

## **EFEITOS DO BTX (BENZENO, TOLUENO E XILENO) EM TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818)**

Luciana Mara Lopes FÉ<sup>1</sup>; Adalberto Luis VAL<sup>2</sup>; Fabíola Xochilt VALDEZ DOMINGOS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista IC/CNPq/INPA; <sup>2</sup>Orientador INPA/CPEC; <sup>3</sup>Co-Orientadora INPA/CPEC

### **1. Introdução**

A contaminação dos recursos hídricos por compostos tóxicos presentes em derivados de petróleo, decorrente de atividades antrópicas, representa um sério problema ambiental e de saúde pública (Tiburtius *et al.*, 2004). Esses contaminantes podem induzir efeitos prejudiciais em organismos aquáticos, os quais podem apresentar alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais (Aas *et al.*, 2000; Ribeiro, 2007).

O benzeno, o tolueno e o xileno (BTX) são compostos monoaromáticos derivados do petróleo e constituem frações consideráveis dos combustíveis fósseis, como a gasolina e o óleo diesel (Corrêa e Arbilla, 2007). O BTX apresenta alto potencial poluidor quando presente no solo e no ambiente aquático, além disso, os três compostos são comprovadamente tóxicos e carcinogênicos aos organismos aquáticos e aos seres humanos (Tiburtius *et al.*, 2004; Ribeiro, 2007; Trigueros, 2008).

*Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), conhecido popularmente como tambaqui, é um peixe nativo da Amazônia, pertencente à família Characidae. É uma espécie onívora (Santos *et al.*, 2006; FishBase, 2009) que apresenta hábito pelágico e diurno (Soares *et al.*, 2007). Apresenta importância destacada na pesca e piscicultura regional (Santos *et al.*, 2006), sendo muito apreciado na alimentação da população local.

Considerando a suscetibilidade de regiões específicas da Amazônia à contaminação por derivados de petróleo, como o BTX, evidencia-se a necessidade da realização de estudos que identifiquem os efeitos desses compostos em espécies amazônicas de forma mais ampla, que poderá permitir intervenções mais seguras visando à conservação dos recursos naturais e a manutenção da diversidade biológica da Amazônia. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do BTX no tambaqui.

### **2. Material e Métodos**

**Obtenção dos Animais e Aclimação:** Exemplares de tambaqui foram adquiridos em pisciculturas da região, transportados ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM/CPEC/INPA), onde foram aclimatados em um tanque de 500 L, dotado de sistema de aeração constante e termostatos (30,7±1,3°C), e alimentados com ração comercial durante todo o período pré-experimental. A alimentação foi suspensa 48 horas antes do início dos experimentos e ao longo dos mesmos.

**Exposição ao BTX:** Juvenis de tambaqui (20,7±8,0 g e 9,0±1,0 cm de comprimento) foram expostos a diferentes concentrações isoladas de benzeno, tolueno e xileno. Para cada ensaio, os tratamentos consistiram de três tanques de fibra de vidro contendo 150 L de água e 10, 100 e 200 ppm de cada composto e um tanque controle mantido sem contaminante. Após um dia de exposição, seis peixes do controle e seis peixes de cada tratamento foram coletados aleatoriamente e anestesiados com ácido-etil éster-3-aminobenzóico (MS 222) tamponado com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) para a obtenção de amostras de sangue e fígado.

**Anormalidades Nucleares Eritrocíticas (ANE):** Esfregaços sanguíneos foram corados com solução de Giemsa e tampão fosfato (pH 5,6), durante 15 minutos, lavados em água corrente e secos à temperatura ambiente. A análise das lesões nucleares foi realizada segundo a metodologia descrita por Carrasco *et al.* (1990) que classifica as ANE em quatro categorias: micronúcleo (M), núcleo lobado (L), núcleo segmentado (S) e núcleo em forma de rim (R). Foram avaliados 1.000 eritrócitos de cada indivíduo sob microscópio óptico (Labomed®) com aumento de 100X. O resultado foi apresentado em porcentagem (%) de ANE, considerando a soma de todas as lesões (M+L+S+R).

**Atividade Enzimática da GST (Glutathione-S-Transferase):** Após a homogeneização de uma porção do fígado dos animais, o nível de atividade da GST foi determinado de acordo com o método descrito por Habig *et al.* (1974), sendo sua leitura realizada a 25°C em espectrofotômetro (Spectronic Genesis 2), em comprimento de onda 340nm. O resultado da atividade absoluta da GST foi estimado usando-se o coeficiente de extinção do CDNB (clorodinitrobenzeno) e a atividade enzimática da GST foi expressa em  $\mu\text{moles substrato.mg.ptn}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .

*Análise Estatística:* Os dados de anormalidades eritrocíticas nucleares foram analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis. Os resultados da atividade enzimática da GST foram analisados por ANOVA de uma via. O nível de significância adotado foi de 95%.

### 3. Resultados e Discussão

*Indução de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas pelo BTX:* O percentual de ANE foi similar entre o grupo controle e os grupos experimentais (10, 100 e 200 ppm) dos animais expostos a concentrações isoladas de benzeno, tolueno e xileno após 1 dia de exposição ( $p > 0,05$ ) (tabela 1). Estes resultados divergem dos encontrados por Vanzella *et al.* (2007) que observaram danos genotóxicos e mutagênicos em eritrócitos de *Prochilodus lineatus* após exposição aguda (96h) e subcrônica (15 dias) em frações de diesel solúveis em água (DWSF), e também diferem dos resultados obtidos por Pacheco e Santos (2001) que observaram efeitos genotóxicos nos núcleos de *Anguilla anguilla* expostos à DWSF após 6 dias (Pacheco e Santos, 2001). A frequência de ANE avaliada em juvenis de tambaqui indica que o tempo de exposição (24 h), não foi suficiente para induzir lesões nucleares de forma significativa nos animais tratados.

Tabela 1. Ocorrência de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas em juvenis de tambaqui submetidos à exposição ao benzeno, tolueno e xileno após 1 dia. Dados expressos como mediana (25%-75%).

Contaminante	Controle	Tratamentos			<i>p</i>
		10 ppm	100 ppm	200 ppm	
Benzeno	1,80 (1,25-2,32)	2,70 (1,97-3,14)	1,68 (1,49-3,21)	2,10 (1,62-2,70)	0,59
Tolueno	1,05 (0,60-1,40)	1,36 (1,10-2,00)	2,05 (1,50-2,30)	3,20 (1,20-4,10)	0,10
Xileno	0,80 (0,70-1,20)	0,70 (0,30-1,60)	0,85 (0,60-1,20)	0,75 (0,60-1,20)	0,99

*Análise da atividade da GST:* Os peixes expostos ao benzeno, tolueno e xileno apresentaram respostas diferenciadas na atividade da GST (Figura 1). Exemplos de tambaqui expostos ao benzeno apresentaram níveis de atividade da GST similares quando comparados ao grupo controle ( $p=0,73$ ). Após a exposição ao tolueno, a atividade da GST apresentou-se significativamente mais elevada nos animais expostos a concentração de 100 e 200 ppm em comparação ao controle ( $p=0,02$ ). Os juvenis de tambaqui submetidos ao xileno durante 1 dia apresentaram aumento significativo na atividade enzimática de GST apenas no grupo exposto a maior concentração (200 ppm) quando comparados ao grupo controle ( $p=0,03$ ). Esses resultados corroboram os dados de Simonato *et al.* (2008) que verificaram aumento da atividade da GST em juvenis do peixe neotropical *Prochilodus lineatus* expostos à fração de óleo diesel solúvel em água após 96 h e 15 dias em relação ao grupo controle. A alteração na atividade enzimática observada no fígado de tambaquis expostos ao tolueno e ao xileno indica que a presença desses dois compostos orgânicos durante 24 h foi suficiente para induzir os mecanismos de metabolização de xenobiontes desta espécie.

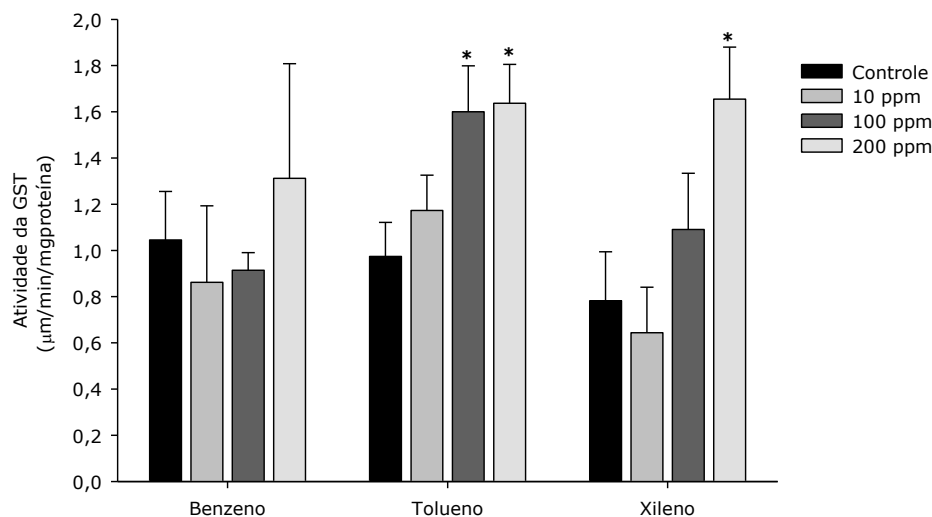


Figura 1. Atividade da Glutationa-S-Transferase em *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações de benzeno, tolueno e xileno durante um 1 dia (média  $\pm$  erro padrão). \* indica diferença estatística significativa em relação ao controle do respectivo tratamento ( $p < 0,05$ ).

Os resultados obtidos indicam a necessidade de estudos que utilizem tempos de exposição mais prolongados para avaliar os efeitos do BTX em *Colossoma macropomum*.

#### 4. Conclusão

Dentre os três compostos avaliados o tolueno e o xileno apresentaram-se mais tóxicos que o benzeno para a espécie *Colossoma macropomum*.

#### 5. Referências

Aas, E.; Baussant, T.; Balk, L.; Liwenborg, B.; Andersen, O.K. 2000. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquatic Toxicology*, 51(2000): 241-258.

Carrasco, K.R.; Tilbury, K.L.; Myers, M.S. 1990. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 2123-2136.

Corrêa, S.M.; Arbilla, G. 2007. A two-year monitoring program of aromatic hydrocarbons in Rio de Janeiro downtown área. *Sociedade Brasileira de Química*, 18(3): 539-543.

FishBase, 2009. *Colossoma macropomum*. Disponível em <http://www.fishbase.org/>. Acesso: 22/05/09.

Habig, W. H.; Pabst, M.J.; Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-Transferase: the first enzymatic in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*; 249(22): 7130-7139.

Pacheco, M.; Santos, M.A. 2001. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 64-75.

Ribeiro, E.A. 2007. *Efeitos de concentrações subletais dos hidrocarbonetos poliaromáticos específicos BTX (benzeno, tolueno e xileno) no peixe Spheroides testudines (Linnaeus, 1758) através de biomarcadores bioquímicos e histológicos*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 60 pp.

Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G.; Zuanon, J.A.S. 2006. *Peixes comerciais de Manaus*. IBAMA/AM, ProVárzea, Manaus. 144pp.

Simonato, J.D.; Guedes, C.L.B.; Martinez, C.B. 2008. Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 112-120.

Soares, M.G.M.; Costa, E.L.; Siqueira-Souza, F.K.; Anjos, H.D.B.; Yamamoto, K.C.; Freitas, C.E.C. 2007. *Peixes de lagos do Médio rio Solimões*. Manaus. 172pp.

Tiburtius, E.R.L.; Peralta-Zamora, P; Leal, E.S. 2004. Contaminação de águas por BTXS e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. *Química Nova*, 27(3): 441-446.

Trigueros, D.E.G. 2008. *Avaliação da cinética de biodegradação de compostos tóxicos: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX) e fenol*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Paraná. 157pp.

Vanzella, T.P.; Martinez, C.B.R.; Cólus, 2007. Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species. *Mutation Research*, 631: 36-43.