

INFLUÊNCIA DO CARBONO ORGÂNICO DISSOLVIDO NA SENSIBILIDADE AO COBRE EM PEIXES AMAZÔNICOS

Ronildo Oliveira FIGUEIREDO¹; ²Karen Yuri Suguiyama da SILVA; ³Rafael Mendonça DUARTE; ⁴Fabiola Xochilt Valdez DOMINGOS; ⁵Adalberto Luis VAL.

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Bolsista AT/FAPEAM; ³Colaborador LEEM/CPEC/INPA; ⁴Co-orientadora CPEC/ INPA; ⁵Orientador CPEC/ INPA

1. Introdução

Na Amazônia podemos encontrar três tipos de água: brancas, pretas e claras com a presença de outros tipos intermediários (Sioli, 1984). A diferença entre esses tipos de água decorre de propriedades químicas e físicas específicas ao longo da bacia amazônica (Junk *et al.*, 1989). As águas escuras do rio Negro apresentam caráter ácido devido à presença de grande quantidade de ácidos húmicos e fúlvicos proveniente da decomposição de matéria vegetal originada nas florestas inundáveis (Furch e Junk, 1997). A qualidade da água do planeta nos últimos anos tornou-se uma preocupação constante em vários países, uma vez que as ações antrópicas têm prejudicado muito os ecossistemas aquáticos. Com o desenvolvimento da industrialização ocorreu uma grande translocação de cobre da litosfera para a superfície da Terra. Como resultado do processo metalúrgico, produção de ferro e aço, combustão de carvão e madeira e incineração de resíduos, os organismos vivos atualmente convivem com emissões de cobre quatro vezes maiores que o fluxo de origem natural dos períodos pré-industriais (Ellgaard & Guillot, 1988). O metal cobre é um elemento essencial requerido por todos os organismos vivos em diversas reações fisiológicas e bioquímicas (Norgate *et al.*, 2006); porém, quando presente em níveis elevados torna-se prejudicial à saúde dos organismos, sendo reconhecido como um dos metais mais tóxicos para os peixes (Ellgaard & Guillot 1988). A toxicidade do cobre pode ser influenciada pelas características físico-químicas da água, como dureza, alcalinidade, pH, temperatura, oxigênio dissolvido e quantidade de carbono orgânico dissolvido (Di Toro *et al.*, 2001). O modelo do ligante biótico (BLM), criado por Di Toro e colaboradores (2001), prediz a quantidade de íons metálicos que pode causar toxicidade aos organismos aquáticos, considerando a biodisponibilidade dos metais e a interação com a biota. Isto ocorre em consequência de variações físico-químicas da água e da capacidade de ligação entre os metais e os sítios de ação presentes nas brânquias. Na presença de COD ou elevados níveis de sais, os metais tendem a fazer ligações com esses compostos, resultando em diminuição de sua biodisponibilidade. A espécie *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), tambaqui, é nativa dos rios Amazonas, Orinoco e seus afluentes. Possui grande valor comercial e sua carne é bastante apreciada pela população local. Essa espécie pode chegar até 1 metro de comprimento e pesar até 30 quilos (Santos *et al.*, 2006). O tambaqui é uma espécie onívora com tendência zooplânctófaga. A maturação sexual desta espécie ocorre a partir do 4º ou 5º ano de vida; no entanto, já foram observados casos de maturação sexual no ambiente de cativeiro a partir do terceiro ano de vida e sua reprodução ocorre no período chuvoso nos rios de água branca (IPAAM, 2001). O matrinxã (*Brycon amazonicus*, Spix e Agassiz 1829) é uma espécie nativa da bacia amazônica possui hábito alimentar diversificado sendo classificado como onívoro. Alimenta-se de insetos, sementes e frutos como acapurana (*Campsiandra angustifolia*, Spruce e Benth 1870), bacaba (*Oenocarpus bacaba*, Van Martius 1794) seringa barriguda (*Hevea spruceana*, Benth 1865), seringa verdadeira (*Hevea brasiliensis*, Mull e Arg 1890), entre outras. Essa espécie pode pesar até 4 quilos e atingir a maturação sexual a partir dos 3 anos de vida. Possui crescimento rápido e faz migração durante o período de reprodução, que ocorre no início do período de enchente (Santos *et al.*, 2006). Por ser uma espécie de crescimento rápido possui uma grande importância econômica, sendo uma das espécies mais desembarcadas nos portos de Manaus e Porto Velho (IPAAM, 2001).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de carbono orgânico dissolvido por meio de diluições da água do rio Negro na sensibilidade ao cobre de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e matrinxã (*Brycon amazonicus*), bem como aplicar os dados gerados no BLM e compará-los aos dados obtidos experimentalmente a fim de validar o modelo para as águas da Amazônia.

2. Material e métodos

Os exemplares de tambaqui e matrinxã, com aproximadamente 4 cm de comprimento e 1 g de peso foram adquiridos em pisciculturas da região e transportados ao laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular, CPEC/INPA. Os experimentos foram realizados com diferentes diluições da água do rio Negro (0, 20, 40, 60, 80 e 100%), mantendo a proporção peso/volume de 0,8 g.L⁻¹ em regime de fluxo contínuo, com duração de 96 horas. Cada bateria experimental continha 10 câmaras com volume de 9L e 10 estoques com capacidade para 27L com diferentes concentrações de cloreto de cobre. Os estoques foram usados para renovar a solução-teste nas câmaras experimentais. Todas as câmaras experimentais continham aeração constante e estavam conectadas a recipientes plásticos contendo hidróxido de cálcio para o descarte da solução-teste. A medida das características físico-químicas da água foi efetuada diariamente durante a execução dos experimentos. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro da marca YSI; as medidas de temperatura e de oxigênio dissolvido foram realizadas com o auxílio de um oxímetro da marca YSI, modelo 55/12 FT e as medidas de alcalinidade e dureza foram realizadas com amostras de 200mL de água de cada experimento. A dureza foi medida por titulação das amostras previamente tamponadas com EDTA até ponto de viragem de lilás para azul com o indicador negro de eriocromo e a alcalinidade foi obtida por meio de titulação de H₂SO₄ 0,02N até atingir pH 4,3. Amostras de água dos experimentos foram coletadas a cada 24h para a determinação da concentração real de cobre e de sais dissolvidos (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺), os quais foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer, modelo Analyst-800). A concentração de cloreto foi determinada por meio do ensaio colorimétrico descrito por Zall e colaboradores (1956). A concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) foi determinada pela CETESB em amostras de água acidificadas com ácido sulfúrico concentrado até atingir pH<2. O programa computacional "LC₅₀ Programs JS Pear Test" foi utilizado para o cálculo das CL₅₀-96 h (Hamilton *et al.*, 1977). O programa opera de acordo com o método Trimmed Spearman-Kärber que relaciona os valores de mortalidade com as concentrações do agente contaminante. Todos os dados abióticos avaliados neste estudo foram inseridos no programa BLM (Biotic Ligand Model) para o cálculo da CL₅₀. Os resultados obtidos com o auxílio do programa foram comparados com os dados obtidos experimentalmente a fim de validar e calibrar o modelo para águas da Amazônia. O BLM está disponível no endereço eletrônico da Hydroqual (<http://www.hydroqual.com>).

3. Resultados e discussão

As características físico-químicas da água em todos os experimentos estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas da água. Alcal – alcalinidade; Dur – dureza.

| Tipo de Água | Temp °C | pH | Cálcio mg.L ⁻¹ | Magnésio mg.L ⁻¹ | Sódio mg.L ⁻¹ | Potássio mg.L ⁻¹ | Cloreto mg.L ⁻¹ | Alcal.(mg. CaCO ₃ .L ⁻¹) | Dur.(mg CaCO ₃ .L ⁻¹) |
|----------------|---------|----------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|--|
| Água do poço | 26,0 | 6,8±0,02 | 0,31±0,02 | 0,06±3,46 | 2,69±0,02 | 1,07±0,07 | 1,29±0,38 | 2,0 | 1,7 |
| 20% rio Negro | 25,3 | 6,9±0,03 | 0,49±0,03 | 0,09±6,51 | 2,36±0,05 | 0,89±0,07 | 1,39±0,58 | 3,0 | 2,6 |
| 40% rio Negro | 26,0 | 6,6±0,06 | 0,37±0,03 | 0,11±7,99 | 1,85±0,10 | 0,72±0,09 | 2,10±0,16 | 5,0 | 3,5 |
| 60% rio Negro | 25,9 | 6,9±0,04 | 0,67±0,10 | 0,10±5,34 | 1,61±0,09 | 0,70±0,08 | 1,92±0,08 | 5,0 | 4,0 |
| 80% rio Negro | 26,1 | 6,3±0,08 | 1,13±0,04 | 0,15±4,89 | 1,41±0,10 | 1,01±1,11 | 2,39±0,87 | 4,0 | 4,4 |
| 100% rio Negro | 26,0 | 6,3±0,06 | 0,56±0,01 | 0,14±4,84 | 0,89±0,14 | 0,90±0,17 | 2,01±0,67 | 4,0 | 4,0 |

Os resultados obtidos neste estudo mostram que ocorre diminuição na sensibilidade do tambaqui e do matrinxã ao cobre nos experimentos com maiores concentrações de água do rio Negro (Tabela 2 e Figura 1), que é expressa por valores mais elevados de CL₅₀.

Tabela 2. Relação entre os valores das CL₅₀ e COD (Carbono orgânico dissolvido).

| Diluições Água do rio Negro (%) | Tambaqui | | Matrinxã | |
|------------------------------------|----------|---|----------|---|
| | COD | CL ₅₀ -96h (µgCu.L ⁻¹) | COD | CL ₅₀ -96h (µgCu.L ⁻¹) |

| | (mg C.L ⁻¹) | | (mg C.L ⁻¹) | |
|-----|-------------------------|-----------------|-------------------------|----------------|
| 0 | 0,90 | 130,18 ± 57,65 | 0,90 | 33,34 ± 13,56 |
| 20 | 2,83 | 388,51 ± 60,00 | 1,89 | 66,69 ± 7,37 |
| 40 | 3,12 | 527,28 ± 51,51 | 2,71 | 170,47 ± 47,50 |
| 60 | 4,20 | 628,90 ± 106,62 | - | - |
| 80 | 6,74 | 940,47 ± 132,25 | 4,62 | 254,63 ± 28,26 |
| 100 | 7,57 | 1091,29 ± 91,26 | 5,77 | 350,31 ± 42,85 |

IIIIIIII

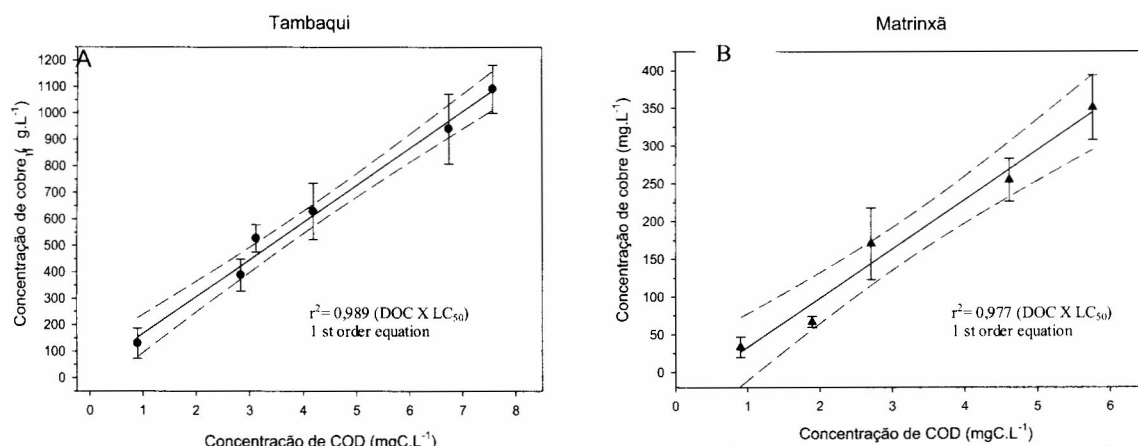


Figura 1. Relação entre as concentrações de COD (mg C.L⁻¹) e o valor da CL₅₀-96h (µg.L⁻¹) em (A) tambaqui (*Colossoma macropomum*) e (B) matrinxã (*Brycon amazonicus*).

Estudos prévios realizados por nosso grupo de pesquisa mostraram que exemplares de tambaqui expostos ao cobre na presença de baixos níveis de matéria orgânica dissolvida apresentam maior sensibilidade, pois a matéria orgânica presente na água não é suficiente para formar complexos com o cobre fazendo que esse esteja mais biodisponível e, portanto, seja absorvido pelo organismo, interferindo diretamente em seus mecanismos homeostáticos (Matsuo *et al.*, 2005). Os dados deste estudo confirmam que a matéria orgânica dissolvida diminui a toxicidade do cobre, por diminuir a quantidade de íons de cobre livres, pois os mesmos formam complexos com a matéria orgânica, diminuindo a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a tomada de cobre pelas brânquias dos peixes. A toxicidade do cobre depende de sua concentração e das características ambientais que tem importante papel na especiação do metal (Heath, 1995). Por isso foi criado o BLM que teoriza que os ligantes abióticos, como os íons Ca²⁺, Na⁺, H⁺ e matérias orgânicas natural juntamente com o ligante biótico competem pelos metais existentes no meio (Di Toro, 2001). Os valores de toxicidade estimados pelo programa Biotic Ligand Model (BLM) bem como os valores das CL₅₀ obtidas experimentalmente neste estudo para tambaqui e matrinxã estão representados na figura 2. Esses valores de CL₅₀ obtidos experimentalmente apresentam correspondência significativa com os dados de CL₅₀ preditos e estão dentro das premissas do modelo (linhas vermelhas mostradas na figura 2). Tanto o efeito protetor do COD sobre a toxicidade do cobre quanto à correspondência entre as CL₅₀ experimentais e preditas pelo BLM foi observada em estudos prévios desenvolvidos em nosso laboratório com as espécies de peixes ornamentais *Corydoras schwartzi* (Rossel, 1963), *Dicrossus maculatus* (Steindachner, 1875), *Hyphessobrycon socolofi* (Weitzman, 1977), *Carnegiella strigata* (Gunther, 1864), *Otocinclus hasemani* (Steindachner, 1915), *Apistogramma hyppolytae* (Kullander, 1982), *Apistogramma agassizzi* (Steindachner, 1875) e *Hemigrammus rhodostomus* (Ahl, 1924), (dados em fase de preparação para publicação) bem como em *Paracheirodon axelrodii* (Schultz, 1956) (Vilarinho *et al.*, 2008).

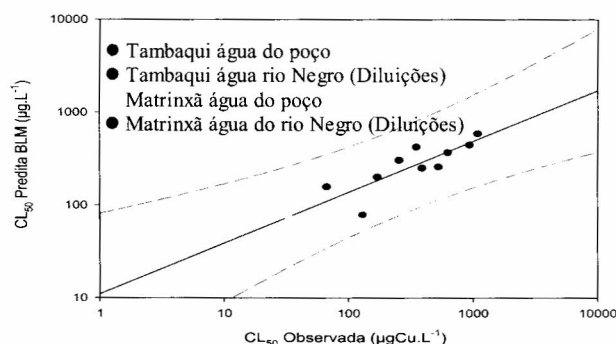


Figura 2. Comparação entre os dados de CL_{50-96h} obtidos experimentalmente e preditos pelo Modelo do Ligante Biótico (BLM).

4. Conclusão

Exemplares de tambaqui e matrinxã expostos ao cobre na presença de altas concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD) presente na água do rio Negro apresentam menor sensibilidade. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o BLM (Modelo do Ligante Biótico) tem potencial para ser utilizado no prognóstico da toxicidade do cobre em águas pretas da região amazônica.

5. Referências

- Di Toro, D.M.; Allen, H.E.; Bergman, H.L.; Meyer, J.S.; Paquin, P.R. & Santore, R.C. 2001. A biotic ligand model of the acute toxicity of metals. I. Technical basis. Section 3. In: Integrated Approach to Assessing the Bioavailability and Toxicity of Metals in Surface Waters and Sediments. USEPA- 822-e-99-001.102p.
- Ellgaard, E.G. & Guillot, J.L. 1988 Kinetic analysis of the swimming behavior of bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* Rafinesque, exposed to copper: hypoactivity induce by sublethal concentration. *J. Fish Biol.* 33: 601-608.
- Furch, K. & Junk, W.J. 1997. Physicochemical Conditions in the Floodplains. In: Junk, W.J. (Ed.). *The Central Amazon Floodplain*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 47-68p.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11(7): 714-719.
- Heath, A.G. 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. C.R.C. Press Inc., Boca Raton, FL. 245p.
- Hydroqual, 2009. Biotic Ligand Model. Disponível em <<http://www.petrobras.com.br>>. Acesso em: 16 mar. 2009.
- IPAAM. 2001. Cadeia produtiva da piscicultura no estado do Amazonas. 45p.
- Junk, W.J.; Bayley, P.B. & Sparks, R.E. 1989. The flood pulse concept in the river floodplain systems. In: Dodge, D. P. (ed.) Proceedings of the international large river symposium. *Can. Spec. Publ. Fish Aquat. Sci.*, 1006: 110-127.