

## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS SUBLETAIS DE RESÍDUO DE SUINOCULTURA PROCESSADO POR BIODIGESTOR EM MODELO ANIMAL**

André Luiz Silva<sup>1</sup>, Rhayane Alves de Assis<sup>2</sup>, Ana Paula Cardoso Gomide<sup>3</sup>, Maria Andreia Correa Mendonça<sup>4</sup>, Lia Raquel de Souza Santos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Goiás, alsbio@outlook.com

<sup>2</sup>Mestranda em Biodiversidade e Conservação, IFGoiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás

<sup>3</sup>Doutora em Zootecnia, IFGoiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás

<sup>4</sup>Doutora em Genética e Monitoramento, IFGoiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás

<sup>5</sup>Doutora em Biologia Animal, IFGoiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás

### **INTRODUÇÃO**

A criação de suínos gera uma grande quantidade de dejetos e, atualmente, o que ocorre com frequência em granjas em operação é a destinação dos resíduos a biodigestores com o intuito de utilizá-los para a fertilização de lavouras, trazendo ganhos econômicos (ANDREAZZI; SANTOS; LAZARETTI, 2015). Entretanto, apesar do foco da utilização desta água residuária na agricultura estar primariamente ligado à importância dos macronutrientes como o nitrogênio e o fósforo, deve-se considerar também as concentrações de metais como o zinco, cobre, cromo, cobalto, manganês e ferro, visto que estes minerais estão presentes nessa composição (FENG et al., 2018).

Um importante requisito à avaliação do possível risco ambiental provocado pelo resíduo de suinocultura processado pelo biodigestor é a avaliação da toxicidade através de bioensaios. Neste sentido, os girinos foram escolhidos como organismos biológicos neste estudo por se tratarem de organismos sensíveis a alterações ambientais, principalmente por possuírem pele permeável. Aliado a isto, são incipientes avaliações ecotoxicológicas acerca dos possíveis efeitos dos resíduos de suinocultura em girinos.

Diante do exposto, o objetivo deste projeto foi avaliar os efeitos subletais do resíduo de suinocultura processado por biodigestor através da aplicação do teste de micronúcleo e outras

anormalidades eritrocitárias em células sanguíneas de girinos expostos ao resíduo, uma vez que estes testes permitem verificar danos oriundos de agentes xenobióticos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a realização dos testes, girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* foram obtidos em criadouro comercial para a realização dos experimentos. O resíduo de suinocultura já processado foi coletado em granja comercial com biodigestor no município de Aparecida do Rio Doce, Goiás. Amostras do resíduo foram avaliadas quanto à composição química para macro e micronutrientes (Tabela 1).

Para a definição das concentrações a serem utilizadas no estudo, primeiramente foram realizados testes de letalidade ( $CL_{50}$ ). O experimento foi conduzido com cinco tratamentos, cada um com quatro repetições e um total de 16 animais por tratamento, totalizando 80 animais (CEUA nº 3753130918). Após estabelecida a  $CL_{50}$ , foram feitas as diluições para exposição subletal nas concentrações: 3,125% (C1), 1,5625% (C2) e 0,78125% (C3). Para o controle negativo (CN) foi utilizado apenas água deionada sem presença de contaminante e para o controle positivo (CP) foi utilizada Ciclofosfamida(40mg/L) (CABAGNA et al., 2006), um agente comumente usado em bioensaios que induz a genotoxicidade (SINGH et al., 1988). Durante o experimento, os animais ficaram expostos em bandejas com as diluições do resíduo de suinocultura e os controles durante 96 horas (CABAGNA et al., 2006). Posteriormente, os animais foram anestesiados com gelo e em seguida, foi coletado o sangue por secção caudal e as lâminas foram preparadas por meio da técnica de esfregaço sanguíneo. O material foi fixado em metanol por 20 minutos e posteriormente, corado com solução de Giemsa a 7% e seco à condição ambiente (GONÇALVES et al. 2017). Foram feitas duas lâminas por animal e contabilizadas 1.000 células por animal (CABAGNA et al. 2006). Os efeitos tóxicos foram analisados pela frequência de células micronucleadas e por outras anormalidades eritrocitárias nucleares (núcleo reniforme, núcleo lobado, broto nuclear, célula anucleada, núcleo entalhado, cauda nuclear, ponte nucleoplasmática, núcleo segmentado e célula binucleada, de acordo com Carrafa et al., 2007).

Para as análises estatísticas, primeiramente foi testado a normalidade dos dados com o teste de Levene ( $p < 0.05$ ) e em seguida, os dados foram analisados pelo teste ANOVA quando paramétricos e Kruskal-Wallis quando não paramétricos. Os testes foram aplicados considerando a frequência de micronúcleos e das outras anormalidades eritrocitárias

separadamente em relação às concentrações do resíduo e aos controles. O  $p < 0,05$  foi considerado significativo, sendo as análises realizadas no Statística 7.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

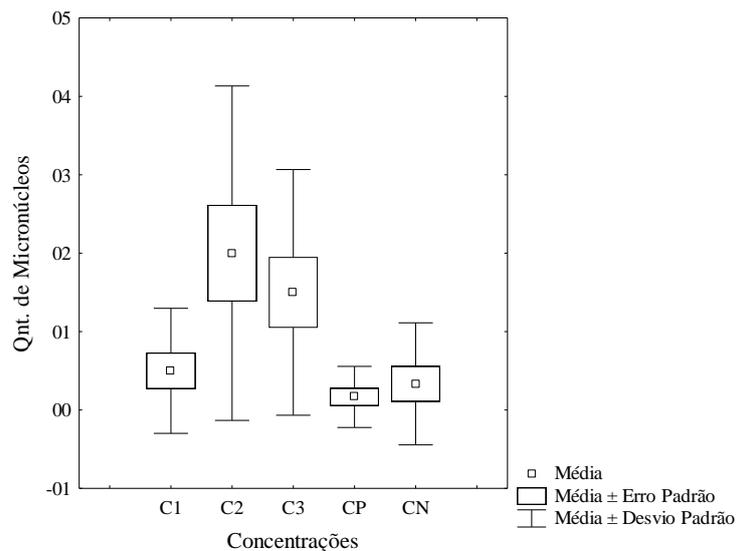
Os resultados referentes aos macro e micronutrientes do resíduo de suinocultura processado por biodigestor estão dispostos na tabela 1. Na análise destes valores, o resíduo avaliado, apresentou valores que se mostraram altos e acima dos padrões previstos pelo CONAMA na resolução nº397/2008 que estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, principalmente de micronutrientes como zinco, cobre, ferro e manganês. Contudo, cabe ressaltar que na utilização do resíduo no solo, primeiramente, deve-se levar em consideração que o comportamento destes elementos potencialmente tóxicos é extremamente complexo, principalmente a longo prazo (MESSIAS et.al, 2007). Além disso, a presença de metais em grande quantidade como obtida neste resíduo pode levar ao acúmulo no solo como, por exemplo, o cobre, devido sua baixa mobilidade (OLIVEIRA; MATTIAZZO, 2001). Para organismos sensíveis como os anuros, poças artificiais que são uma alternativa de reprodução de anfíbios podem se tornar impróprias para a sua manutenção caso haja contaminação por estes resíduos.

**Tabela 1:** Macronutrientes, micronutrientes e outros parâmetros do resíduo de suinocultura processado pelo biodigestor, juntamente com os valores permitidos pelo CONAMA 397/2008.

Macronutrientes, Micronutrientes e outros parâmetros	Valores	
	Resíduo	CONAMA
Nitrogênio	3,4 g/L	20,0 mg/L
Fosforo	0,5 g/L	-
Potássio	0,3 g/L	-
Calcio	0,6 g/L	-
Magnésio	0,2 g/L	-
Enxofre	0,4 g/L	-
Matéria Orgânica	0,6 g/L	-
Ferro	125,0 mg/L	15,0mg/L
Manganês	11,4 mg/L	1,0 mg/L
Cobre	54,8 mg/L	1,0 mg/L
Zinco	113,8 mg/L	5,0 mg/L
pH	7,68	-
Densidade	1004 g/L	-
Massa Seca	1,4%	-

A exposição dos girinos às três concentrações do resíduo de suinocultura processado pelo biodigestor apontaram que houve diferenças significativas para micronúcleos (  $H(4, N=60) = 15.94402$ ;  $p = .0031$ ) entre as concentrações do resíduo para o grupo controle (Figura 1).

Houve diferença entre a C2 e CP ( $p=0,0087$ ), C2 e CN ( $p=0,0158$ ), C3 e CP ( $p=0,0126$ ), e por fim entre a C3 e CN ( $p=0,0223$ ). Estes resultados confirmam que o resíduo de suinocultura possui potencial mutagênico e que o teste de micronúcleo é importante na avaliação de efeitos genotóxicos, além de indicar que a espécie é um modelo experimental adequado para o monitoramento da poluição deste resíduo. As outras anormalidades eritrocitárias não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ), com exceção das células entalhadas ( $F(4,55)=9,8870$ ,  $p=0,00000$ ), confirmando que o resíduo de suinocultura causa danos genotóxicos, visto que, embora o mecanismo de formação desta anormalidade seja desconhecido (LÓPEZ-GONZÁLES, 2017), uma possibilidade de explicação é que sempre que é detectado um dano genético na célula, inicia-se um processo de recuperação e eliminação da cromatina excedente e a região alterada é então movida para fora do núcleo e eliminada pela exocitose, apresentando então imperfeições na membrana nuclear (HEREK, 2017).



**Figura 1:** Frequência de Micronúcleos entre os tratamentos, demonstrando os efeitos subletais do composto de resíduo de suinocultura.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a fundação de amparo á pesquisa em Pesquisa de Goiás (FAPEG) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANDREAZZI, M.A; SANTOS, J.M.G.; LAZARETTI, R.M.J. Destinação dos resíduos da suinocultura em granjas das regiões noroeste e sudoeste do Paraná. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 19, n. 3, set-dez. 2015, p. 744-751, 2015.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº397**, de 3 de abril de 2008. Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Publicado no D.O.U. nº66 de 7 abril 2008.

CABAGNA M.C; LAJMANOVICH R.C; PELTZER P.M; ATTADAMO A.M; ALE E., Induction of micronuclei in tadpoles of *Odontophrynus americanus* (Amphibia: Leptodactylidae) by the pyrethroid insecticide cypermethrin. **Toxicological & Environmental Chemistry**, 88:4, 729-737. 2006.

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

FENG, Z.; ZHU, H.; DENG, Q.; HE, Y.; LI, J.; YIN, J.; GAO, F.; HUANG, R.; LI, T.; Environmental pollution induced by heavy metal(loid)s from pig farming. **Environmental Earth Sciences**. 2018.

GONÇALVES, M.W.; GAMBALE, P.G.; GODOY, F.R.; ALVES, A.A.; REZENDE, P.H.A.; CRUZ, A.D; MACIEL, N.M.; NOMURA, F.; BASTOS, R.P.; MARCO-JR, P.; SILVA, D.M. The agricultural impact of pesticides on *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Amphibia: Anura) ascertained by comet assay. **Zoologia**, v. 34, p1-8. 8p. 2017.

HEREK, J.S. **GLIFOSATO E SEUS EFEITOS SOBRE DUAS ESPÉCIES DE ANFÍBIOS NATIVOS DA AMÉRICA DO SUL *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis***. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) apresentada a Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim, 2017.

LÓPEZ-GONZÁLEZ E.C.; LARRIERA A.; SIROSKI P.A.; POLETTA G.L. Micronuclei and other nuclear abnormalities on *Caiman latirostris* (Broad-snouted caiman) hatchlings after embryonic exposure to different pesticide formulations. *Ecotoxicology and environmental safety*, v.136, p.84-91. 2017

MESSIAS, A.S.; SILVA, H.A.; LIMA, V.N.; SOUZA, J.E.G; Avaliação da mobilidade de micronutrientes em solo tratado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 3, n. 3, p. 193-211, set-dez. 2007.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E. Mobilidade de metais pesados em um latossolo amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**. Piracicaba. v. 58, n. 4, 2001.

SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v. 175, n. 1, p. 184-91, 1988.