

ARTIGO ORIGINAL

USO DE BIOMARCADORES ENZIMÁTICOS E GENOTÓXICOS PARA DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO LAGO DE ITAPARICA-PE.

USE OF ENZYMATIC AND GENOTOXIC BIOMAKERS FOR DIAGNOSIS OF THE WATER QUALITY OF LAKE FROM ITAPARICA – PE.

Fernanda Vivian Daltro Alencar¹, Ítalo Maurício Farias Sandes², Kaline Catiely Campos Silva³.

Resumo

Desde a origem do reservatório de Itaparica, alguns fatos demonstram negligências ligadas as questões ambientais. Com a crescente prática agrícola e piscícola, o uso de pesticidas e metais pesados tornou-se frequente na região, refletindo em uma degradação do ambiente aquático. O presente estudo objetivou avaliar a qualidade da água do Lago de Itaparica através de teste genotóxico, utilizando-se do micronúcleo, e teste enzimático, fazendo uso da Acetil (AchE) e Butirilcolinesterase (BchE). Como bioindicador, foi escolhido o peixe da espécie *Oreochromis niloticus*, cultivado em grande escala por meio de tanques-redes na localidade da pesquisa. Os resultados obtidos no teste de micronúcleo indicam potencial genotóxicos. Na avaliação da AchE cerebral na localidade da Santa Rita ($21 \pm 0,6$) e no Riacho Salgado ($55 \pm 3,3$) evidenciaram diminuição da atividade enzimática, comparadas ao controle ($134 \pm 3,6$), do mesmo modo ocorreu na BchE do fígado, com média de ($10 \pm 0,7$) na Santa Rita e ($21 \pm 0,6$) no Riacho Salgado, com o controle de ($43 \pm 1,7$). Sugere-se que o Reservatório de Itaparica encontra-se impactado devido ao aporte de efluentes de agriculturas e pisciculturas, apresentando potencial genotóxico e toxicológico.

Palavras-chave: genotoxicidade. micronúcleo. colinesterases.

Abstract

From the origin of Itaparica's reservoir, some facts demonstrate negligence connected the ambient questions. With the creasing agricultural and fish farming practice, the use of pesticides and heavy metal become often in region, reflecting in a degradation of aquatic ambient. The present study objected evaluate the water quality of Itaparica's Lagoon through Genotoxic Test, using the micro-nucleus, and Enzymatic Test, making use of Acetyl and Butyrylcholinesterase.

Like bioindicator, was choose the fish of specie *Oreochromis niloticus*, cultivated in big scale by means of tanks networks ate research locale. The obtained results in micronucleus test indicate genotoxic potential. In avaluation of cerebral AchE in locale of Santa Rita ($21\pm 0,6$) and in Riacho Salgado ($55\pm 3,3$) evidenced enzymatic decrease, comparison to control ($134\pm 3,6$), as the same way occurred in BchE of liver, with the media of ($10\pm 0,7$) in Santa Rita and ($21\pm 0,6$) in Riacho Salgado, with the control of ($43\pm 1,7$). It is suggested the Itaparica's Reservoir is found impacted owing to the postage of agriculture and fish farming effluents, presenting genotoxic and toxicological potencial.

Key words: genotoxicity. micronucleus. cholinesterase.

INTRODUÇÃO

A deterioração do ambiente aquático, ocasionada pela sua inadequada gestão, vem aumentando consideravelmente nos últimos anos, resultando em um comprometimento da qualidade da água para as gerações futuras¹. O meio aquático pode ser considerado como último receptor dos poluentes naturais e antropológicos, tornando-o uma ameaça para vida biológica. Tal fato implica em interesse nos estudos voltados para avaliação da toxicidade da água, principalmente devido aos impactos que as substâncias químicas usadas na atividade agrícola exercem nela².

Melo (2007)¹ relata que grande parte da água no Estado de Pernambuco que é usada no abastecimento, vem de reservatórios, que se encontram em degradação, por percorrer áreas urbanas. Esses reservatórios são construídos com a finalidade de gerar energia, sendo o de Itaparica um exemplo, que possui seu perímetro irrigado, utilizando agrotóxicos e lançando seus efluentes no rio sem nenhum tratamento.

A agricultura está ligada ao comprometimento da qualidade da água. O Governo Fede-

ral chama a atenção para ausência de trabalhos acerca de diagnósticos em áreas contaminadas por pesticidas, principalmente em ecossistemas aquáticos³.

Vários poluentes que ocasionam tal degradação são carregados pela atmosfera e/ou água, chegando a se propagar em grandes distâncias, sendo o pesticida um deles^{4,5}. O ambiente aquático é o que mais sofre com o uso desses pesticidas em suas margens e áreas de lavoura, tanto com o carreamento e bioacumulação desses contaminantes na água como pela sensibilidade dos organismos presentes na água⁶.

Esses pesticidas e poluentes como metais pesados podem ocasionar alterações a níveis genotóxicos, modificando o DNA e, consequentemente, o perfil dos organismos envolvidos com o meio aquático, atribuindo consequências como mutações, envelhecimento acelerado de células, dificuldade de adaptação às mudanças ambientais e carcinogênese⁷.

Outro fato que vem aumentando a degradação do Reservatório de Itaparica é o crescimento da aquicultura, praticada por moradores as margens do Lago com a produção de

peixes em tanque rede, onde são lançados na água vários poluentes e contaminantes. Além de nutrientes, muitas rações comerciais para peixes têm altas concentrações de proteínas e estimuladores de crescimento, como o cobre e o zinco, usados nas formulações, mas que em concentrações maiores que 0,05 mg.L⁻¹ são tóxicos para muitas espécies⁸.

O efluente das pisciculturas se assemelha ao efluente doméstico, possuindo concentrações de nutrientes que podem provocar alterações físicas e químicas na água, deteriorando sua qualidade. Esses efluentes, quando lançados no rio, possuem riscos à saúde pública que utiliza essa água para consumo⁹.

Com a prática de tais atividades, que comprometem a qualidade da água do Reservatório de Itaparica, faz-se necessário sua avaliação, por meio de teste de biomonitoramento.

Dentre os testes utilizados, em nível genotóxico, encontra-se o Teste de Micronúcleo (MNA), que faz uso dos eritrócitos de sangue periférico do peixe, sendo o mais eficaz no que diz respeito à avaliação das quebras de DNA. Já a nível enzimático, destaca-se a atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). Ambas as enzimas estão presentes no organismo do peixe e são responsáveis pelo funcionamento do sistema neural e motor, exercendo função de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina.

De acordo com Kligerman (1982)¹⁰ a genética toxicológica vem aprimorando testes para buscar informações sobre os efeitos dos im-

pactos biológicos no ecossistema aquático. Os peixes apresentam-se como organismos mais usados nos estudos por possuírem uma alta sensibilidade a baixas concentrações de substâncias tóxicas e várias alterações nos meios aquáticos, sendo considerados bioindicadores de condições ambientais. Além do mais, atendem características específicas de hábitos alimentares, abundância de espécie e são de fácil captura.

A espécie escolhida para o presente estudo foi o peixe de água doce *Oreochromis niloticus* mais conhecido por Tilápia, muito cultivada por ter se adaptado à região em estudo, sendo escolhida pela fácil captura e por se apresentar nos estudos de levantamento bibliográfico como um ideal bioindicador.

De acordo com Sobral et al. (2006)¹¹, no estado de Pernambuco a água utilizada para consumo humana provém de reservatórios que estão sofrendo processos de degradação por percorrer áreas urbanas, tendo como exemplo o Lago de Itaparica.

O Lago de Itaparica está situado no nordeste, dividido entre os estados de Pernambuco e Bahia e foi construído em 1987 com finalidade de gerar energia, porém, seu uso está destinado não só ao abastecimento, mas também à irrigação, piscicultura e turismo. É válido ressaltar que em várias partes do lago não está sendo obedecida a faixa de 100 metros de área de preservação, relatada na resolução nº 04/85 do CONAMA¹².

Sobral; Carvalho (2006)¹¹ relatam que no reservatório, a agricultura irrigada é pratica-

da nos projetos implantados às suas margens, sendo também utilizada as áreas rasas para a prática de aquicultura.

O número de empreendimentos aquícolas na região vem crescendo consideravelmente e a espécie Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é mantida através de cultivo superintensivo ou intensivo de tanques-rede, que são estruturas de tela fechadas de todos os lados, onde retêm os peixes e permitem a troca de água, na forma de fluxo contínuo, removendo metabólitos e fornecendo oxigênio.

Apesar do expressivo crescimento da atividade local, encontra-se poucos estudos de monitoramento da qualidade da água do Lago de Itaparica e, na maioria deles, a abordagem reporta-se para análises físico-químicas e ocorrem de forma não continuada, impedindo assim, um diagnóstico preciso e fidedigno.

O presente estudo torna-se relevante à medida que propõe realizar um diagnóstico da qualidade da água do reservatório de Itaparica, onde está sendo realizada a produção de peixes em tanques-rede, utilizando marcadores biológicos dos organismos cultivados no lago para serem comparados com um grupo controle.

Tal proposta atende ao manual da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária⁸, que descreve as boas práticas de manejo, das quais se destacam: 1) respeitar a capacidade de suporte do reservatório em função das taxas de alimentação expressa em kg de ração/hora/dia; 2) avaliar os possíveis impactos ambientais das atividades agropecuárias, industriais,

urbanas e de-senvolvidas nas áreas adjacentes aos reservatórios onde está sendo realizada a produção de peixes em tanques-rede.

Sendo assim, o diagnóstico ambiental usando organismos biológicos serve como um alerta de riscos não apenas para populações aquáticas, mas também para todos os demais animais, inclusive a espécie humana, que além de utilizar a água para os mais variados fins, está no topo da cadeia alimentar podendo sofrer uma bioacumulação de agentes tóxicos que estão presentes na água, mesmo que em pequenas quantidades.

Desde a origem do reservatório de Itaparica, vários fatos marcam a negligência quanto às questões ambientais, o que pode comprometer seriamente sua água. A preocupação acerca da qualidade ambiental é um dos componentes fundamentais da competitividade no mercado internacional de commodities aquícolas. Esse setor tem sido estimulado a buscar sistemas de gestão sustentáveis através da adoção de Boas Práticas de Manejo (BPM) com vistas a praticar uma aquicultura sustentável que não prejudique o meio ambiente⁸.

Segundo Valenti (2002)¹³, a aquicultura sustentável é aquela que possui uma produção lucrativa de organismos aquáticos, com integração harmônica e duradora com os ecossistemas e comunidades locais. Tal nomenclatura está sendo difundida para designar uma forma desejável de se produzir pescado no meio aquático, com racionalidade ambiental, econômica e social.

A produção de peixes em tanques-rede deve ser manejada com métodos baseados em BPM e dentro dos preceitos da aquicultura sustentável, objetivando assim reduzir o impacto ambiental desses sistemas de produção¹³. Os efeitos dos problemas ambientais podem ser minimizados, para tanto, se faz necessário conhecer os danos que o múltiplo uso da água sem um gerenciamento ideal vem causando às comunidades e as ameaças que eles representam para as gerações futuras.

Sabe-se que grande parte dos resíduos de rações utilizadas para cultivo dos peixes sedimenta e se acumula no fundo dos reservatórios. Ademais, outra parcela significativa, de 80 a 85% dos nutrientes das rações, é eliminada pelos peixes em forma de fezes ou de outros compostos metabólicos⁸.

As rações utilizadas para cultivo do peixe possuem alto teor de nitrogênio e fósforo, principais elementos que causam impactos no ambiente aquático, quando encontrados em alta concentração.

Com a criação de peixes no Lago de Itaparica, principalmente próximo a projetos de irrigação, pode-se inferir que há possibilidade de danos toxicológicos e genotóxicos devido ao uso de defensivos agrícolas e nutrientes utilizados nas rações comerciais, estas possuindo altas concentrações de proteínas e estimuladores de crescimento, considerados

tóxicos para muitas espécies. Portanto, se apresenta a questão: “Existem danos toxicológicos e genotóxicos em *Oreochromis niloticus* cultivados em diferentes tanques-rede no Lago de Itaparica?”

Esse trabalho tem como objetivo principal Avaliar a qualidade da água do Lago de Itaparica utilizando biomarcadores enzimáticos e genotóxicos de *Oreochromis niloticus* capturados em tanque-rede.

METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa de campo do tipo descritiva, com abordagem quantitativa. Os procedimentos experimentais utilizados na conservação dos peixes e procedimentos de sacrifício foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) [Protocolo de Nº 23076.022419 / 2015-29] da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e estavam em concordância com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação do Brasil (MCTI).

Localização da área de estudo

O reservatório escolhido para o presente estudo foi o Lago de Itaparica, dividido em duas áreas de coleta. As coletas foram realizadas em setembro e novembro de 2016.

Figura 1- Área de coleta 1.

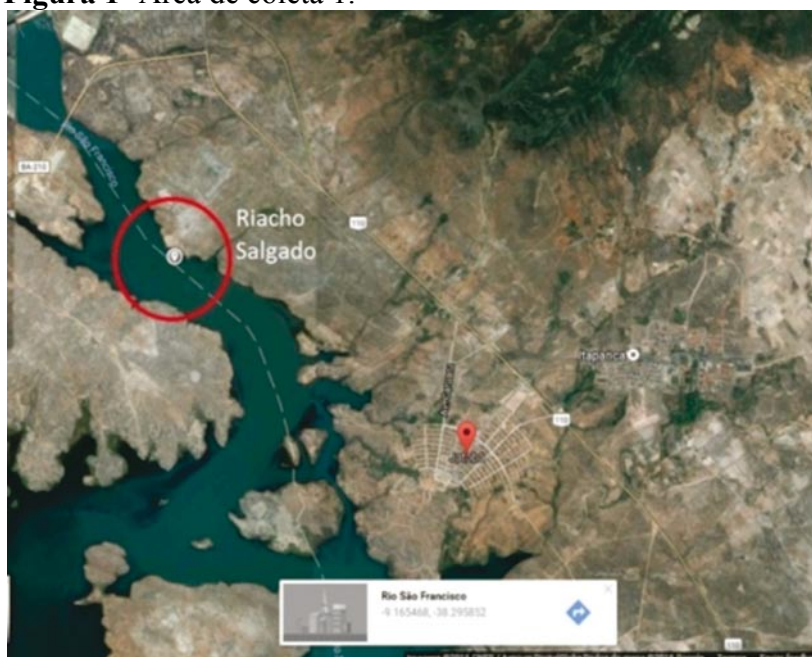
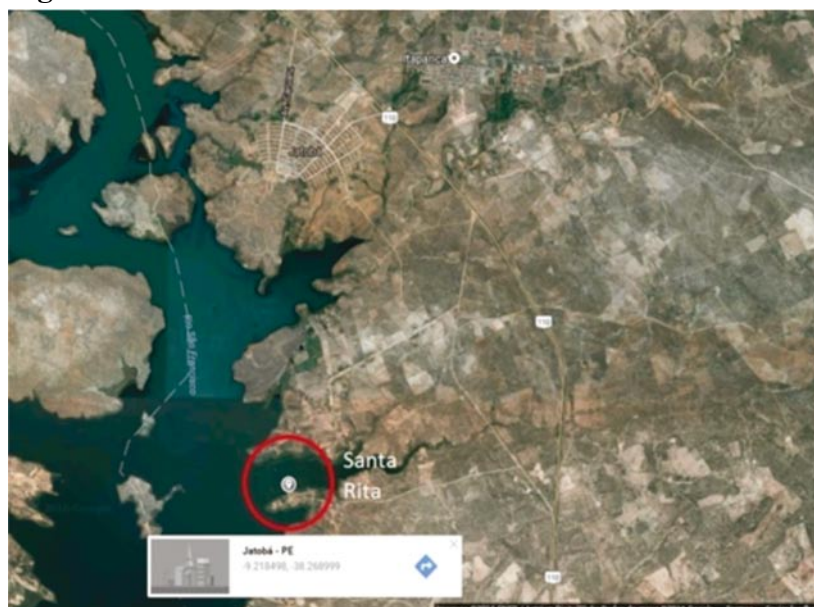


Figura 2 – Área de Coleta 2



Optou-se pelo peixe da espécie *Oreochromis niloticus* como bioindicador para os testes de avaliação da atividade enzimática da AChE e BChE e Teste de Micronúcleo.

A amostra utilizada foi de 10 peixes por área de coleta, quantidade considerada suficiente para representar o universo da pesquisa, mantendo a confiabilidade que o estudo

propõe. Para fins de comparação de efeitos, uma amostra controle foi coletada na base da Universidade Rural de Pernambuco (UFRPE), na Cidade de Recife, onde essa espécie é cultivada em água limpa. Nesta localização foram também coletados 10 espécimes de *Oreochromis niloticus*, afim de homogeneização amostral.

Procedimentos

Cerca de 1 ml de sangue periférico de cada animal foi coletado através da veia caudal com seringa estéril e heparinizada, e, imediatamente, gotejado (uma gota de sangue) em uma lâmina limpa e seca, sendo realizado um esfregão. Deixada a lâmina para secar em temperatura ambiente, posteriormente foi utilizada para a análise de micronúcleos. O restante da amostra foi transferido para microtubos, com anticoagulante, para análise enzimática. Logo a-pós, o animal foi sacrificado, utilizando-se anestésico, e seus tecidos como cérebro e fígado foram coletados e imediatamente congelados e encaminhados para o laboratório de Enzimologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Atividade Colinesterásica

As atividades das enzimas acetil e butirilcolinesterase foram determinadas através do método colorimétrico modificado por Assis et al. (2010)¹⁴: os tecidos foram homogeneizadas até a concentração de 20 mg de tampão/mL de tecido. Em seguida, centrifugados coletando-se o sobrenadante que adicionado ao reagente cromogênico DTNB. Os substratos acetil ou butiriltiocolina foram adicionados imediatamente antes da leitura a 405 nm durante 3 min. em espectrofotômetro de microplacas.

A dosagem de proteínas no extrato bruto foi realizada através do método modificado por Sedmak e Grossberg (1977),¹⁵ utilizando-se albumina de soro bovino como padrão.

Todas as análises enzimáticas foram realizadas em quadruplicata, exceto nas determi-

nações de proteína (triplicata). Os dados foram então analisados utilizando-se o software de bioestatística MicroCal™ Origin® Versão 6.0 (Northampton, MA, EUA).

Teste de Micronúcleo

A inspeção do dano genômico foi estabelecida através do Teste do Micronúcleo. Para esta análise, foi empregada a técnica descrita por Heddel (1973) e Schmid (1975),^{16,17} com algumas modificações. As lâminas previamente confeccionadas foram fixadas em metanol absoluto (Merck) por 10 minutos. A coloração da lâmina foi efetuada com corante Giemsa (Merck) diluído (1:30) em tampão fosfato (KH₂PO₄ + Na₂HPO₄, Merck), pH 6.8, por 10 minutos. Após o tempo determinado, as lâminas foram lavadas com água destilada e deixadas para secar em temperatura ambiente.

Foram analisadas 1.000 células de cada indivíduo em microscópio óptico, quantificando, entre estas, as células normais e as micronucleadas. As frequências das células micronucleadas foram estabelecidas e comparadas estatisticamente pela ANOVA (nível de significância 5%). Utilizando o teste qui-quadrado para comparar as médias das variáveis categóricas.

RESULTADOS

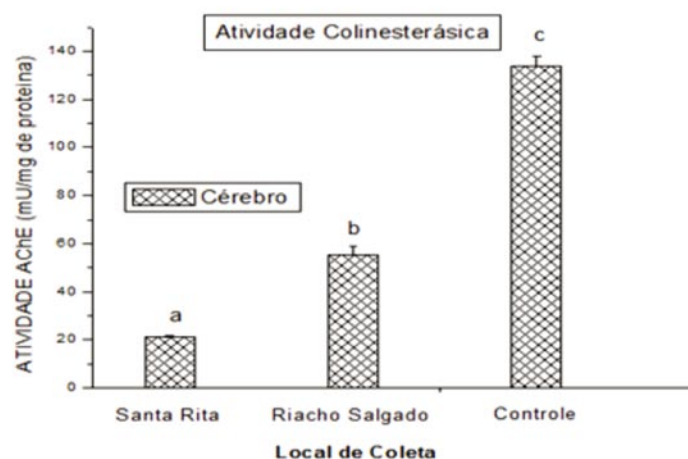
Atividades Colinesterásicas:

Atividade da AchE cerebral

As análises da atividade da AchE cerebral mostraram diferenças significativas nas

áreas de coleta em comparação com o controle. Na localidade Santa Rita a atividade está menor que na localidade do Riacho Salgado. Em relação ao controle as atividades nas duas áreas de coleta foram menores (Figura 3).

Figura 3- Atividade da Acetilcolinesterase(AChE) Cerebral de *Oreochromus niloticus*.



Fonte: Pesquisa de campo realizada em novembro,2016.

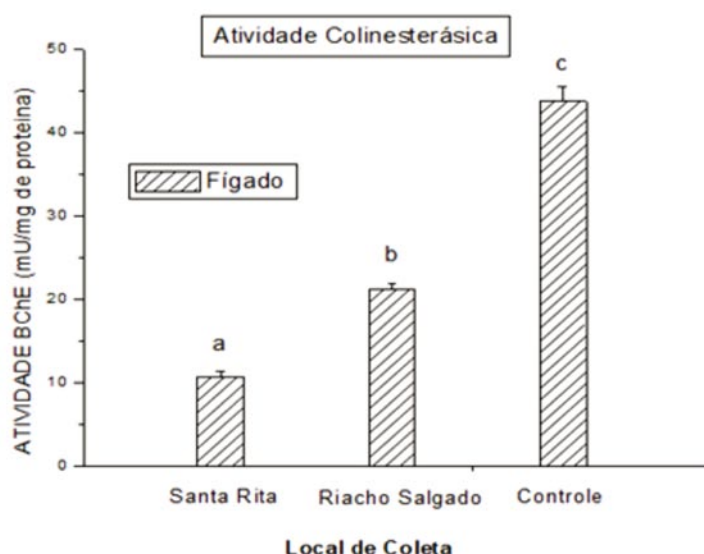
Nota: Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

Atividade da BchE no Fígado

As análises da atividade BchE no fígado demonstram diminuídas nas áreas de coleta

em comparação ao controle. Na localidade da Santa Rita a atividade esta menor que na localidade do Riacho Salgado (Figura 4).

Figura 4 - Atividade da Butirilcolinesterase (BChE) de *Oreochromus niloticus*.



Fonte: Pesquisa de Campo realizada em novembro,2016.

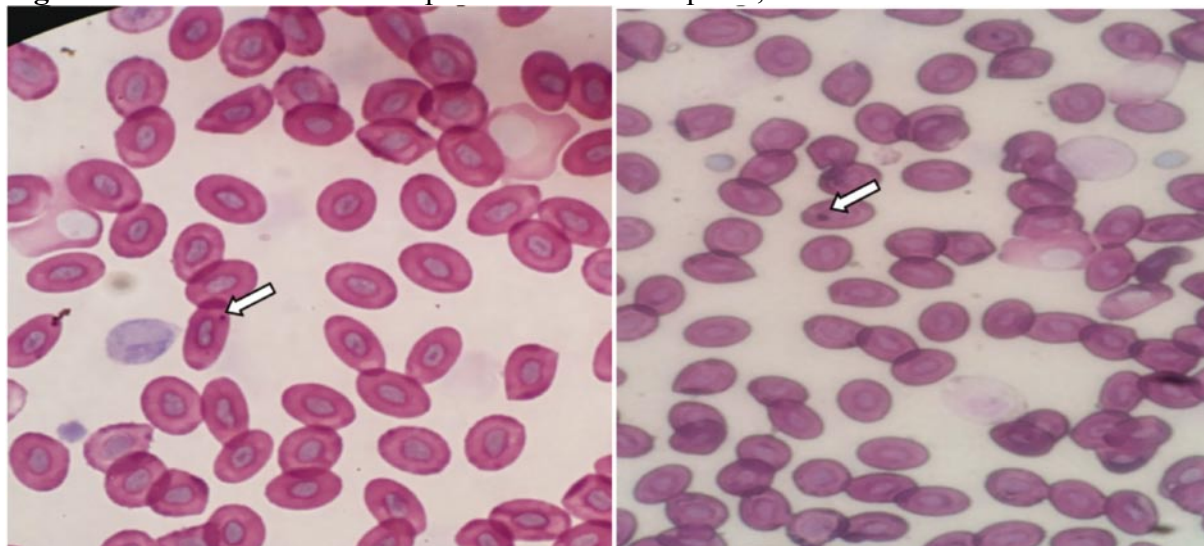
Nota: Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

Teste de Micronúcleo

Na análise do dano Genômico, nos peixes *Oreochromis niloticus* foi observado afreqü-

ência de micronúcleos, como exemplificado nas figuras 5 e 6 ,estas analisadas 1000 células por peixe.

Figura 5 e 6 – Foto de Microscopia de eritrócitos de peixe, indicando micronúcleos.



Fonte: Pesquisa de campo realizada em novembro, 2016.

Nota: Setas indicam Micronúcleo em eritrócitos.

Dentre os locais coletados para avaliar a genotoxicidade da água do reservatório de Itaparica, a localidade da Santa Rita foi o que apresentou maior freqüência de Micronúcleo (media de 4.66 ± 2.17) em relação a localidade do Riacho Salgado (Tabela 1) e ambos apresentaram diferença significativa, $p < 0,01$,

quando comparados com o Lago Paranoá, considerado um ambiente impactado. Por meio do cálculo de média, analisado pelo teste ANOVA e comparação entre as médias, utilizando o teste do qui-quadrado, consideramos o nível de 5% de significância para verificar a diferença entre as medias dos locais de coleta.

Tabela 1- Médias e Desvio Padrão de Micronúcleos de *Oreochromis niloticus* coletados em diferentes localidades.

Local de Coleta	Total de exemplares	Micronúcleo	Referência
Santa Rita	10	$4.66 \pm 2.17^*$	Presente trabalho
Riacho Salgado	10	$3.86 \pm 1.03^*$	Presente trabalho
Lago Paranoá	22	0.87 ± 1.23	Grisólia, 2009
Rio Paranaíba	10	$11,3 \pm 3.74$	Silva;Nepomuceno2010
Lago Azul	10	$4,2 \pm 1,7^*$	Christofoletti, 2008

Fonte: pesquisa de campo realizada em novembro, 2016.

DISCUSSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho apresentaram forte relação com as características da ocupação e das atividades insustentáveis desenvolvidas em cada local de coleta, que são marcados por várias irregularidades devido a seus múltiplos usos pela população de seu entorno. Devido à inexistência de um local livre de poluentes, comparamos o ambiente em estudo com o Lago Paranoá-DF, diagnosticado como impactado ao usar a mesma espécie do nosso estudo no seu monitoramento. O lago de Itaparica apresentou maior índice de proporcionalidade das médias de micronúcleos em relação à média dos mesmos parâmetros obtidos em Tilápias no Lago Paranoá, sugerindo um maior grau de impacto no lago de Itaparica.

Silva (2012)¹⁸ relata em seu estudo o impacto que os recursos hídricos vem sofrendo, principalmente sobre os reservatórios de água, que são originados com finalidade de gerar energia, porém seu uso se destina a vários afins.

O reservatório de Itaparica é um exemplo de reservatórios de múltiplos usos, gerando um comprometimento da qualidade da água, conseqüentemente para saúde pública que utiliza a água como abastecimento. Melo (2006)¹⁹ relata que no reservatório de Itaparica não sendo respeitada a área de 100 metros de preservação, onde a predominância é de várias pisciculturas uma ao lado da outra.

Micronúcleos são bastante utilizados para identificar danos em populações expostas a agentes genotóxicos, que são capazes de gerar

fragmentos cromossômicos ou perdas cromossômicas durante a divisão celular, resultando em micronúcleos que podem ser visualizados no citoplasma. Uma frequência elevada de micronúcleos indica dano cromossômico²⁰.

De acordo com estudos de Saotome e Hayashi (2003)²¹, Bucker e Conceição (2004)²² micronúcleos em peixes possuem grande incidência quando exposto seus eritrócitos a substâncias poluentes, como pesticidas e metais pesados que são acumulados no reservatório.

A frequência de micronúcleos analisadas no presente estudo, evidenciam a presença de substâncias genotóxicas, causando um dano no material genético do peixe, os resultados obtidos (tabela 1) foram maiores que os resultados em estudos de Christofolletti (2008)²³ que relata a qualidade do Lago Azul está comprometida com presença de agentes com potencial genotóxico. Silva; Nepomuceno (2010)²⁴ em seu estudo obteve frequência de micronúcleo muito elevada comparada ao presente estudo, porém eles analisaram o dobro de células que o presente estudo analisou.

Ferrari et, al (2004)²⁵ relata que a atividade colinesterásica está sendo usada como biomarcador, evidenciando a presença de pesticidas e inseticidas, usados na agricultura, sendo o último, na aquicultura, para combater parasitas. Monserrat et,al.(2001)²⁶ afirma que as atividades colinesterásicas são inibidas por compostos anticolinesterásicos, estes que podem ser produzidos naturalmente em consequência da poluição, ou pela ação de pesticidas e inseticidas.

Estudos feitos por Tortelli (2005)²⁷ que encontraram baixa atividade enzimática colinesterásicas em áreas contaminadas, comparadas as atividades do controle, corroboram com a atividade da Acetilcolinesterase e Buririlcolinesterase determinadas no presente estudo.

Apesar de não possuir sua função totalmente elucidada, a butirilcolinesterase, que está presente principalmente no fígado, é apontada na literatura como uma enzima detoxificadora e sua inibição evidencia uma proteção contra agentes anticolinérgicos principalmente para o sistema nervoso central que sofre forte ação desses agentes através da inibição da AChE.

Os resultados obtidos estão relacionados às substâncias poluentes presente no reservatório de Itaparica, que provem das atividades de agricultura e piscicultura, praticadas entorno do rio. A agricultura na região em estudo utiliza pesticidas que são carregados até chegarem ao rio, onde serão bioacumulados pelos peixes, estes que são cultivados por meio de tanques redes, na prática de piscicultura local.

Em Agosto de 2016 a água na localidade de Santa Rita apresentou-se esverdeada, com bastante proliferação de algas. De acordo com Macedo e Sipaúba-Tavares (2010)⁹ afirmam que proliferação de algas é referente a uma Eutrofização artificial que é originada por efluente de pisciculturas e atividades agrícolas. Supõe-se que a frequência de Micronúcleos mais elevada na Santa Rita, e a atividade colinesterásica mais inibida, comparada ao local Riacho Salgado deve-se a uma maior

concentração de Pisciculturas e Irrigação no entorno do rio em sua localidade.

CONCLUSÕES

O Teste do Micronúcleo demonstrou que houve efeito mutagênico significativo sobre os eritrócitos de *Oreochromus niloticus*, capturados em duas pisciculturas no reservatório de Itaparica.

O estudo revelou a presença de efeitos genotóxicos mais intenso na localidade de Santa Rita, sugerindo um risco ambiental para esta e outras espécies que estão integradas à água oriunda desta localidade.

O presente trabalho, através da análise das enzimas colinesterásicas, revelou efeitos deletérios, na espécie em estudo, dos contaminantes oriundos dos pontos estudados, sugerindo um potencial efeito toxicológico das misturas desses contaminantes nos ambientes amostrados.

Os múltiplos usos da água e do solo em torno do reservatório apontam para uma necessidade de contínuo monitoramento afim de melhor gerir o uso desses recursos.

Detalhes dos autores:

¹ Bacharel em biomedicina pela Faculdade Sete de Setembro,

² bacharel em biomedicina pela Faculdade Sete de Setembro,

³ Doutora em Ciências Biológicas pela UFPE, autor para correspondência: kalinnecampos@yahoo.com.br

Conflitos de interesse:

Não há conflitos de interesse.

Recebido: 20 Outubro 2017. **Aceito:** 01 Dezembro 2017. **Publicado:** xx Março 2018.

REFERÊNCIAS

1. Melo, G. L. Estudo da qualidade da água no reservatório de Itaparica localizado na bacia do rio São

- Francisco.2007.99f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos do Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2007.
2. Fuzinato, C. F. Avaliação toxicológica em peixes da espécie *oreochromis niloticus* expostos às águas do rio cubatão do sul/sc: estudo genotóxico, epigenético e de estresse oxidativo. 2013. 149f.Dissertação (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.
 3. IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. Geo Brazil, 2002. BRAZIL Environment Outlook. Brasília, 2002.
 4. Barr, D.B. et al. Concentrations of Dialkyl Phosphate Metabolites of Organophosphorus Pesticides in the U.S. Population. *Environmental Health Perspectives*. 2004; 112(2): 186-200.
 5. Dubus, I. G. et al. Pesticides in rainfall in Europe. *Environmental Pollution*. 2000; 110(3):331-344.
 6. Tomita, R.Y.; Beyruth, Z. Toxicologia de ambientes aquáticos. *O Biológico*. 2002; 64(1):135-142.
 7. Reifferscheid G., Grummt T. Genotoxicity in German surface waters – results of a collaborative study. *Water Air Soil Pollut*. 2000; 123 (2): 67-79.
 8. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Boas práticas de manejo (BPMs) para a produção de peixes em tanques-redes. Corumbá: EMBRAPA Pantanal. 2003; 27p.9. Macedo, C.F.; Sipaúba-Tavares, L.H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Boletim do Instituto de Pesca*. 2010; 36: 149 -163.
 10. Kligerman, A. D. Fishes as biological detector of the effects of genotoxic agents, In *Mutagenicity: New Horizons in Genetics Toxicology*. Academic Press. 1982; 435-455.
 11. Sobral, M D.; et al. Uso e ocupação dos solos no entorno de reservatórios no semi-árido brasileiro como fator determinante da qualidade da água. In: Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitária y Ambiental.2006.
 12. Melo. G.L. et al. Influência de variáveis ambientais na comunidade fitoplanctônica nos reservatórios receptores do projeto de integração do Rio São Francisco. *Revista Brasileira de Geografia Física*. 2012; 6: 1300-1316.
 13. Valenti, W.C. Aquicultura sustentável. In: Congresso de Zootecnia, Vila Real, Portugal, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais. 2002; 12º: 111-118.
 14. Assis, C.R.D et al. Characterization of acetylcholinesterase from the brain of the Amazonian tambaqui (*Colossoma macropomum*) and in vitro effect of organophosphorus and carbamate pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2010; 29(1): 2243 -2248.
 15. Sedmak, J. J., & Grossberg, S. E. A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using Coomassie brilliant blue G250. *Analytical Biochemistry*. 1977;79(2): 544-552.
 16. Heddel, J. A. A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Res*. 1975 18(2):187-190.
 17. Schmid, W. The micronucleus test. *Mutation Res*. 1975;31(1): 9-15.
 18. Silva, C.C. K. Caracterização da Acetilcolinesterase cerebral de tucunaré, *Cichla ocellaris* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801): efeito de íons e pesticidas organofosforados e carbamatos sobre sua atividade.2012. 80f.Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biologia, Uni-versidade Federal de Pernambuco,Recife; 2012.19. Melo C.; Moreno, P. Bioindicadores como ferramenta para o manejo, gestão e conservação ambiental In: Simpósio Sul de Gestão E Conservação Ambiental, 2. 2006, Erechim. Anais. Erechim: URI-Campus de Erechim, 2006.
 20. Araldi R., et al. Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. *Bio. Pharma*. 2015; 72(1): 74-82.
 21. Saotome, Kyoko; Hayashi, Makoto. Application of a sea urchin micronucleus assay to monitoring aquatic pollution: influence of sample osmolality. *Mutagenesis*. 2003; 18(1): 73-76.
 22. Bucker, Augusto e Conceição, Moisés B. Avaliação da genotoxicidade por frequência de micronúcleos em eritrócitos de tilápias expostas às águas dos rios Itajaí-Açú e Itajaí-Mirim, Santa Catarina – Brasil. In: Congresso Brasileiro Deecotoxicologia, 8, 2004, Florianópolis. Resumos. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia – SETAC, 2004.
 23. Christofolletti, C. A. Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lântico, por meio dos sistemas-teste de *allium cepa* e *oreochromis niloticus*.2008.129f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2008.
 24. Costa E Silva, A.; Nepomuceno, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. *Perquirêre - Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM*. Patos de Minas: UNIPAM. 2010; 7(1): 167-179.
 25. Ferrari, A., Venturino, A. & D'Angelo, A.M.P. Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphos 33 methyl, parathion and carbaryl exposure in the gold fish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology Environmental Safety*. 2004; 57(3): 420-425.
 26. Monserrat, J.M. & Bianchini, A. Anticholinesterase effect of serine (physostigmine) in fish and crustacean species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2001; 44(2): 63-68.
 27. Tortelli, V. Atividade colinesterásica no monitoramento ambiental: importância da determinação de parâmetros cinéticos em peixes estuarinos. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas: Fisiologia animal comparada) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2005.