



O PEIXE *POECILIA VIVIPARA* (TELEOSTEI:POECILIIDAE) É MAIS SENSÍVEL À EXPOSIÇÕES AGUDAS AO COBRE QUANDO ACLIMATADO À TEMPERATURA ELEVADA

MAURICIO ROZA¹; MAIDANA DA SILVA IDIARTE²; CAROLINE STÜRMER DE OLIVEIRA³; RICARDO BERTEAUX ROBALDO⁴; ADALTO BIANCHINI⁵; YURI DORNELLES ZEBRAL⁶

¹Universidade Federal de Pelotas– mauricio_roza@msn.com

²Universidade Federal de Pelotas- maydanaidiarte@hotmail.com

³Universidade Federal do Rio Grande – Rio Grande, RS, Brasil

⁴Universidade Federal de Pelotas- ricardorobaldoufpel@gmail.com

⁵Universidade Federal do Rio Grande – Rio Grande, RS, Brasil – adaltobianchini@furg.br

⁶Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Rio Grande – Rio Grande, RS, Brasil – yurizebral@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A temperatura é um dos principais fatores abióticos que afetam os animais, influenciando desde processos fisiológicos até a distribuição geográfica das espécies (PÖRTNER, 2001). Segundo o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), a temperatura média global apresentou um aumento de 0,85°C entre 1880 e 2012, e projeções apontam um aumento entre 1°C e 3,7°C até 2100. Nesse contexto, é importante obter estimativas realistas dos limites térmicos das espécies e entender os seus mecanismos. (REZENDE, 2010).

O conhecimento da tolerância térmica tem contribuído nas investigações sobre como os organismos se ajustam a seus ambientes. No método dinâmico conhecido como *Critical Thermal Methodology* (CTM), a temperatura é alterada de forma gradual até atingir um *end point* estabelecido. Este método consiste em determinar a temperatura crítica máxima (CTMax) e mínima (CTMin), definidas como o ponto térmico no qual as atividades locomotoras ficam desorientadas e o animal perde a habilidade de escapar das condições que irão prontamente levar à sua morte (BECKER, 1979; LUTTERSCHMIDT, 1997).

Além dos problemas diretamente relacionados aos limites térmicos, o aumento da temperatura média global afeta a distribuição e a toxicidade de poluentes ambientais, principalmente em ambientes aquáticos (MANCIOCCO, 2014). Dentre os poluentes ambientais, podemos citar o cobre. O cobre é um micronutriente essencial para a maioria dos animais e plantas e ocorre naturalmente na crosta terrestre. Entretanto, em concentrações elevadas pode ser tóxico para organismos aquáticos (KAPUTSKA, 2004).

Peixes, por serem ectotérmicos, são sensíveis a mudanças drásticas na temperatura. (FRY, 1971; PÖRTNER, 2001). Indivíduos da espécie *Poecilia vivipara* (Bloch & Schneider, 1801) são encontrados em lagos, rios e lagoas ao longo de toda a costa brasileira com relativa abundância, e apresentam alta tolerância a extremos ambientais como salinidade e temperatura. Por isso e pela fácil manutenção em laboratório, têm sido utilizados como organismo modelo em experimentação animal (GOMES, 2008).

As previsões demonstrando o aumento da temperatura global e indícios de que poluentes podem afetar a tolerância térmica trazem a necessidade de estudos relacionando estes fatores, de modo que se possa conhecer a dinâmica da toxicidade dos poluentes devido às mudanças climáticas, e compreender a fisiologia das espécies para assim auxiliar na sua conservação. Assim, o objetivo desse

trabalho foi avaliar os efeitos combinados do cobre e da temperatura de aclimação na tolerância térmica de adultos de *P. vivipara*, utilizando método já desenvolvido e testado para se obter a CTMax.

2. METODOLOGIA

Os indivíduos adultos de *P. vivipara* foram coletados no município de Rio Grande – RS e transportados para o Laboratório de Fisiologia Aplicada à Aquicultura na UFPel, onde foram aclimatados em água doce por três semanas. Machos e fêmeas foram distribuídos em 18 caixas, sendo dois casais por caixa, em temperaturas de 22°C ou 28°C, com aeração constante e fotoperíodo de 12 horas. Os ensaios foram realizados em triplicatas (2 fêmeas e 2 machos por repetição) totalizando 12 indivíduos em cada um dos seis grupos, sendo três grupos aclimatados em 22°C e três aclimatados em 28°C. Em cada temperatura de aclimação, dois grupos foram expostos por 96h às concentrações de 9 e 20 µg/L de cobre, respectivamente, referentes ao equivalente em cloreto de cobre anidro (CuCl₂), sendo o terceiro o grupo de controle, que não foi exposto ao cobre.

Os ensaios para a obtenção da CTMax foram realizados em aquários de vidro contendo 4L de água. Utilizando resistências elétricas, a água foi aquecida sob taxas constantes de 0,4°C por minuto, partindo de 22°C ou 28°C, de acordo com a temperatura de aclimação. Sensores digitais foram fixados na unidade experimental e as temperaturas foram gravadas automaticamente a cada minuto. A duração do ensaio foi determinada pelo *end point*, estabelecido como a perda total do equilíbrio do peixe durante a natação. A temperatura observada nesse momento foi considerada a CTMax. Após apresentar a desordem fisiológica, os animais retornaram à condição inicial e 24 horas depois foi avaliada a sobrevivência do animal para validar o limite térmico testado. Depois dos ensaios, os animais foram eutanasiados e amostras do fígado, brânquias, intestino e músculo foram armazenadas em nitrogênio líquido para posterior quantificação da concentração tecidual de cobre.

Os dados obtidos para CTMax e concentração tecidual de cobre nos diferentes tratamentos foram submetidos à análise de covariância (ANCOVA) utilizando o peso dos indivíduos como covariável, seguida do teste *post-hoc* de Duncan. As diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas se a probabilidade de significância for menor que 0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CTMax foi significativamente maior nos animais aclimatados em 28°C (41,07±0,50°C) em relação aos aclimatados a 22°C (39,51±0,68°C). Entretanto, a exposição ao cobre reduziu a CTMax apenas em animais aclimatados a 28°C. Os valores médios das CTMax para os indivíduos aclimatados a 22°C não apresentaram diferenças significativas e foram 39,44±0,2; 39,37±0,2 e 39,78±0,1°C, respectivamente para os animais do controle e expostos a 9 e 20 µg/L de cobre (Figura 1). Os indivíduos aclimatados a 28°C apresentaram um valor médio da CTMax de 41,49±0,05; 40,73±0,1 e 40,96±0,15°C para os animais do controle, e expostos a 9 e 20 µg/L de cobre, respectivamente. O grupo controle demonstrou ser estatisticamente diferente dos outros dois grupos (Figura 1). Os valores de CTMax dos indivíduos aclimatados em 28°C foram significativamente maiores que em 22°C tanto no controle quanto nos tratamentos com 9 e 20 µg/L de cobre (Figura 1).

A concentração tecidual de cobre foi maior em animais aclimatados em 28°C em relação aos aclimatados em 22°C, tanto no fígado (22°C: 0,24±0,01; 7,7±1 e 19±0,2µg/g; 28°C: 0,25±0,007; 11,6±0,4 e 23,3±1µg/g, Controle, 9 e 20µg/L de cobre, respectivamente) quanto nas brânquias (22°C: 0,28±0,03; 6,07±1,2 e 15,24±0,6µg/g; 28°C: 0,29±0,03; 6,5±0,5 e 23,45±3,3µg/g, respectivamente). Em temperaturas mais elevadas os animais aumentam o seu metabolismo, aumentando as trocas com o meio através das brânquias e intensificando a contaminação nos tecidos com o cobre dissolvido. A diminuição da CTMax de animais expostos ao cobre em temperaturas mais elevadas pode ter ocorrido devido à maior acumulação de cobre nos tecidos. Os mecanismos fisiológicos que levam à diminuição da tolerância térmica em temperaturas elevadas após exposição ao cobre ainda não são bem compreendidos e isso será avaliado em trabalhos futuros. Apesar disso, já se sabe que o cobre gera estresse oxidativo (MACHADO, 2013), inibição enzimática e alterações no metabolismo energético (CHOWDHURY, 2016).

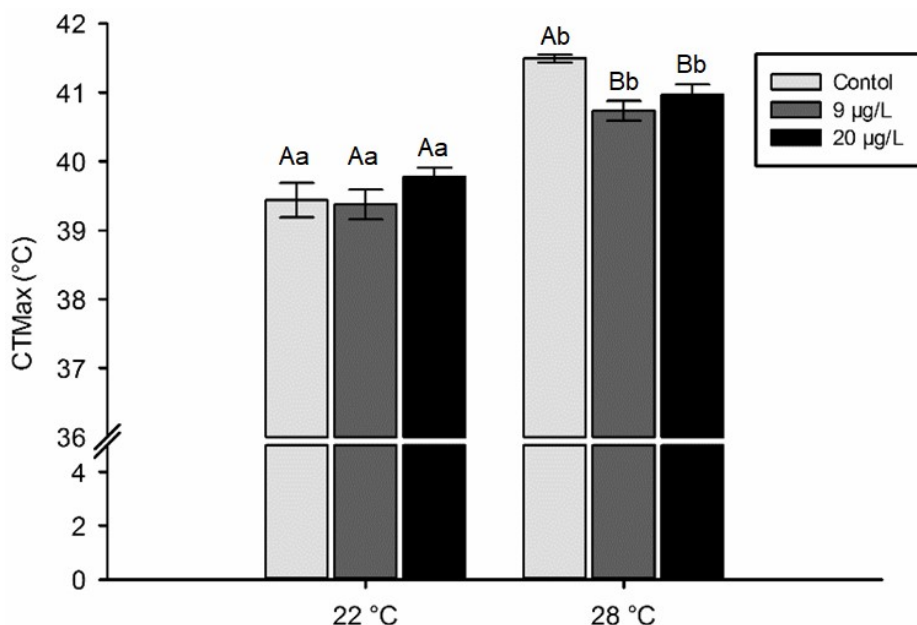


Figura 1 – Temperatura crítica máxima de adultos de *Poecilia vivipara* expostos por 96h às concentrações de 9 e 20µg/L de cobre e o grupo controle, aclimatados por três semanas às temperaturas de 22 e 28°C. Os valores são representados pelas médias ± erro padrão. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos com cobre dentro da mesma temperatura de aclimação. Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as duas temperaturas de aclimação dentro dos mesmos tratamentos com cobre (ANCOVA multifatorial, peso dos animais como covariável, *post hoc* de Duncan; n=12; p=0.03)

4. CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou que indivíduos de *P. vivipara* acumulam uma maior quantidade de cobre nos tecidos quando aclimatados a temperaturas elevadas, o que levou à diminuição da tolerância térmica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER, C. D.; GENOWAY, R. G. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. **Environmental Biology of Fishes**, v.4, n.3, p.245-256, 1979.

CHOWDHURY, M.J.; GIRGIS, M.; WOOD, C.M. Revisiting the mechanisms of copper toxicity to rainbow trout: Time course, influence of calcium, unidirectional Na⁺ fluxes, and branchial Na⁺, K⁺ ATPase and V-type H⁺ ATPase activities. **Aquatic Toxicology**, v.177, p.51-62, 2016.

FRY, F. The Effect of Environmental Factors on the Physiology of Fish. **Fish Physiology**, p.1-98, 1971

GOMES JR., J. L.; MONTEIRO, L. R. Morphological divergence patterns among populations of *Poecilia vivipara* (Teleostei Poeciliidae): test of an ecomorphological paradigm. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.93, p.799-812, 2008

IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. IPCC, Geneva, Suíça, 2014, 151p.

KAPUSTKA, L.A., W.H. CLEMENTS, L. ZICCARDI, P.R. PAQUIN, M. SPRENGER e D. Wall. 2004. Issue paper on the ecological effects of metals. **EPA Risk Assessment Forum: Papers Addressing Scientific Issues in the Risk Assessment of Metals**. 74 pp. Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=86119>.

LUTTERSCHIMIDT, W.I.; HUTCHINSON, V.H. The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. **Canadian Journal of Zoology**, v.75, p.1553–1560, 1997.

LYDY, M. J.; WISSING, T. E. Effect of sublethal concentrations of copper on the critical thermal maxima (CTMax) of the fantail (*Etheostoma flabellare*) and johnny (*E. nigrum*) darters. **Aquatic Toxicology**, v.12, p.311-322, 1987.

MACHADO, A. A. S.; HOFF, M. L. M.; KLEIN, R. D.; CARDOZO, J. G.; GIACOMIN, M. M.; PINHO, G. L. L.; BIANCHINI, A. Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. **Aquatic Toxicology**, v.138–139, n15, p. 60-69, 2013.

MANCIOCCO, A.; CALAMANDREI, G.; ALLEVA, E. Global warming and environmental contaminants in aquatic organisms: the need of the etho-toxicology approach. **Chemosphere**, v.100, p.1-7, 2014.

PÖRTNER, H. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals **Naturwissenschaften**, v.88, p.137-146, 2001.

REZENDE, E.L.; TEJEDO, M.; SANTOS, M. Estimating the adaptive potential of critical thermal limits: Methodological problems and evolutionary implications. **Functional Ecology**, v.25, n.1, p.111–121, 2010.