

Efeitos tóxicos dos sedimentos do estuário do rio Capibaribe em embriões de zebrafish (*Danio rerio*)

[Toxic effects of sediments of the Capibaribe estuary on zebrafish embryos (*Danio rerio*)]

S.S. Gomes¹, A.C.C. Carvalho¹, C.M.V.A. Castro², P.G. Cadena^{2*}

¹Aluno de pós-graduação - Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, PE

²Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, PE

RESUMO

O presente estudo utilizou embriões de *Danio rerio* expostos aos elutriados dos sedimentos estuarinos do rio Capibaribe, dos períodos chuvoso e seco, e analisou os efeitos letais, teratogênicos, bem como a frequência cardíaca. Os testes de toxicidade com os embriões seguiram as diretrizes da OECD 236. Mediante os resultados obtidos, a frequência cardíaca e a teratogenicidade foram os efeitos mais observados nos animais quando submetidos às amostras. Entre os efeitos teratogênicos, o retardo geral no desenvolvimento dos embriões foi o mais frequente durante as análises. Tais efeitos tóxicos se modificaram entre os pontos e entre os períodos de coleta. Essa variação de toxicidade pode estar relacionada à diversidade de atividades realizadas no entorno desse estuário, a influência do regime de chuvas, marés e correntes, indicando que a análise dos efeitos subletais e da teratogenicidade em embriões de *D. rerio* constitui bom parâmetro para avaliações de toxicidade de amostras ambientais.

Palavras-chave: ecotoxicologia, teratogenicidade, frequência cardíaca, peixe

ABSTRACT

The present study used *Danio rerio* embryos exposed to the elutriates of the estuarine sediments of the Rio Capibaribe, from the rainy and dry periods, where the lethal effects, teratogenic and heart rate were analyzed. Embryotoxicity tests followed the guidelines of OECD 236. Based on the results obtained, heart rate and teratogenicity demonstrated higher sensitivity to the samples. Among the teratogenic effects, the general delay in embryo development was the most frequent effect during the analyzes. These toxic effects changed between the points and between the collection periods. This variation of toxicity may be related to the diversity of activities carried out around this estuary, the influence of rainfall, tides, and currents, indicating the analysis of sublethal effects and teratogenicity in the *D. rerio* embryos are useful parameters for toxic evaluation of environmental samples.

Keywords: ecotoxicology, teratogenicity, heart rate, fish

INTRODUÇÃO

A cidade do Recife tem seu processo de urbanização determinado pela presença dos rios, em particular o Capibaribe, com uma área estuarina de aproximadamente 15km, totalmente inserida na área urbana (Oliveira *et al.*, 2014). As características físicas, químicas e hidrodinâmicas dessas regiões favorecem condições ótimas para o *habitat* de grande parte dos recursos marinhos, o que as torna de grande relevância biológica (Martins *et al.*, 2007). Entretanto, a maioria dos

estuários recebe uma grande quantidade de rejeitos domésticos e industriais sem tratamento adequado, e isso vem modificando as condições ambientais desses locais, afetando diretamente os animais que nele habitam, ao provocar distúrbios fisiológicos e até letais (Santos *et al.*, 2009; Gusso-Choueri *et al.*, 2016). Os sedimentos atuam como vias de exposição a poluentes para os organismos (Kim *et al.*, 2011), pois concentram uma fração considerável dos contaminantes que chegam aos estuários. Devido à grande afinidade química por carbono orgânico, a maior parte dos contaminantes

Recebido em 14 de dezembro de 2018

Aceito em 27 de março de 2019

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: pabyton.cadena@ufrpe.br

persistentes que chegam aos ambientes aquáticos acabam se depositando nos sedimentos, permanecendo associados a partículas de sedimento por longos períodos, mesmo após o término dos eventos de descarte no ambiente (Abessa *et al.*, 2006).

Diante disso, os testes ecotoxicológicos com animais são importantes, pois fornecem informações fundamentais para a análise e a gestão do risco ecológico, tornando-os amplamente úteis na formulação e na instituição de políticas normativas e medidas administrativas que visem definir os limites toleráveis de emissão e concentração de substâncias químicas no ambiente (Chapman *et al.*, 2002). Para isso, os peixes são excelentes ferramentas no acompanhamento da qualidade desses ambientes, servindo como importantes bioindicadores, pois respondem de várias maneiras à contaminação ambiental (Martinez e Souza, 2002).

Desde 2005, na Alemanha e em outros países europeus, uma modalidade do ensaio de toxicidade aguda com peixe, o teste com embriões ou ovos recém-fecundados (FET TEST), vem substituindo o teste agudo com peixes adultos e tornou-se obrigatória para o monitoramento de efluentes (Braunbeck e Lammer, 2006), pois nem sempre os testes agudos que avaliam apenas efeitos letais são suficientes para caracterizar a toxicidade de amostras ambientais, por isso efeitos subletais podem ser uma boa ferramenta de avaliação (Arenzon *et al.*, 2013). O *Danio rerio* é uma espécie teleostea exótica no Brasil, mas estudos têm demonstrado que sua utilização é viável, podendo substituir as espécies nativas nos ensaios de toxicidade (Bertoletti, 2009). Ele tem sido amplamente utilizado em estudos toxicológicos (Zagatto e Bertoletti, 2008) por causa das diversas vantagens que o tornam uma espécie de modelo seguro para ensaios, como ciclo de vida rápido, grande quantidade de embriões produzidos a cada ciclo de reprodução, tamanho pequeno, e é bastante sensível a uma grande quantidade de substâncias químicas (Tesolin *et al.*, 2014). Diante do exposto, a proposta deste trabalho foi avaliar os efeitos tóxicos dos sedimentos do estuário do rio Capibaribe durante os períodos seco e chuvoso, determinando os efeitos letais, subletais e a teratogenicidade em embriões de *Danio rerio*.

MATERIAL E MÉTODOS

O sedimento utilizado para o preparo do elutriato foi coletado em três pontos do estuário do rio Capibaribe, na cidade do Recife/PE, durante as marés de sizígia, próximo à ponte da Caxangá (P1), ao Parque Santana (P2) e à Prefeitura do Recife (P3) (Fig. 1), durante os períodos chuvoso (18/05/2017) e seco (03/12/2017). Esses pontos foram escolhidos, pois representam toda a extensão do estuário dentro da cidade do Recife. Também exibem características sedimentológicas distintas, aumentando respectivamente a quantidade de grãos arenosos e diminuindo os grãos finos (argila + silte) nos pontos em direção à foz. Com o auxílio de uma pá de inox, o sedimento superficial (até 5cm de profundidade) foi coletado e transportado para o Laboratório de Ecofisiologia e Comportamento Animal (Leca - UFRPE), onde foi armazenado a 4°C. O elutriato foi preparado segundo a descrição da U.S.EPA (1991). Para tanto, o sedimento foi adicionando à água deionizada, na proporção de 1:4 (v:v), em um Becker, submetido à agitação vigorosa (1500rpm) por 30min e, posteriormente, mantido em repouso por 24h, sob refrigeração (8°C), para a decantação. Após esse período, o sobrenadante foi retirado cuidadosamente por sifonamento, e os parâmetros físico-químicos foram aferidos (pH, oxigênio dissolvido, salinidade, temperatura e amônia).

Os testes ecotoxicológicos foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia Animal (Leca). Todas as metodologias utilizadas nesta pesquisa foram previamente aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceua - UFRPE), licença 038/2017. Para a obtenção dos ovos para os testes, a reprodução foi realizada com as matrizes de *zebrafish* cultivadas no Leca – UFRPE (Biotério Cadastrado na Plataforma Ciuca/Concea). Para esse fim, machos e fêmeas foram acondicionados em aquários de reprodução de 1,5L, numa proporção de 2:1 (Fisf..., 2013), e mantidos em fotoperíodo de 14/10h claro e escuro. Após a desova, os adultos foram removidos, e os ovos retirados com auxílio de uma rede de 200µm, sendo observados por meio de microscópio óptico de luz (com lâmpada LED) 1hpf (hora pós-fertilização). Os ovos inviáveis (não fecundados ou coagulados) foram descartados, e os viáveis seguiram para os bioensaios.

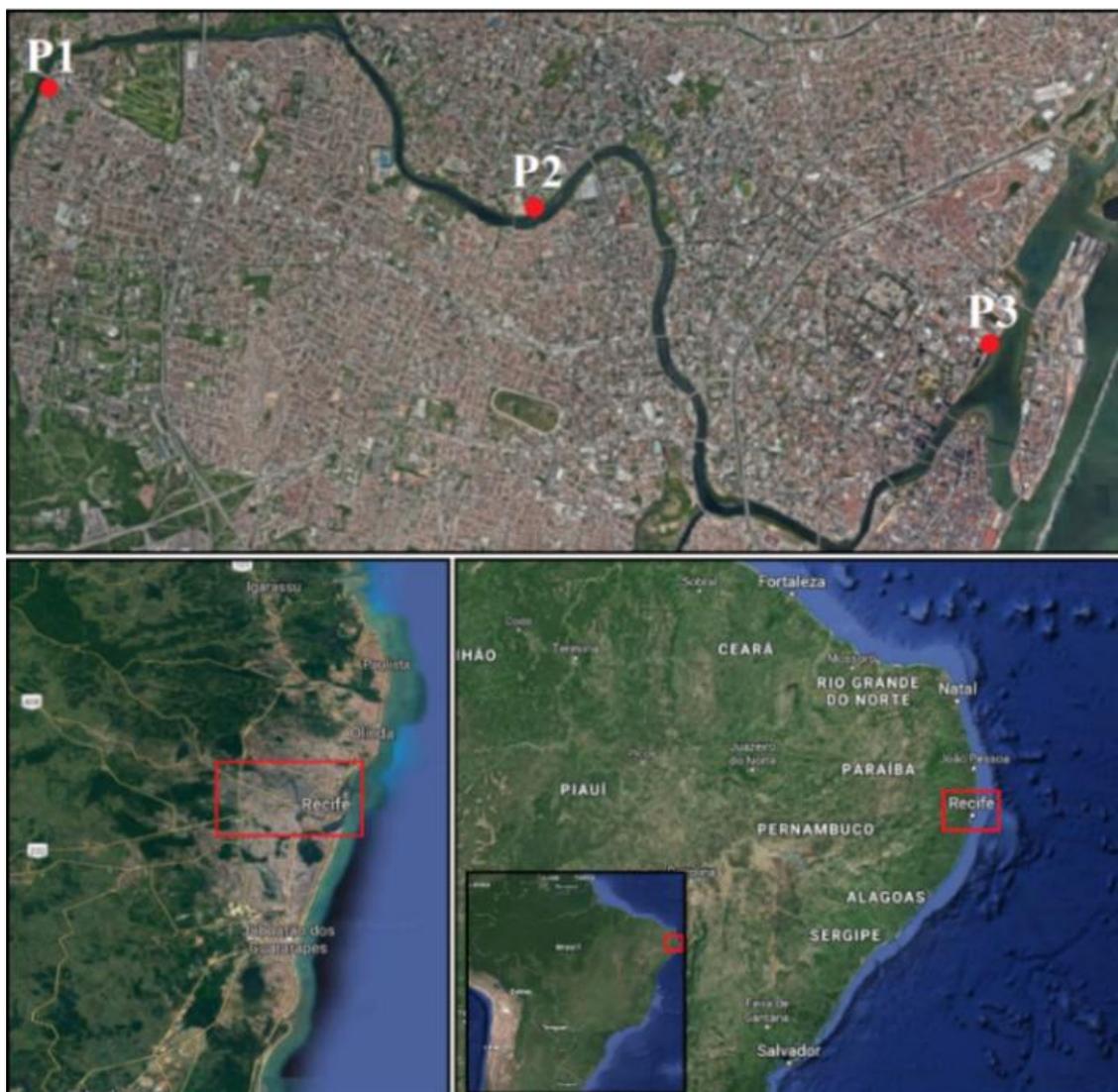


Figura 1. Mapa da localização dos pontos de coleta do sedimento no estuário do rio Capibaribe, na cidade de Recife/PE, nos períodos chuvoso (18/05/2017) e seco (03/12/2017).

Os embriões foram alocados em potes estéreis de poliestireno, com capacidade de 25mL, mantidos por 96h em temperatura controlada de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12:12 (claro:escuro) e pH de $7,0\pm 0,5$, sendo as soluções renovadas diariamente após o período de observação (24, 48, 72 e 96hpf). Para cada grupo experimental e controle, foram realizadas três repetições com 10 embriões cada (Silva *et al.*, 2019); os embriões não receberam alimento durante a exposição. Os efeitos observados foram divididos em letais: coagulação, eclosão e mortalidade total; subletais: frequência cardíaca; e teratogenicidade: edemas de pericárdio e saco vitelino, deformação da coluna, raquitismo e

retardo geral de desenvolvimento (Lammer *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2016).

Os efeitos teratogênicos dos embriões foram estatisticamente avaliados por meio da *One Way ANOVA*; quando o resultado foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *SigmaPlot 11.0 (Systat Software, 2008, Alemanha)*.

RESULTADOS

Os resultados dos efeitos letais, subletais e de teratogenicidade são apresentados na Tab. 1. Os efeitos observados nos animais se mostraram distintos no que se refere aos pontos e aos períodos de coleta (Tab. 1). Em relação aos efeitos letais, não foi observada diferença significativa nos períodos chuvoso (ANOVA, $F=2,91$; $P=0,101$) e seco (ANOVA, $F=3,48$; $P=0,070$). Na eclosão dos embriões em exposição às amostras do período chuvoso após 72hpf, no P1 (Dunnett, $q=5,91$; $P<0,05$), foram observadas diferenças significativas em relação ao controle. Os embriões expostos às amostras do período seco no P2 mostraram diferenças significativas após 72hpf (Dunnett, $q=13,42$; $P<0,05$) em relação ao controle. Quanto à mortalidade dos embriões, não foi observada diferença significativa no período chuvoso (ANOVA, $F=3,25$; $P=0,081$) e no seco; o ponto P2, a partir de 72hpf, mostrou diferenças significativas (Dunnett, $q=10,58$; $P<0,05$).

Os efeitos subletais foram avaliados de acordo com a medida da frequência cardíaca (Yang *et al.*, 2016) dos embriões. Foram vistas, nas amostras do período chuvoso, diferenças significativas em relação ao controle nos três pontos, P1 (Dunnett, $q=99,20$; $P<0,50$), P2 (Dunnett, $q=99,20$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=99,20$; $P<0,50$), nas 24hpf. Em 48hpf, não foram observadas diferenças em relação ao controle nos três pontos (ANOVA, $F=3,72$; $P=0,061$). Após 72hpf, nos pontos P1 (Dunnett, $q=8,29$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=3,01$; $P<0,50$), foram observadas diferenças significativas em relação ao controle. Em 96hpf, foram observadas, nos pontos P1 (Dunnett, $q=8,29$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=4,98$; $P<0,50$), diferenças em relação ao controle.

Nos embriões expostos às amostras do período seco, foram observadas diferenças significativas na frequência cardíaca, em 24hpf, nos pontos P1 (Dunnett, $q=31,65$; $P>0,50$) e P3 (Dunnett, $q=31,65$; $P<0,50$); em 48hpf, em P1 (Dunnett, $q=3,70$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=3,33$; $P<0,50$). Em 72hpf, foram observadas, em P1 (Dunnett, $q=4,55$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=4,14$; $P<0,50$), diferenças significativas em relação ao controle.

Nos pontos P1 (Dunnett, $q=17,66$; $P<0,50$) e P3 (Dunnett, $q=4,00$; $P<0,50$), em 96hpf, foram observadas diferenças significativas em relação ao controle. Não foram observados batimentos cardíacos nos embriões expostos às amostras do P2 no período seco.

Os efeitos teratogênicos (Lammer *et al.*, 2009) mais frequentes durante a exposição às amostras do sedimento do estuário do rio Capibaribe são apresentadas na Tab. 1. Em 24hpf, foram observadas, nas amostras do período seco, diferenças significativas ($P<0,50$) quando analisado o retardo geral de desenvolvimento (*Delay*). Esse efeito foi o mais frequente em todas as amostras a partir de 48hpf, sendo vistas diferenças significativas ($P<0,50$) em relação ao controle. No que se refere aos demais efeitos teratogênicos avaliados (Fig. 2), não foram observadas diferenças significativas em relação ao controle.

DISCUSSÃO

De acordo com a Agência Estadual do Meio Ambiente de Pernambuco – CPRH (Monitoramento..., 2008), os principais aportes de poluentes no estuário do rio Capibaribe são provenientes de setores industriais, produtores alimentícios, minerais não metálicos, têxteis, metalúrgicos, químicos, farmacêuticos/veterinários, sucroalcooleiros, couros, matéria plástica, bebidas, mecânica, material elétrico/comunicação, material de transporte, perfumes/sabões/velas e madeira. Os resultados obtidos neste trabalho comprovaram que as amostras coletadas nos três pontos do estuário do rio Capibaribe, independentemente da influência pluviométrica, são tóxicas em pelo menos um dos parâmetros avaliados nos embriões de *Danio rerio*, corroborando os resultados apresentados em estudos anteriores (Silva, 2004; Castro *et al.*, 2007; Maciel *et al.*, 2016; Zanardi-Lamardo *et al.*, 2016) realizados nesse mesmo estuário. Essas pesquisas apontam que tanto a água como o sedimento e os animais presentes nesse local estão contaminados por substâncias provenientes tanto de despejos industriais quanto domésticos (ex.: metais, organoestânicos, hidrocarbonetos, organoclorados, entre outros).

Efeitos tóxicos dos...

Tabela 1. Efeitos letais e subletais avaliados nos embriões de *Danio rerio* expostos aos elutriados dos sedimentos coletados em três pontos (P1, P2 e P3), nos períodos seco e chuvoso no rio Capibaribe, durante os tempos de exposição 24, 48, 72 e 96hpf (horas pós-fertilização). Siglas: EP – edema de pericárdio; ESV – edema de saco vitelínico, DC – deformação na coluna; Delay – retardo geral de desenvolvimento (Lammer *et al.*, 2009); FC – frequência cardíaca; bpm/min – batimentos por minuto/minuto; * – Diferença significativa

Tempo	Pontos	Controle		P1		P2		P3	
	Período de coleta	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
24hpf	Efeito Letais								
	Coagulação (%)	0	0	0	10,0±0,7	0	20,0±1,7	0	0
	Mortalidade (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ecloração (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Subletais								
	FC (bpm/min)	64,7±11,0	91,7±7,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Teratogen.								
	Delay (%)	0	0	0	100,0±0*	0	80,0±1,7*	0	100,0±0*
	EP (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	ESV (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
48hpf	DC (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Efeito Letais								
	Coagulação (%)	0	0	17,0±0,6	20,0±1,7	0	40,0±1,0	3,0±0,6	0
	Mortalidade (%)	0	0	0	0	0	0	0	3,0±2,1
	Ecloração (%)	0	17,0±1,5	0	0	0	0	27,0±1,5	23,0±2,1
	Subletais								
	FC (bpm/min)	150,0±12,2	148,3±6,0	75,3±12,9	132,0±8,7*	86,7±48,0	ND	86,7±32,5	133,7±2,1*
	Teratogen.								
	Delay (%)	0	0	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*
	EP (%)	0	0	0	0,3±0,6	0	0	0	0
72hpf	ESV (%)	0	0	0	0,3±0,6	0,3±0,6	0	0	0
	DC (%)	0	0	0	0,6±0,6	0,6±1,6	0	0	0
	Efeito Letais								
	Coagulação (%)	3,0±0,6	0	20,0±0	20,0±1,7	7,0±0,6	23,0±0,6	27,0±2,1	13,0±0,6
	Mortalidade (%)	0	0	0	0	0	37,0±1,2*	0	3,0±0,6
	Ecloração (%)	96,0±0,6	100,0±0	0*	26,0±0,6	80,0±2,6	0*	36,0±2,5	43,0±3,0
	Subletais								
	FC (bpm/min)	162,0±4,0	194,6±11,7	74,0±7,2*	168,6±1,2*	154,0±4,0	ND	130,0±24,3*	171,0±7,5*
	Teratogen.								
	Delay (%)	0	0	0	0	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*
96hpf	EP (%)	0	0	0	0	0	0	6,0±0,6	0
	ESV (%)	0	0	0	0	0	6,0±1,1	6,0±0,6	0
	DC (%)	0	0	0	0	0	3,0±0,6	3,0±0,6	0
	Efeito Letais								
	Coagulação (%)	3,0±0,6	0	23,0±0,6	20,0±1,7	6,0±0,7	57,0±2,3	30,0±2,6	13,0±0,6
	Mortalidade (%)	0	0	0	0	3,0±1,6	37,0±1,2	0	3,0±0,6
	Ecloração (%)	97,0±0,6	100±0	17,0±1,2*	80,0±1,7	87,0±0,6	0*	70,0±2,6	87,0±0,6
	Subletais								
	FC (bpm/min)	188,0±12,0	194,0±10,0	101,3±2,1*	170,0±12,5	158,6±8,3	ND	136,0±6,0*	150,0±21,6*
	Teratogen.								
Delay (%)	0	0	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	100,0±0*	
EP (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	
ESV (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	
DC (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	

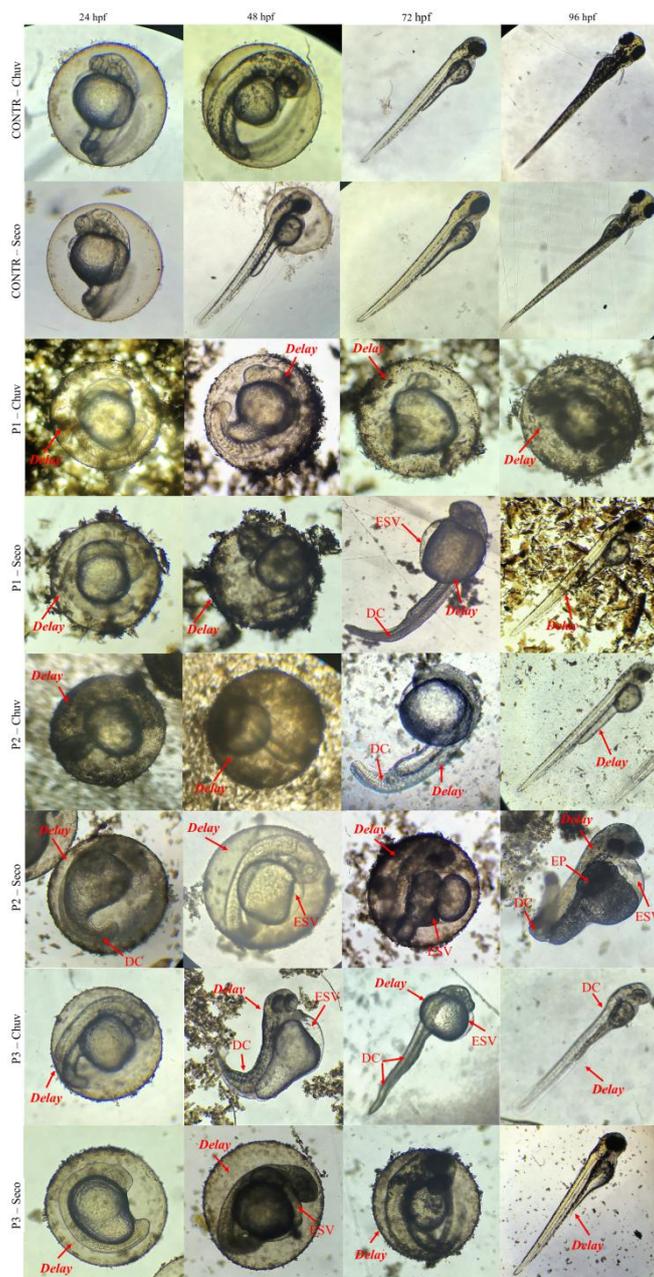


Figura 2. Desenvolvimento dos embriões do peixe *Danio rerio* durante o tempo de exposição – 24, 48, 72 e 96hpf (horas pós-fertilização) – às amostras dos elutriatos dos sedimentos do estuário do rio Capibaribe coletados nos períodos chuvoso e seco. Siglas: EP – edema de pericárdio; ESV – edema de saco vitelínico; DC – deformação na coluna; Delay – retardo geral de desenvolvimento (Lammer *et al.*, 2009).

A diferente toxicidade observada nos paramentos avaliados entre os pontos de coleta pode estar relacionada primeiramente à distribuição das fontes poluidoras (indústrias e domicílios) ao longo do rio. Porém, ainda se sabe que esses pontos possuem uma composição granulométrica heterogênea de sedimentos, corroborando os

estudos sobre o estuário do rio Capibaribe de Resende *et al.* (2016) e Oliveira *et al.* (2014), em que esses autores atribuem a diferença de toxicidade às influências fluviais, marinhas e à heterogeneidade dos sedimentos da região.

De acordo com Fenili (2011) e Mudrock e Macknigh (1997), existe uma correlação entre as frações granulométricas finas e alguns contaminantes, como os metais. Essas substâncias tendem a ficar adsorvidas em partículas menores, ficando incorporadas principalmente na porção de silte e argila. Além disso, partículas menores de sedimento tendem a possuir sítios ativos que facilitam a adsorção de compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (Araghi *et al.*, 2014). Assim, no P1, ponto que possui maior predominância de grãos finos, foi observada maior frequência de efeitos teratogênicos durante o período seco (Tab. 1). Segundo Silva *et al.* (2004), durante as estações da primavera e principalmente do verão, por causa da elevação da temperatura e da evaporação da água, a concentração de contaminantes, como os metais, é maior, tornando esse ambiente mais tóxico aos animais durante esse período. Nesse mesmo ponto, durante o período chuvoso, houve a redução da toxicidade nos parâmetros avaliados, sendo observada a toxicidade apenas nos parâmetros subletais e teratogênicos.

No P2, foi visto um efeito bem distinto entre os resultados dos períodos chuvoso e seco, sendo observada maior toxicidade durante o período chuvoso. Segundo Coimbra *et al.* (2015), os períodos chuvosos promovem maior lixiviação dos contaminantes que estejam adsorvidos no sedimento, tornando-os biodisponíveis para os peixes. Durante o período de chuvas, o aumento das descargas de água pode potencializar o transporte dos contaminantes para corpos d'água. Nesse ponto, foi observado que alguns embriões expostos às amostras do período chuvoso eclodiram prematuramente. Sabe-se que sinais físicos e químicos detectados pelo embrião ativam a produção da enzima relacionada à eclosão (corionase), que degrada a camada interna do córion e permite movimentos que proporcionam o evento da eclosão (Fuiman, 2002). Jesierska *et al.* (2009) observaram que os metais pesados podem inibir ou acelerar o processo de eclosão dos ovos dessa espécie de peixe. Conforme Hernández *et al.* (2006), metais como o cobre são responsáveis por induzir dano às células da linha lateral e apoptose, além de causar alterações na eclosão.

Foi relatado por Castro *et al.* (2007) que regiões próximas à desembocadura do estuário do rio Capibaribe apresentaram elevados níveis de compostos orgânicos, como tribulestano (TBT) e trifenilestano (TPT); concentrações de metais (como cádmio, cobre, ferro, cromo, zinco e manganês) também foram determinadas acima do permitido nesse local, sendo a fauna da região próxima da foz bastante impactada. Foi observado, no presente estudo, que os animais expostos às amostras do P3 apresentaram efeitos letais mais frequentes, além da frequência cardíaca e da teratogenicidade significativamente diferentes nos dois períodos de coleta (Tab. 1).

Na avaliação da frequência cardíaca diária dos embriões, foi visto que esses animais apresentaram uma redução nos batimentos cardíacos, principalmente nas 48hpf. Andrade (2004) e Samson *et al.* (2001) também notaram uma redução nos batimentos cardíacos dos embriões de *D. rerio* quando expostos a um efluente têxtil e ao mercúrio. Andrade (2004) reconheceu que os batimentos cardíacos revelaram ser um parâmetro que reage precocemente à toxicidade e que as modificações nesse parâmetro fisiológico são um dos primeiros alvos de contaminação do *D. rerio*.

Entre os efeitos teratogênicos observados, o retardo geral do desenvolvimento (*delay*) foi o mais frequente nos animais expostos. Tensolin *et al.* (2014), ao estudarem os efeitos dos herbicidas em embriões de *D. rerio*, também observaram, entre os parâmetros utilizados, que o *delay* foi o efeito teratogênico mais frequente na contaminação por esses compostos. A teratogenicidade avaliada pelo desenvolvimento de edemas de pericárdio, edema de saco vitelino e deformações na coluna foi observada em alguns embriões expostos às amostras do presente estudo, o que foi descrito igualmente em trabalhos que estudaram a toxicidade de metais pesados (Tensolin *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2017).

Pelos resultados obtidos, quando a toxicidade é medida pelo efeito subletal (batimentos cardíacos) e pela teratogenicidade nos peixes, nota-se maior frequência de efeitos nos pontos analisados. Segundo Bertolleti (2013), quando os efeitos letais não forem suficientemente significantes para caracterizar um efeito tóxico de uma amostra, a utilização de parâmetros

subletais é indicada para observar os possíveis efeitos da amostra estudada. O presente trabalho demonstrou que os efeitos subletais e a teratogenicidade nos embriões de *D. rerio* foram mais sensíveis às amostras ambientais estudadas do que os parâmetros letais. Alguns estudos já reportaram alterações ecológicas em comunidades bióticas do estuário do rio Capibaribe, demonstrando o risco de grandes proporções para os táxons Oligochaeta e Nematoda (Valença, 2009). Outros estudos, nesse mesmo estuário, utilizando espécies de cladoceros, bivalves, poliquetas e crustáceos (Paranaguá, 2005) registraram alterações biológicas e fisiológicas nos organismos e nas comunidades. Nenhum estudo ainda foi feito para avaliar os efeitos dos contaminantes presentes nesse estuário em modelos laboratoriais controlados como o *Danio rerio*.

CONCLUSÕES

Os testes de toxicidade nos três pontos de coleta mostraram que os sedimentos do estuário do rio Capibaribe são tóxicos para os embriões do *D. rerio*, independentemente do local de coleta, não havendo interferência na toxicidade pela proximidade do ponto à foz do rio. A influência das chuvas potencializou apenas os efeitos tóxicos observados nos animais em um dos três pontos estudados (P2). Foram principalmente observados efeitos tóxicos subletais (alterações na frequência cardíaca) e teratogênicos nos animais (retardo geral do desenvolvimento). Portanto, a análise dos efeitos subletais e da teratogenicidade em embriões de *D. rerio* constitui bom parâmetro para avaliações de toxicidade de amostras ambientais, pois apresenta uma resposta mais rápida e sensível quando os poluentes estão em mais baixas concentrações que os efeitos letais.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por permitir o desenvolvimento desse projeto, e à Facepe (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco), pelo apoio financeiro (APQ-0933-2.08/15, APQ-0934-2.05/15) e pela bolsa de estudo concedida (IBPG-1075-5.05/15).

REFERÊNCIAS

- ABESSA, D.M.S.; SOUZA, E.C.P.M.; TOMMASI, L.R. Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos. *Rev. Geol.*, v.19, p.269-277, 2006.
- ANDRADE, R.M.S.L. *Efeitos da exposição de peixe zebra, Danio rerio, a um efluente têxtil*. 2004. 100f. Dissertação (Mestre em Ecologia Aplicada) - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, POR.
- ANKLEY, G.T.; PETERSON, G.S.; LUKASEWYCZ, M.T.; JENSEN, D.A. Characteristics of surfactants in toxicity identification evaluations. *Chemosphere*, v.21, p.3-12, 1990
- ARAGHI, P.E.; BASTAMI, K.D.; RAHMANPOOR, S. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments of Gorgan Bay, Caspian Sea. *Mar. Poll. Bull.*, v.89, p.494-498, 2014.
- ARENZON, A.; LORENZO, C.; COIMBRA, N.J.; SCHULZ, U.H. A determinação da toxicidade crônica para peixes baseada apenas na sobrevivência é suficiente? *Ecotoxicol. Environ. Contamin.*, v.8, p.65-68, 2013.
- BERTOLETTI, E. Sensibilidade de algumas espécies de peixes de água doce utilizadas no Brasil. *J. Bras. Soc. Ecotoxicol.*, v.4, p.9-13, 2009.
- BÍCEGO, M.C.; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G.T. et al. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, v.52, p.1804-1816, 2006.
- BRAUNBECK, T.; LAMMER, E. Fish embryo toxicity assays. Dessau-Roßlau: German Federal Environment Agency, 2006.
- CASTRO, I.B.; LIMA, A.F.A.; BRAGA, A.R.C. et al. Imposex in two muricid species (Mollusca:Gastropoda) from the northeastern Brazilian Coast. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v.2, p.81-91, 2007.

- CHAPMAN, P.M.; WANG, F.; GERMANO, J.; BATLEY, G. Pore water testing and analysis: the good, the bad, and the ugly. *Mar. Pollut. Bull.*, v.44, p.359-366, 2002.
- COIMBRA, C.D.; CARVALHO, G.; PHILIPPINI, H.; SILVA, M.F.M.; NEIVA, E. Determinação da concentração de metais traço em sedimentos do estuário do rio Maracaípe – Pe/Brasil. *Bra. J. Aquatic. Sci. Tech.*, v.19, p.58-75, 2015.
- FENILI, L.H.; GOMES, C.C.; ROCHA, V.F.; ZANIN, G.R. Avaliação da concentração de metais e arsênio e sua relação com granulometria e ensaios ecotoxicológicos no canal do porto de Santos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 5., 2011. Santos, São Paulo.
- FISF Embryo Acute Toxicity (FET) test. [Paris]: OECD, 2013. Guideline, 236, 22p.
- FUIMAN, L.A. Special considerations of fish eggs and larval. In: FUIMAN, L.A.; WERNER, R.G. (eds). *Fishery Science: The unique contributions of early life stage*. Blacwell Science, 2002. p.1-32.
- GUSSO-CHOUERI, P.K.; CHOUERI, R.B.; SANTOS, G.S. *et al.* Assessing genotoxic effects in fish from a marine protected area influenced by former mining activities and other stressors. *Mar. Poll. Bull.*, v.104, p.229-239, 2016.
- HERNÁNDEZ, P.P.; MORENO, V.; OLIVARI, F.A.; ALLENDE, M.L. Sub-lethal concentrations of waterborne copper are toxic to lateral line neuromasts in zebrafish (*Danio rerio*). *Hear. Res.*, v.213, p.1-10, 2006.
- JEZIERSKA, B.; LUGOWSKA, K.; WITESKA, M. The effects of heavymetals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiol. Biochem.*, v.35, p.625-640, 2009.
- KIM, N.S.; SHIM, W.J.; YIM, U.H. Three decades of TBT contamination in sediments around a large scale shipyard. *J. Hazardous Mater.*, v.192, p.634-642, 2011.
- LAMMER, E.; CARR, G.J.; WENDLER, K. *et al.* Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comp. Biochem. Physiol. C*, v.149, p.196-209, 2009.
- LI, K.; WU, J.; JIANG, L. *et al.* Developmental toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in zebrafish embryos. *Chemosphere*, v.171, p.40-48, 2017.
- MACIEL, D.C.; SOUZA, J.R.B.; TANIGUCHI, S. *et al.* Hydrocarbons in sediments along a tropical estuary shelf transition area: sources and spatial distribution. *Mar. Pollut. Bull.*, v.113, p.566-571, 2016.
- MARTINEZ, C.B.R.; SOUZA, M.M. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. *Comp. Biochem. Physiol.*, v.133, p.151-160, 2002.
- MONITORAMENTO das bacias - Capibaribe. Pernambuco: CPRH, 2008. Disponível em: <<http://www.cprh.pe.gov.br>>. Acessado em: novembro, 2017.
- MARTINS, C.C.; MAHIQUES, M.M.; BÍCEGO, M.C.; FUKUMOTO, M.M.; MONTONE, R.C. Comparison between anthropogenic hydrocarbons and magnetic susceptibility in sediment cores from the Santos Estuary, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, v.54, p.240-246, 2007.
- MUDROCH, A.; MACKNIGHT, S.D. *Handbook of Techniques for Aquatic Sediments Sampling*. 2^a ed. CRC Press Inc., 1997. p.256.
- NAGEL, R. Darl: the embryotest with the zebrafish *danio rerio* - a general model in ecotoxicology and toxicology. *Altex 19*, v.1, p.38-48, 2002.
- OLIVEIRA, J.M.M.; GALHANO, V.; HENRIQUES, I.; SOARES, A.M.V.M.; LOUREIRO, S. Basagran induces developmental malformations and changes the bacterial community of zebrafish embryos. *Environ. Pollut.*, v.221, p.52-63, 2017.
- OLIVEIRA, T.S.; BARCELLOS, R.O.L.; SCHETTINI, C.S.A.F. CAMARGO, P.B. Processo sedimentar atual e distribuição da matéria orgânica e um complexo estuarino tropical, Recife, PE, Brasil. *Rev. Gestão Cost. Integr.*, v.14, p.399-411, 2014.
- PARANAGUÁ, M.N. Cladocerans (Branchiopoda) of a tropical Estuary in Brazil. *Braz. J. Biol.*, v.65, p.107-115, 2005.

- RESENDE, J.S.S.; CRAVEIRO, N.J.A.; PEREIRA, R. Análise granulométrica e do teor de matéria orgânica em sedimentos do estuário do rio Capibaribe – Pe. *Est. Geo.*, v. 26, p. 34-45, 2016.
- SAMSON, J.C.; GOODRIDGE, R.; OLOBATUYI, F.; WEIS, J.S. Delayed effects of embryonic exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to methylmercury (MeHg). *Aquat. Toxicol.*, v.51, p.369-376, 2001.
- SANTOS T.G.; Bezerra-Júnior, J.L.; Costa, K.M.P.; Feitosa, F.A.N. Dinâmica da biomassa fitoplanctônica e variáveis ambientais em um estuário tropical (Baía do Pina, Recife, PE). *Rev. Bras. Eng. Pesca*, v.4, p. 95-109, 2009.
- SILVA, H.K.P. *Concentrações de metais pesados nos sedimentos do estuário do rio Capibaribe, na Região Metropolitana do Recife (RMR) – Pernambuco, Brasil.* 2004. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Oceanografia) – Centro de Tecnologia e Geociência, Universidade Federal de Pernambuco, PE.
- SILVA, M.C.G.; SILVA, J.F.; SANTOS, T.P. *et al.* The complexation of steroid hormones into cyclodextrin alters the toxic effects on the biological parameters of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, v.214, p.330-340, 2019.
- TESOLIN, G.A.S.; MARSON, M.M.; JONSSON, C.M. *et al.* Avaliação da toxicidade de herbicidas usados em cana-de-açúcar para o Paulistinha (*Danio rerio*). *Mundo Saúde*, v.38, p.86-97, 2014.
- VALENÇA, A.P.M.C. As comunidades macrobentônicas na avaliação da qualidade ambiental de áreas estuarinas de Pernambuco. *Trop. Oceanogr.*, v.37, p.80-99, 2009.
- YANG, Y.; QI, S.; WANG, D. *et al.* Toxic effects of thifluzamide on zebrafish (*Danio rerio*). *J. Hazard. Mater.*, v.307, p.127-136, 2016.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – U.S.EPA. 600/6-91/003: Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations - Phase I: Toxicity Characterization Procedures, 1991.
- ZAGATTO, P.A.; BERTOLETI, E. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações.* 2.ed. São Carlos: Rima, 2008. 486p.
- ZANARDI-LAMARDO, E.; NOBREGA, A.S.C.; SANTOS, R.H.A.; MACIEL, D.C. Fontes e níveis de contaminação do sistema estuarino do rio Capibaribe (Pernambuco/Brasil). *Trop. Oceanogr.*, v.44, p.118-131, 2016.