

AVALIAÇÃO ECOTÓXICOLÓGICA EM *Astyanax lacustres* (Pisces, Characiformes) EXPOSTOS A FULIGEM DA QUEIMA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Marcela da Silva Caetano (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Evanilde Benedito (coorientadora), Michele Cristina Heck, Veronica Elisa Pimenta Vicentini (Orientador), e-mail: vepvicentini@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular.

Ciências Biológicas/ Mutagênese

Palavras-chave: *Saccharum* spp., Cinzas de cana, Ecotoxicologia.

Resumo:

A cana-de-açúcar possui grande importância no cenário econômico, ambiental e social do Brasil. No entanto, a utilização do fogo para a colheita impacta de forma negativa o meio ambiente e a saúde de organismos vivos. A fuligem, resíduo sólido gerado pela pirólise incompleta apresenta em sua composição diferentes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) pirogênicos como, antraceno, benzopireno e fluoranteno, além de outros compostos tóxicos. Este resíduo, afeta a qualidade do ar, solo e águas, contudo pouco se sabe sobre o impacto em organismos aquáticos. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a ação da fuligem sobre organismos aquáticos. Para isso, usamos o potencial de toxicidade aguda da fuligem sobre brânquias de *Astyanax lacustris* expostos a diferentes concentrações de fuligem (0, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/L) por meio da análise histopatológica e ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* (0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 e 5000 mg/L). Os resultados obtidos das brânquias não foram significativos, pois não foi possível inferir se as lesões apresentadas tiveram origem da fuligem ou do armazenamento do material. Para o ensaio com o microcrustáceo as concentrações de 4000, 4500 e 5000 mg/L apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo não exposto. Pela análise de Probit foi determinada a CL50, o valor obtido foi de 4155,09mg/L. A exposição de *A. salina* a diferentes concentrações de fuligem proveniente da queimada da cana-de-açúcar resultou em mortalidade, portanto, o ambiente aquático pode ser afetado negativamente pela presença dos resíduos da queima da palha da cana-de-açúcar.

Introdução

A relação conflitante entre a agroindústria canavieira e o meio ambiente está pautada principalmente pela utilização de fogo para a despalha da cana-de-açúcar. Tal prática gera uma fuligem altamente tóxica, de importância socioambiental, uma vez que afeta o meio ambiente e as sociedades humanas, sejam elas rurais ou

urbanas. Por isso, a problemática acerca dessa questão traz consigo implicações ecológicas, econômicas e sanitárias. Cerca de 75% da colheita desta monocultura é realizada a partir da queima da palha de cana-de-açúcar e os produtos da combustão resultantes são emitidos diretamente no ambiente. Este procedimento que perdura em diversas regiões do país possui justificativa legal até o ano de 2031. O diagnóstico de potencial tóxico da fuligem em ambiente aéreo e sua composição química conduzem ao questionamento de quais são seus efeitos sobre o ambiente aquático visto que não há registros sobre este ecossistema e suas comunidades bióticas. O uso das brânquias de peixes como biomarcadores histológicos são de grande relevância para a identificação de contaminantes em testes de toxicidade. Mudanças na morfologia branquial alteram o funcionamento do órgão, uma vez que sua principal função é realizar as trocas gasosas e osmorregulação e podem comprometer a sobrevivência do animal (FONSECA et al., 2017). Por essa razão, alterações histológicas em tecidos de peixes caracterizam-se como ferramentas sensíveis para detectar os efeitos tóxicos diretos de compostos químicos no órgãos-alvo. Poucas são as investigações toxicológicas da fuligem de cana-de-açúcar sobre as espécies nativas do Brasil. Assim, opta-se por realizar este tipo de trabalho com o lambari (*Astyanax lacustris*), uma das espécies nativas de peixes dulcícolas cultivadas no Brasil. *Artemia salina*, são pequenos microcrustáceos que atuam como elo trófico entre as comunidades planctônicas e as cadeias superiores. Por essa razão, o ensaio de letalidade com *A. salina* rápido, sensível e de baixo custo, é amplamente utilizado em estudos de toxicidade envolvendo poluentes ambientais. Portanto, os testes ecotoxicológicos, utilizando organismos bioindicadores são amplamente aplicados no biomonitoramento da poluição aquática e na avaliação dos efeitos de substâncias tóxicas sobre os organismos sensíveis às alterações provocadas no ambiente. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos histopatológicos e letais da fuligem da cana-de-açúcar no ambiente aquático, em peixes e microcrustáceos.

Materiais e Métodos

Fuligem de cana-de-açúcar

As cinzas de cana utilizadas neste trabalho foram obtidas a partir da queima de folhas secas, coletadas de uma única área agrícola de monocultura extensiva de cana, próxima de riachos (23° 20' 29.9" Sul e 51° 57' 59.3" Oeste). As folhas foram submetidas a combustão controlada, simulando a queima no processo de colheita da cana. Após a queima e o resfriamento natural, as cinzas foram crivadas em malha 0,5cm, homogeneizadas, acondicionadas em frascos plásticos e congeladas, ao abrigo de luz direta, até o momento da utilização nos ensaios.

Histopatologia das Brânquias

Astyanax lacustris foram expostos a diferentes concentrações de fuligem (0, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/L) e destes foram utilizadas brânquias preservadas em álcool 70%, sendo removido o 2º arco branquial. Logo após foram acondicionados

em tubos de 1,5mL contendo o fixador Bouin por 24 horas, e transferidos para tubos com álcool 70% até a inclusão em parafina. O procedimento de inclusão histológica das amostras foi realizado por meio de desidratações em séries crescentes de álcool, diafanização em xilol, e inclusão em parafina líquida a 62°C. Em seguida, as amostras foram seccionadas em cortes de 6µm, em micrótomo Leica RM 2250, e dispostas em lâminas impregnadas com solução de albumina. Os cortes foram corados pelo método H/E (Hematoxilina/Eosina), e cobertos com lamínula em Entellan. As análises histopatológicas foram realizadas em dois cortes, um superficial e um profundo, sendo analisados dez filamentos por amostra, em microscopia de luz (Leica DM 500 RH).

Ensaio de Letalidade- Artemia salina

Foi realizado um ensaio de mortalidade com *Artemia salina*. Os cistos do microcrustáceo foram adquiridos de fonte comercial e incubados por 48 horas em aquário de 1,5L, contendo água destilada acrescida de 35g/L de sal marinho e mantidos em uma temperatura de 24-28° C, sob lâmpada e aeração contínua. Após, as larvas (náuplios) foram transferidas para placa de 96 poços, para a realização dos tratamentos (0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 e 5000 mg/L), por 24 horas. O teste foi acompanhado de controle positivo com 0,8mg/mL de paracetamol. Após, foi realizada a contagem do número de náuplios mortos/imóveis usando estereomicroscópio. A concentração media letal (LC₅₀) foi calculada por meio do teste de Probit usando o programa Excel. Os dados foram analisados pelo ANOVA seguido pelo teste de Dunnett onde $p < 0,05$ foi considerado significativo e $p < 0,01$ extremamente significativo.

Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos, para a histopatologia das brânquias não foi possível inferir se os danos observados foram provenientes da fuligem da cana-de-açúcar ou do estado de armazenamento do material. Mesmo não obtendo resultados significativos com a histopatologia de brânquias neste trabalho, existem diferenças entre a severidade e a frequência de lesões histopatológicas em *Astyanax* de acordo com o uso do solo adjacente à corpos aquáticos, sendo que em zonas agrícolas, os danos são mais significativos (NIMET, 2016). Sendo assim, é provável que as lesões observadas possam ter relação com a exposição à fuligem. Para o ensaio de letalidade com *A. salina* (Figura 1) os resultados obtidos demonstraram que o grupo exposto ao paracetamol apresentou 98% de mortalidade, o que confirma a responsividade do teste. De acordo com os dados da análise estatística observou-se que as concentrações de 4000 ($p=0,05$), 4500 ($p=0,01$) e 5000 mg/L ($p=0,01$) apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo não exposto (0mg/L). Pela análise de Probit foi determinada a CL₅₀, e o valor obtido foi de 4155,09mg/L. Esses dados são de extrema relevância, tendo em vista o papel que o microcrustáceo ocupa na cadeia trófica, o que pode refletir na ecologia e dinâmica de espécies em ecossistemas aquáticos.

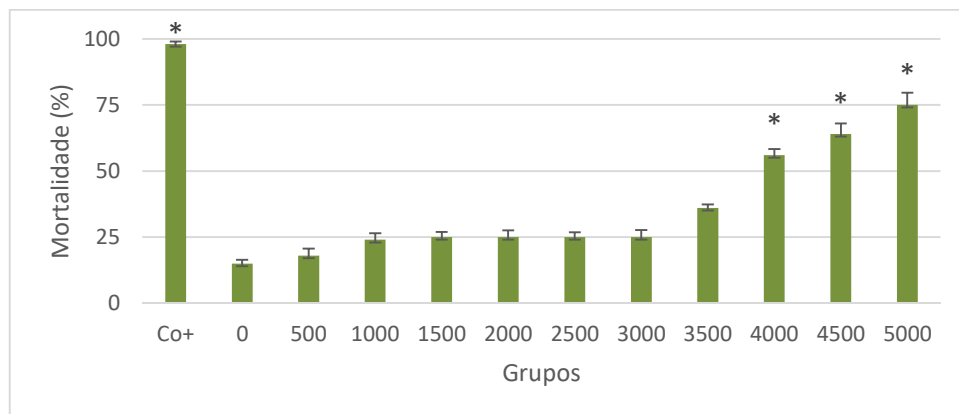


Figura 1 – Percentual de mortalidade obtido para os grupos tratados com 0,8mg/mL de paracetamol (CO+), não tratado (0mg/L) e diferentes concentrações de fuligem (500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 e 5000 mg/L), em náuplios de *Artemia salina*. *resultado estatisticamente significativo em relação ao grupo sem tratamento.

Conclusões

A exposição de *A. salina* a diferentes concentrações de fuligem proveniente da queimada da cana-de-açúcar resultou em mortalidade. Com isso, os resultados reforçam o impacto negativo das queimadas sobre os ecossistemas aquáticos, os quais são pouco investigados frente a presença da fuligem nesse ambiente.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório de Mutagênese e Monitoramento Ambiental-DBC/UEM, SETI-PR e ao CNPq, órgão financiador deste projeto.

Referências

FONSECA, A.R., SANCHES FERNANDES, L.F., FONTAINHAS-FERNANDES, A., MONTEIRO, S.M., PACHECO, F.A.L. The impact of freshwater metal concentrations on the severity of histopathological changes in fish gills: A statistical perspective. **Sci. Total Environ.** 599-600, p. 217-226, 2017.

NIMET, J. **Histopatologia em *Astyanax bifasciatus* (Garavello, 2010) como biomarcador para biomonitoramento de riachos com diferentes usos e ocupação do solo.** 2016. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel-PR, 2016.