

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE ZEBRAFISH EXPOSTOS AO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA ARROZEIRA DE PELOTAS/RS.

JÔSIE SCHWARTZ CALDAS¹; TAINÃ FIGUEIREDO CARDOSO¹; ALESSANDRA CARDOSO SILVA¹; MICHEL DAVID GERBER²; ÉRICO KUNDE CORRÊA²; ANTONIO SERGIO VARELA JUNIOR³

¹ Universidade Federal do Rio Grande – jkaldas@hotmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande – ^{4,5} Universidade Federal de Pelotas

³ Universidade Federal do Rio Grande – varelajras@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Estudos demonstram que o efluente, quando liberado nos corpos d'água, causa prejuízos a vida aquática (PEREIRA, 2004; CETESB, 2009; PERPETUO, 2011; AZZOLINI e FABRO, 2013). Os efeitos deletérios aos organismos podem ser os mais diversos, visto que, o conteúdo dos efluentes varia de acordo com o local que o mesmo é gerado (PEREIRA, 2004).

O estudo de aspectos reprodutivos de organismos expostos a efluentes é uma prática rápida e inovadora no âmbito da toxicologia aquática. A avaliação da motilidade espermática, entre outros parâmetros de qualidade espermática, surge como uma ferramenta na identificação desses efeitos nos organismos. Uma vez que, a qualidade dos gametas é fundamental para que ocorra a reprodução, tão importante à transmissão da variabilidade genética e conservação das espécies.

Peixes como o Zebrafish, (*Danio rerio*) que liberam seus óvulos e espermatozoides livremente no ambiente, necessitam de espermatozoides hábeis ao encontro do óvulo. Sendo assim, torna-se necessário investigar os efeitos de efluentes de diversas origens sobre os organismos e implicações na sua reprodução.

O objetivo do trabalho foi avaliar o tempo de motilidade das células espermáticas de Zebrafish expostos à água do processo produtivo de uma arrozeira de Pelotas/RS.

2. METODOLOGIA

O experimento contou com três tratamentos em quatro repetições, utilizados para avaliar a água do processo produtivo de uma indústria arrozeira de Pelotas/RS, sendo esses, água de entrada no processo industrial, efluente bruto e efluente tratado, utilizando 10 Zebrafish (*Danio rerio*) em cada tratamento (n=120).

Os peixes foram mantidos em aquários de 10L de volume, aclimatados em água natural desclorada a temperatura de 23 °C, oxigenação constante e acima de 7mg/L, incorporada por meio de compressor de ar com borbulhador, fotoperíodo de 12/12 h (claro/escuro) e pH entre 6,5 e 7,5. Durante a aclimação, receberam alimentação duas vezes ao dia e permaneceram em jejum durante a fase experimental.

O ensaio realizado teve duração de 96h, sem renovação de solução teste. Os tratamentos com efluente bruto e tratado foram diluídos com fator de diluição F=16, ou seja, 6,25%, ABNT NBR 15088 (2011). Todos os ensaios e análises foram realizados nos Laboratórios do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Para as avaliações espermáticas, os peixes foram sacrificados e dissecados, segundo os padrões éticos do CEEA/UFPEL nº1525 para experimentos com animais vertebrados, tendo suas gônadas coletadas e acondicionadas em eppendorfs contendo 100µl de (BTS - *Beltville Thawing Solution*), sendo levemente agitadas para liberação de células.

Uma alíquota de 2µl desta solução foi depositada em lâmina e adicionada uma alíquota de 20µl de água desclorada para ativação espermática, em seguida acionado o cronômetro para medição de tempo e adicionado lamínula para visualização ao microscópio óptico de contraste de fases (400x) CX41-Olympus-Japão, seguindo o método descrito por SORESEN JUNIOR (1979). Sendo analisado o tempo de motilidade progressiva até a pausa da mesma, como citado por VIVEIROS e GODINHO (2009). Nesta avaliação adotou-se até o instante de observação de 10% de células móveis. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente no Software Statistix 9.0 (2008).

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 – Médias e Desvios padrões do tempo de motilidade (s) quando apenas 10% das células estavam móveis. ($p < 0.05$)

Tratamento	Tempo de motilidade (s)
Água de entrada	80,0 ± 13,6 ^A
Efluente Bruto	23,5 ± 5,2 ^B
Efluente Tratado	64,1 ± 7,2 ^A

*Diferença estatística ($p < 0,05$) representada por letras distintas sobrescritas.

Os resultados apresentados na tabela 1 sugerem que existe diferença estatística entre a o tratamento de Água de Entrada e o Efluente bruto da empresa arrozeira ($p < 0,05$), mas não entre a Água de entrada e o Efluente tratado.

O tempo médio de motilidade até 10% de células móveis foi de 80 s, enquanto do efluente tratado foi de 64 s, não apresentando diferença estatística entre as médias de ambos, demonstrando a eficácia do tratamento oferecido ao efluente, deixando-o em condições aproximadas da água sem efluente, no que tange a este parâmetro celular.

Já o efluente bruto, demonstrou seu potencial tóxico, interferindo no tempo de motilidade celular, o que implica em prejuízo a reprodução da espécie, visto que, este tempo de motilidade de aproximados 23 s pode não ser suficiente para o encontro do espermatozoide com o óvulo no ambiente.

Estes resultados obtidos aliados às análises da composição química e parâmetros-físico-químicos do efluente podem revelar o potencial poluidor do mesmo, simulando o que aconteceria, se este fosse liberado nos corpos d'água.

4. CONCLUSÕES

Através da avaliação do parâmetro espermático de tempo de motilidade, o presente trabalho apresentou importantes indícios dos efeitos do efluente sobre o Zebrafish, demonstrando o prejuízo causado na reprodução de peixes ovíparos,

uma vez que, simulou o que poderia ocorrer em outras espécies de peixes quando em contato com esse efluente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PEREIRA, R.S. Identificação das fontes de poluição em sistemas hídricos. Revista eletrônica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS, v.1, n.1, p.20-36, 2004. Acessado em: 9 out. 2013 Disponível em: <http://www.abrth.org.br/informacoes/rerh.pdf>

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade de águas interiores do Estado de São Paulo** - Significado Ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. Série relatórios. 2009. Acessado em: 9 out. 2013. Online. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-superficiais/variaveis.pdf>

PERPETUO, E.A. Parâmetros de caracterização da qualidade das águas e efluentes industriais. CEPEMA-USP, 2011. Acessado em: 9 out. 2013 Disponível em: <http://www.cepema.usp.br/wp-content/uploads/2011/06/8-Par%C3%A2metros-de-caracteriza%C3%A7%C3%A3o-da-qualidade-das-aguas-e-efluentes-industriais.pdf>

AZZOLINI, J. C.; FABRO, L. F. Monitoramento da eficiência do sistema de tratamento de efluentes de um laticínio da região meio-oeste de Santa Catarina. **Unoesc & Ciência - ACET**, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 43-60, jan./jun., 2013.

ABNT NBR 15088. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes**, 2011. 22p.

SORENSEN JUNIOR, A. M. **A laboratory Manual for Animal Reproduction**. 4. ed. Massachusetts: American Press, 1979.

VIVEIROS, A. T.; GODINHO, H. P. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**. Brazil, v. 35, n.1, p. 137–50, 2009.