIOR, M. C. R. L.; TOURINO, A. M. Qualidade da água no rio Mumbuca de Lambari-MG. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 341-347, 2016.

OLIVEIRA, C. N.; CAMPOS, V. P.; MEDEIROS, Y. D. P. Avaliação e identificação de parâmetros importantes para a qualidade de corpos d'água no semiárido baiano. Estudo de caso: bacia hidrográfica do rio Salitre. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1059-1066, 2010.

OMAR, W. A.; ZAGHLOUL, K. H.; ABDEL-KHALEK, A. A.; ABO-HEGAB, S. Risk assessment and toxic effects of metal pollution in two cultured and wild fish species from highly degraded aquatic habitats. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 65, n. 4, p. 753-764, 2013.

OSMAN, A. G. M.; ABUEL-FADL, K. Y.; KLOAS, W. In situ evaluation of the genotoxic potential of the river Nile: II. Detection of DNA strand-breakage and apoptosis in *Oreochromis niloticus niloticus* (Linnaeus, 1758) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 747, n. 1, p. 14-21, 2012.

OSÓRIO, F. H. T.; SILVA, L. F. O.; PIANCINI, L. D. S.; AZEVEDO, A. C.B.; LIEBEL, S.; YAMAMOTO, F. Y.; PHILIPPI, V. P.; OLIVEIRA, M. L. S.; ORTOLANI-MACHADO, C. F.; FILIPAK NETO, F.; CESTARI, M. M.; ASSIS, H. C. S.; RIBEIRO, C. A. O. Water quality assessment of the Tubarão River through chemical analysis and biomarkers in the Neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 15, p. 9145-9160, 2013.

PAIVA, L. C.; SOUZA, A. O. Avaliação de alguns parâmetros físico-químicos da água do rio Riachão no município de Caatiba-BA. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 9, 2010.

PANDEY, S.; PARVEZ, S.; SAYEED, I.; HAQUE, R.; BIN-HAFEEZ, B.; RAISUDDIN, S. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). **Science of the total environment**, v. 309, n. 1-3, p. 105-115, 2003.

PEREIRA, C. D. S.; ABESSA, D. M. D. S.; BAINY, A. C. D.; ZARONI, L. P.; GASPARRO, M. R.; BÍCEGO, M. C.; TANIGUCHI, S.; FURLEY, T. H.; SOUSA, E. C. P. M. D. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 462-469, 2007.

PEREIRA, R. S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. **Revista Eletrônica de Recursos Hídricos**. v. 1, n.1, p. 20-36, 2004.

RICCIARDI, F.; MATOZZO, V.; BINELLI, A.; MARIN, M. G. Respostas de biomarcadores e níveis de contaminação em caranguejos (*Carcinus aestuarii*) da Lagoa de Venezia: uma abordagem integrada na biomonitorização de ambientes estuarinos. **Pesquisa de água**, v. 44, n. 6, p. 1725-1736, 2010.

RODRIGUES, A. C. C.; GUEDES, M. L. S. Utilização de plantas medicinais no Povoado Sapucaia, Cruz das Almas–Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2006.

SANTANA, M. S.; YAMAMOTO, F. Y.; SANDRINI-NETO, L.; NETO, F. F.; ORTOLANI-MACHADO, C. F.; RIBEIRO, C. A. O.; PRODOCIMO, M. M. Diffuse sources of contamination in freshwater fish: Detecting effects through active biomonitoring and multi-biomarker approaches. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 149, p. 173-181, 2018.

SANTOS, M. C. D.; GÓIS, D. V. Urbanização e riscos ambientais no recôncavo Baiano.: Um estudo do baixo e médio curso do rio da Dona. **Territorium**, n. 11, p. 15-20, 2004.

SCHIRMER, W. N.; MACHADO, G. O.; STUMPF, G.; LEMES, J. L. V. B.; AGASSI, J. D.; VAN KAICK, T. Tratamento de esgoto por zona de raízes em comunidade rural–Parte 2: avaliação. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 7, n. 2, 2009.

SHEEHAN, D.; MEADE, G.; FOLEY, V. M.; DOWD, C. A. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochemical Journal**, v. 360, n. 1, p. 1-16, 2001.

SILVA, A. E. P.; ANGELIS, C. F.; MACHADO, L. A. T.; WAICHAMAN, A. V. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. **Acta amazônica**, v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008.

SILVA, A. G.; SOUZA, L. D. Efeitos antrópicos e sazonais na qualidade da água do rio do Carmo. **HOLOS**, v. 5, 2013.

SILVA, P. R. F. G.; MEIRELES, A. J. A.; PEREIRA, J. S. Diagnóstico da qualidade da água do sistema hídrico papicu/maceió, fortaleza, ceará, brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 44, n. 3, p. 81-86, 2011.

SINDHU, R. K.; EHDAIE, A.; FARMAND, F.; DHALIWAL, K. K.; NGUYEN, T.; ZHAN, C.-D.; ROBERTS, C. K.; VAZIRI, N. D. Expression of catalase and glutathione peroxidase in renal insufficiency. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Molecular Cell Research**, v. 1743, n. 1, p. 86-92, 2005.

SISINNO, C. L. S.; BULUS, M. R. M.; RIZZO, A. C. D. L.; MOREIRA, J. C. Ensaio de comportamento com minhocas (*Eisenia fetida*) para avaliação de áreas contaminadas: resultados preliminares para contaminação por hidrocarbonetos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. v. 1, n. 2, 2006.

SOUZA, C. F.; BACICURINSKI, I.; SILVA, Ê. F. F. Avaliação da qualidade da água do rio Paraíba do Sul no município de Taubaté-SP. **Revista Biociências**, v. 16, n. 1, 2010.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 605, n. 1, p. 87-93, 2006.

TAVARES, J. M.; SOUZA, P. M. A. D. Características ambientais das comunidades de baiacu e de cachoeira na baía de todos os santos-bahia-brasil. **HOLOS**, v. 7, p. 258-265, 2016.

TIM-TIM, A. L.; MORGADO, F.; MOREIRA, S.; RANGEL, R.; NOGUEIRA, A. J.; SOARES, A. M.; GUILHERMINO, L. Cholinesterase and glutathione S-transferase activities of three mollusc species from the NW Portuguese coast in relation to the 'Prestige' oil spill. **Chemosphere**, v. 77, n. 11, p. 1465-1475, 2009.

TUNDISI, J. G. Novas perspectivas para a gestão de recursos hídricos. **Revista USP**, São Paulo, n.70, p. 24-35, 2006.

TUNDISI, J. G. Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. **Estudos avançados**, v. 22, n. 63, p. 7-16, 2008.

VALAVANIDIS, A.; VLAHOGIANNI, T.; DASSENAKIS, M.; SCOULLOS, M. Biomarcadores moleculares de estresse oxidativo em organismos aquáticos em relação a poluentes ambientais tóxicos. **Ecotoxicologia e segurança ambiental**, v. 64, n. 2, p. 178-189, 2006.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. D. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. D. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VASEEM, H.; BANERJEE, T. K. Evaluation of pollution of Ganga River water using fish as bioindicator. **Environmental monitoring and assessment**, v. 188, n. 8, p. 444, 2016.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos: **Revista Belo Horizonte: UFMG/DESA**, v.1. 2ª Ed., 243 p., 1996a.

VON SPERLING, M. Princípio do tratamento biológico das águas residuais: Lagoas de estabilização. **Revista Belo Horizonte: UFMG/DESA**, v.3, 134 p., 1996b.

WALKER, C. H. Biochemical biomarkers in ecotoxicology - some recent developments. **Science of the Total Environment**, v. 171, n. 1-3, p. 189-195, 1995.

WANG, Z.; YAN, C.; YAN, Y.; CHI, Q. Integrated assessment of biomarker responses in caged shrimps (*Litopenaeus vannamei*) exposed to complex contaminants from the Maluan Bay of China. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 3, p. 869-881, 2012.

WILCE, M. C. J.; PARKER, M. W. Structure and function of glutathione S-transferases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1205,

n. 1, p. 1-18, 1994.

WILHELM FILHO, D.; TORRES, M. A.; TRIBESS, T. B.; PEDROSA, R. C.; SOARES, C. H. L. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acar ( *Geophagus brasiliensis* ). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 6, p. 719-726, 2001.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**: princpios e aplicaes. São Carlos, RiMa, p. 486, 2008.

ZHANG, Z.; TAO, F.; DU, J.; SHI, P.; YU, D.; MENG, Y. SUN, Y. Surface water quality and its control in a river with intensive human impacts—a case study of the Xiangjiang River, China. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 2483–2490, 2010.

ZHOU, Q.; ZHANG, J.; FU, J.; SHI, J.; JIANG, G. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica chimica acta**, v. 606, n. 2, p. 135-150, 2008.