

Nota científica/Short Communication

Efeitos do NaOH sobre a sobrevivência de juvenis de *Astyanax altiparanae*.

Autores: Julia Marjorie Meirinho, Nicole Ferraz, Vitor Gomes Rossi

Resumo:

O NaOH (Hidróxido de Sódio) é um composto químico amplamente utilizado em usinas hidrelétricas para o controle de incrustações causadas pela presença do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) na tubulação dos sistemas de resfriamento. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da alcalinização da água, a partir do uso de NaOH, sobre a sobrevivência de juvenis da espécie *Astyanax altiparanae*. O experimento teve duração de quatro dias. Os peixes foram expostos aos seguintes tratamentos por 96 h: pH 8,5, pH 9, pH 9,5, pH 10 e pH 11, além de um tratamento controle e um tratamento branco (sem animais). A cada 6 horas era feita a contabilidade dos animais mortos, bem como o ajuste do pH de cada tratamento. A cada 24 h era feita a renovação de 80% da água dos tratamentos, sendo analisados, no ato da renovação, as seguintes variáveis abióticas da água: oxigênio dissolvido, alcalinidade, CO₂, temperatura, pH, amônia e nitrito. Destas, apenas os valores de alcalinidade e CO₂ apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). O pH letal médio calculado para o período de 96 horas foi de 8,6.

Palavras-chave: pH, peixe, juvenis, *Astyanax altiparanae*, Hidróxido de Sódio,

Abstract

Sodium Hydroxide (NaOH) is a chemical compound widely used in hydroelectric plants for the control of scale caused by the presence of the golden mussel (*Limnoperna fortunei*) in the piping of the cooling systems. The objective of this work was to evaluate the effects of alkalization of water on the survival of juveniles of the species *Astyanax altiparanae* from the use of NaOH. The experiment lasted 4 days. The fish were exposed to different treatments for 96 h: pH 8.5, pH 9, pH 9.5, pH 10 and pH 11, as well as a control treatment and a white treatment (without animals). Every 6 hours the dead animals were accounted, as well as the pH adjusted of each treatment. The following abiotic water variables were analyzed every 24 hours: dissolved oxygen, alkalinity, CO₂, temperature, pH, ammonia and nitrite. Of these, only the values of alkalinity and CO₂ presented a significant difference ($p < 0.05$). The median lethal pH calculated for the 96 hour period was 8.6.

Key words: pH, fish, juveniles, *Astyanax altiparanae*, Sodium Hydroxide

Introdução

Desde 2001, as usinas hidrelétricas brasileiras passaram a lidar com as incrustações causadas pela invasão do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) nas estruturas dos sistemas de resfriamento (Mäder Netto, 2011), que por sua vez, são responsáveis por dissipar o aumento térmico causado durante o funcionamento dos geradores e outros equipamentos.

O mexilhão-dourado é uma espécie de molusco invasora que apresenta uma fase larval planctônica e uma estrutura anatômica denominada de bisso, caracterizada por inúmeros fios finos e resistentes que se fixam fortemente a diversos substratos (Morton, 1973). Tais características biológicas conferem ao mexilhão-dourado alta capacidade de dispersão e incrustação (Pestana *et al.*, 2010).

Para realizar o controle das incrustações provocadas pelo mexilhão-dourado, são utilizados métodos químicos, dos quais os mais comuns são: cloro gasoso, dióxido de cloro, dicloroisocianurato, MXD-100, NaOH (hidróxido de sódio), ozônio, sulfato de cobre e pinturas anti-incrustantes. Destes métodos, o NaOH tem sido amplamente utilizado por possuir as seguintes características: baixo custo, capaz de reduzir as corrosões químicas e biológicas, ser um composto estável, ser de fácil aplicação e eficiente na diminuição das incrustações causada pelo mexilhão-dourado. (Giordani *et al.*, 2005; Mäder Netto, 2011). Entretanto, apesar de ser utilizado em muitas usinas hidrelétricas do território nacional, o NaOH tem o potencial de causar impactos ambientais quando injetado em altas concentrações nos meios aquáticos.

Neste contexto, a utilização de bioindicadores se apresenta como uma das formas para se detectar níveis diferenciados de poluição orgânica, derramamento de óleo, alterações de pH da água, lançamento de pesticidas, entre outros.

Um desses bioindicadores é o lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* (Santos, 2009; Piancini, 2013; Berti *et al.*, 2015). Este organismo tem sido amplamente utilizado em experimentos envolvendo contaminação ambiental por se tratar de uma espécie nativa, não migratória, com reduzido

tamanho, hábito alimentar flexível e curto ciclo reprodutivo (Porto-Foresti *et al.*, 2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da alcalinização da água, a partir do uso de NaOH, sobre a sobrevivência de juvenis da espécie *Astyanax altiparanae*.

Material e Métodos

Obtenção e aclimação dos animais

Mil exemplares de *A. altiparanae* foram adquiridos na Central de Abastecimento do Paraná (CEASA), localizada em Curitiba, no estado do Paraná, Brasil. Os animais foram transportados em sacos plásticos, contendo água e oxigênio até o Laboratório de Pesquisa com Organismos Aquáticos (LAPOA), pertencente ao Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais (GIA), em Curitiba, Paraná, Brasil.

Em laboratório, os animais foram separados em dois grupos de 500 indivíduos, e foram distribuídos em dois tanques plásticos com volume útil de 800 L, posicionados em uma estufa agrícola, dotada de sistema de controle de temperatura, filtro biológico e recirculação de água, para a manutenção da qualidade das variáveis abióticas. Ainda, deste lote de peixes, foram retirados 25 indivíduos para a análise biométrica inicial, mensurando o peso total ($1,66 \pm 0,66$ g) em uma balança digital (BEL Engineering S4202, Itália) e o comprimento total ($3,9 \pm 0,41$ cm), com um paquímetro universal 200 mm (Vonder, Brasil). Os peixes foram mantidos nestas estruturas, sendo alimentados ad libitum, com uma ração comercial extrusada (Kowalski, Brasil), contendo 38% de proteína bruta.

Após dez dias de aclimação, 250 animais foram transferidos para uma sala de experimento, onde passaram por mais três fases de aclimação antes do início do experimento. Na primeira fase (sete dias), os peixes foram separados em dois grupos e acondicionados em dois tanques com volume individual útil de 80L. O fotoperíodo foi ajustado em 12 h claro/12 h escuro. Cada grupo de animais era alimentado duas vezes ao dia com 2 g da mesma ração comercial anteriormente utilizada, totalizando 4 g por dia para cada grupo. Diariamente,

50% do volume de água de cada tanque era renovado. Antes da renovação eram mensurados: temperatura e oxigênio dissolvido (% e mg/L) (oxímetro digital YSI® Pro 20, USA); pH (pHmetro Sensoglass® SP1400, Brasil); concentração de amônia total (mg/L de N^{As} (NH₃+NH₄⁺)) e nitrito (mg/L de N·NO₂⁻), obtidas pelo método colorimétrico (Apha, 2005), mediante leitura das amostras por espectrometria em fluorímetro (Molecular Devices® – ExpectraMax M2, USA) e; dióxido de carbono e alcalinidade, a partir do método de titulometria.

Posteriormente, na segunda fase de aclimação (três dias), os peixes foram transferidos para quatro aquários esféricos de vidro, com capacidade útil para 14 L. A temperatura ambiente foi mantida em 25°C e o manejo nutricional, alimentar e de manutenção e a análise da qualidade da água foram os mesmos da fase anterior de aclimação.

Na terceira fase (dois dias), os animais foram distribuídos em aquários esféricos de vidro, com capacidade útil para 4 L. Os aquários utilizados e o volume útil dos mesmos eram idênticos aos das unidades experimentais. Cada aquário recebeu dez peixes e foram mantidos nas mesmas condições da fase anterior, porém, houve a renovação diária de 80% do seu volume de água. Não foi fornecida alimento aos animais neste período. Os peixes previamente aclimatados e que não foram utilizados no experimento foram mantidos nos aquários de 14 L até o final do período experimental, sendo, posteriormente transferidos de volta para os tanques de 800 L, posicionados na estufa agrícola.

Experimento Piloto

Para a definição das faixas de pH a serem testadas no experimento principal, realizou-se um teste-piloto. Cinco juvenis de *A. altiparanae* foram acondicionados em um aquário contendo 3 L de volume de água, com aeração constante e temperatura de 26°C. Foram testados oito tratamentos experimentais: pH 8, 8,5, 9,5, 10, 10,5, 10,8, 11 e 12. Os animais foram mantidos nestes aquários por 16 h. A cada hora, os aquários eram vistoriados e os animais mortos contabilizados e retirados. Observou-se que em pH superior a 10 os animais morreram dentro de vinte minutos á uma hora, sendo que em pH 12 os animais morreram instantaneamente. A partir destes resultados, as faixas testadas no experimento principal foram definidas entre o pH 8,5 e o pH 10.

Experimento principal

Dez exemplares de *A. altiparanae* foram acondicionados dentro de aquários contendo 4 L de água, com a presença de aeração constante e em temperatura ambiente controlada de 26°C. Esses animais foram expostos a diferentes faixas de pH pelo período de 96 h. Utilizou-se o composto Hidróxido de Sódio (NaOH) para obter os 5 tratamentos testados (pH 8,5, 9, 9,5, 10 e 11). Além dos tratamentos, havia um tratamento controle, todos em duplicata, e uma unidade experimental em que não havia nenhum animal (branco). Os animais não foram alimentados durante o experimento e a água de cada aquário era renovada diariamente na taxa de 80%.

Para a renovação da água de cada unidade experimental adotou-se o seguinte protocolo: A cada renovação, as unidades eram sifonadas e o volume de água retirado era mensurado, em recipientes graduados. Imediatamente após este processo, o volume retirado era repostado e o pH da água era ajustado ao valor utilizado em cada tratamento através da utilização de soluções trabalho de NaOH a 1 e 10%, com o auxílio de uma bureta graduada de 25 ml. A água utilizada no processo de renovação era proveniente de três tanques com volume útil de 80 L, mantidos na própria sala de experimento, contendo água previamente clorada e após neutralizada para eliminação do cloro residual livre, em presença de aeração constante. Antes da renovação eram mensurados os seguintes parâmetros abióticos da água de cada tratamento: temperatura e oxigênio dissolvido (mg/L) (oxímetro digital YSI® Pro 20, USA); pH (pHmêtro digital (HORIBA LAQUAtwin B-713, Japão)); concentração de amônia total (mg/L de $N^-(NH_3+NH_4^+)$) e nitrito (mg/L de $N-NO_2^-$), obtidas pelo método colorimétrico (Apha, 2005), mediante leitura das amostras por espectrometria em fluorímetro (Molecular Devices® – ExpectraMax M2, USA); alcalinidade e concentração de dióxido de carbono (CO_2), mensurada por titulometria com Ácido Sulfúrico a 0,02N e hidróxido de sódio 0,02N, respectivamente (APHA, 2005a).

Diariamente, a cada 6 horas, as unidades experimentais eram vistoriadas. Durante estas vistorias, os animais mortos eram quantificados e retirados e o pH de cada tratamento era medido e corrigido utilizando a mesma metodologia descrita no processo de renovação da água. A confirmação da

morte era feita através da constatação de ausência de movimentos operculares por mais de 30 segundos e ausência de reflexo ao toque.

Resultados

Os valores medianos e extremos das variáveis abióticas medidas estão descritos na Tabela 1. Apenas foram identificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na alcalinidade do tratamento com pH 9,5 em relação ao branco, e na concentração de CO_2 dos tratamentos com pH 9,5 e 10, que diferiram dos tratamentos com pH 8,5 e do tratamento controle.

Tabela 1: Valores medianos (mín-máx) das variáveis abióticas mensuradas nos diferentes tratamentos ao longo do experimento.

Tratamento	T (°C)	OD (mg/L)	pH	Alc (mg/L)	CO_2 (mg/L)	Amônia (mg/L)	Nitrito (mg/L)
pH 8,5	25,7	6,6	8,2	61,2	1,06	0,045	3,5
	(23,9-26,6)	(6,3-6,8)	(8,0-8,5)	(23,4-144)	(0,84-1,4)	(0,043-0,046)	(1,9-5,0)
pH 9,0	26,1	6,4	8,8	102,6	0,84	0,045	3,7
	(23,9-26,7)	(5,9-6,8)	(8,6-9,0)	(23,4-131,4)	(0,5-1,18)	(0,043-0,046)	(2,4-5,5)
pH 9,5	25,7	6,6	9,2	131,4	0,5	0,045	4,3
	(23,9-26,3)	(6,4-6,8)	(9,0-9,5)	(23,4-194,4)	(0,22-0,84)	(0,043-0,056)	(2,7-10,8)
pH 10	25,9	6,5	9,8	104,4	0	0,044	3,4
	(23,9 - 26,9)	(6,1-6,7)	(9,7-10,0)	(77,4-212,4)		(0,043-0,045)	(2,3-4,7)
pH 11	23,9	6,8	10,9	79,2	0	0,043	0,04
		(6,7 – 6,9)	(10,8 – 11,0)	(23,4 – 135)			
Controle	25,8	6,6	7,5	32,4	0,95	0,045	4,1
	(23,9-26,7)	(6-7)	(7,3-7,6)	(23,4-45)	(0,78-1,18)	(0,043-0,052)	(2,4-9,4)
Branco	26,5	6,7	7,6	27	0,72	0,043	4,4
	(23,9-26,7)	(6,5-7)	(7,3-7,7)	(21,6-28,8)	(0,45-0,9)	(0,042-0,044)	(2,4-7,5)

T: temperatura. OD: oxigênio dissolvido. Alc: alcalinidade. Amônia: $\text{N}(\text{NH}_3+\text{NH}_4^+)$. Nitrito: N^-NO_2^- .

A Figura 1 apresenta os valores de pH letal médio nos diferentes tempos de exposição do experimento. Os dados coletados às 72 horas e às 96 horas não permitiram calcular os intervalos de confiança para os determinados valores médios de pH.

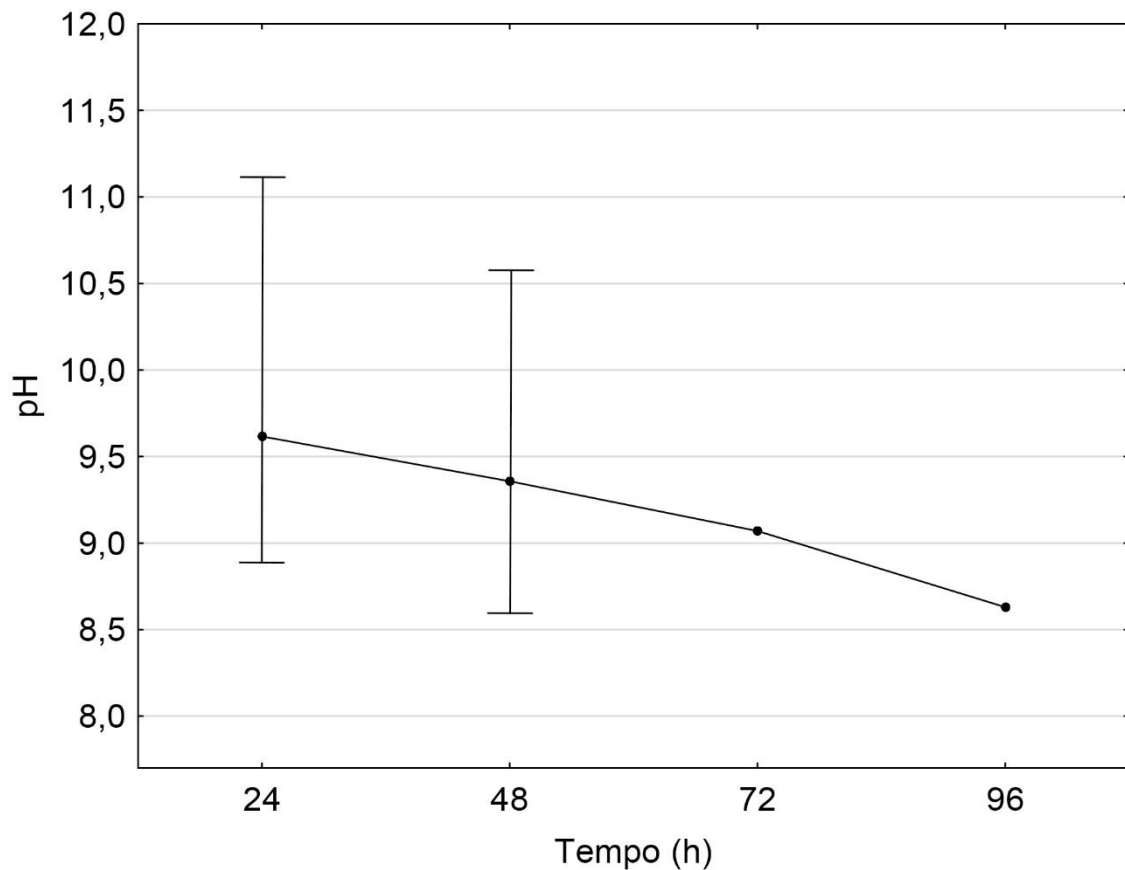


Figura 1: Valores do pH médio letal e seus intervalos de confiança, nos diferentes tempos de exposição (horas) para juvenis de *Astyanax altiparanae*.

Discussão

O aumento da alcalinidade relacionado com o aumento no pH dos tratamentos e as diferenças na concentração de CO_2 observadas, podem ser explicados a partir da seguinte equação química:



Apesar de ter apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, tais variáveis abióticas da água, bem como as demais mensuradas, se mantiveram dentro dos padrões considerados aceitáveis para *Astyanax altiparanae* (Porto-Foresti et al., 2005; Arana, 2014). Este fato corrobora que as mortalidades observadas nos tratamentos experimentais foram associadas ao pH.

São raros os estudos que avaliam apenas o pH, uma vez que os existentes focam na interferência do pH em outras substâncias tóxicas, como Miron *et al.* (2008) que relacionou com toxicidade da amônia em juvenis de *Rhamdia quelen* e Takasusuki *et al.* (2004) que avaliou o efeito do pH na toxicidade do cobre para a espécie *Prochilodus scrofa*, o autor Gazzola (2003) analisou o efeito da amônia e do oxigênio dissolvido em pH neutro de alevinos de *Salminus brasiliensis*. E o autor Ferreira (2001), que viu a influência do pH sobre ovos e larvas de *Rhamdia quelen*.

O pH médio letal em 96 horas calculado foi de 8,6. Este valor é similar ao observado no trabalho de Oliveira *et al.* (2008) em que pH letal médio para a espécie cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) foi de 8,8. O pH médio letal calculado no presente trabalho também encontra-se fora da faixa de pH observada nos rios no qual o lambari-do-rabo-amarelo é nativo, que é de 6,2 a 8,1(Orsi *et al.*, 2004) (Bennemann *et al.*, 2005) (Oyakawa e Menezes, 2011).

Entretanto, o pH letal médio calculado para *A. altiparane* encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 2005) CONAMA 357/2005, que estabelece sobre lançamento de efluentes e classifica as água doces para diferentes fins, especificando o pH entre 6 à 9. Portanto, o simples fato de respeitar a legislação vigente não é suficiente para garantir que o uso do NaOH não cause impactos ambientais no ambiente aquático no qual se encontram as usinas hidrelétricas.

Referências

ARANA, L. Fundamentos de aquicultura. Florianópolis: UFSC, 2004.349 p. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador**, v. 15, n. 1, p. 149-159, 2014.

BENNEMANN, S. T. et al. Ocorrência e ecologia trófica de quatro espécies de Astyanax (Characidae) em diferentes rios da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 95, n. 3, p. 247-254, 2005.

BERTI, A. P.; SILVA, E. M.; GRASSI, L. E. A. Avaliação ecotoxicológica da qualidade da água em *Astyanax bimaculatus*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, 2015. ISSN 2236-7934.

GIORDANI, S.; NEVES, P.; ANDREOLI, C. Limnoperna fortunei ou mexilhão dourado: impactos causados, métodos de controle passíveis de serem utilizados e a importância do controle de sua

disseminação. 23º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental. Mato Grosso do Sul, Brasil, 2005.

MÄDER NETTO, O. Controle da incrustação de organismos invasores em materiais de sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas. **Universidade Federal do Paraná**, 2011.

MIRON, D. D. S. et al. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). **Aquaculture**, v. 277, n. 3, p. 192-196, 2008. ISSN 0044-8486.

MORTON, B. Some aspects of the biology and functional morphology of the organs of feeding and digestion of *Limnoperna fortunei* (Dunker)(Bivalvia: Mytilacea). **Malacologia**, v. 12, n. 2, p. 265, 1973. ISSN 0076-2997.

OLIVEIRA, S. R. D. et al. Tolerance to temperature, pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an amazonian ornamental fish. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 773-779, 2008. ISSN 0044-5967.

ORSI, M. L.; CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Biologia populacional de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) do médio Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 2, p. 207-218, 2004.

OYAKAWA, O. T.; MENEZES, N. A. Checklist of fresh water fishes from São Paulo State, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 19-32, 2011. ISSN 1676-0603.

PESTANA, D. et al. Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do estado do Paraná, Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)**, v. 50, p. 553-559, 2010. ISSN 0031-1049. Disponível em: <
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0031-10492010003400001&nrm=iso
>.

PIANCINI, L. D. S. Biomonitoramento do rio iguaçu em dois pontos utilizando como bioindicador peixes do gênero *Astyanax* (Characiforme, Characidae). 2013.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, v. 2, p. 101-116, 2005.

SANTOS, D. C. M. D. Toxidez aguda do zinco em lambaris *Astyanax aff. bimaculatus* (Linnaeus, 1758). 2009.

TAKASUSUKI, J.; ARAUJO, M.; FERNANDES, M. Effect of water pH on copper toxicity in the neotropical fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodondidae). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 72, n. 5, p. 1075-1082, 2004. ISSN 0007-4861.

FERREIRA, A.A.; NUÑER, A.P.O.; EZQUIVEL, J.R. Influência do pH sobre ovos e larvas de jundiá, *Rhamdia quelen* (Osteichthyes, Siluriformes). **Acta Scientiarum**, v.23, n.2, p.477-481, 2001. ISSN 1679-9283.

GAZZOLA, A.C. Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido em alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*). 2003.

FERREIRA, K.L.M. Influência do pH sobre ovos e larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. In: Resoluções, Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> > Acesso: 09.jun.2017