

## EFEITO TÓXICO DAS SUBSTÂNCIAS LIBERADAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PRESENTES NO *Eucalyptus* EM GIRINOS DE *Lithobates catesbeianus* (RÃ TOURO)

Ritielly Maria Guimarães Guerino<sup>1</sup>; Suzane Luiz de Faria<sup>2</sup>; Ricier Guimarães Guerino<sup>3</sup>; Giovana Lima Muniz<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Pós-graduada em Perícia ambiental, pelo Centro Educacional de Apoio Pedagógico (CEAP) unidade de Itapuranga-GO. Rua 50a esquina com Rua 43, nº 960. Bairro Vila Nova. CEP: 76.680-000. Itapuranga-GO. E-mail: ritiellyguerino@hotmail.com. <sup>2</sup> Graduado no curso de Ciências Biologia - Licenciatura, Universidade Estadual de Goiás – UnD. de Itapuranga, GO – ILES/ULBRA. <sup>3</sup> Graduado do curso de Ciências Biologia - Licenciatura, do Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara,GO–ILES/ULBRA. <sup>4</sup> Graduando do curso de Ciências Biologia - Licenciatura, do Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara,GO–ILES/ULBRA.

**RESUMO** - O *Eucalyptus* pertence à família das Mirtáceas, nativo da Austrália com uma grande variedade de espécies e híbridos. Tem recebido muita atenção por sua capacidade de fixação do CO<sub>2</sub> e também por ser uma monocultura que gera uma série de problemas ao ambiente, como degradação do solo e diminuição da biodiversidade. O *Eucalyptus* tem sido muito cultivado por apresentar muitas características comerciais desejáveis, uma vez que dele tudo se aproveita: celulose, madeira e óleos essenciais que ocorrem principalmente nas folhas onde são produzidos e armazenados em células secretoras. Esses óleos apresentam como principais compostos isolados o 1,8 cineol (eucaliptol), a piperitona, o felandreno e aldeídos voláteis, sendo que vários constituintes destes óleos apresentam efeitos tóxicos. Essas substâncias podem ser dispersas no ambiente durante o período de chuvas quando, por exemplo, as folhas de *Eucalyptus* são lixiviadas para rios e lagos, levando para dentro dos leitos destes os constituintes químicos, incluindo os óleos essenciais. A prevalência desses óleos no meio aquoso representa um risco potencial de efeitos prejudiciais aos organismos aquáticos. Entre eles se encontram os anuros (sapos, pererecas, rãs e organismos aparentados). São utilizados como bioindicadores de qualidade ambiental por exercerem importante papel no ecossistema aquático, por terem seu ciclo de vida na água quando girino e na água e na terra após sofrerem metamorfose. A partir disso, o objetivo deste trabalho é verificar se a presença do eucaliptol na água pode causar algum efeito letal nos girinos de rã touro (*Lithobates catesbeianus*). Um experimento será realizado para encontrar a DL 50 (dose letal) do eucaliptol. Ele consistirá na utilização de cinco recipientes contendo 10 girinos cada. Concentrações diferentes do

eucaliptol serão adicionadas aos recipientes sendo esta bateria de testes repetida três vezes ao longo do experimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Monocultura; Anura; Bioindicadores; Eucaliptol; CL 50.

### INTRODUÇÃO

Pertencente à família das Mirtáceas, o *Eucalyptus* é nativo da Austrália com uma grande variedade de espécies e híbridos (JUNIOR E LIMA, 2010). Os Eucaliptais trazem consequências ambientais positivas e negativas: nas florestas de eucalipto ocorre fixação do carbono, com resultado positivo sobre a o teor de CO<sub>2</sub> do ar, diminuindo o efeito estufa, embora exista uma diminuição da biodiversidade associadas a monoculturas, especialmente aquelas que liberam compostos secundários. De acordo com as publicações de Andrade (1928) o eucalipto foi introduzido no Brasil em 1868, sendo os primeiros exemplares plantados no Rio Grande do Sul e no Rio de Janeiro; embora existam registros que em São Paulo já teriam alguns plantios de *Eucalyptus globulos* antes dessa data.

O óleos essenciais ocorrem principalmente nas folhas onde são produzidos e armazenados em células secretoras. Segundo Araújo *et al.* (2010), nas folhas de eucalipto estão presentes a maior concentração os óleos essenciais; estes produzidos e armazenados em células secretoras. Esses óleos possuem algumas características como sabor geralmente picante e ácido. Quanto à coloração, são geralmente incolores ou levemente amarelados com cheiro intenso apresentando alguns compostos como o 1,8-cineol (eucaliptol), piperitona, felandreno e aldeídos voláteis. Essas estruturas secretoras presentes nas folhas de eucaliptos são glândulas dispostas em todo o parênquima foliar da maioria

das espécies e podem ser observadas contra a luz como pequenos pontos translúcidos.

Além das folhas, os óleos essenciais podem ser encontrados no caule, raiz e fruto, podendo ser extraídos através de destilação por arraste a vapor (PEREIRA, 2010). O odor característico de uma planta muitas vezes é de responsabilidade desses óleos e segundo Simas (2004), esses compostos têm a finalidade de defesa do vegetal e para atrair polinizadores.

Os óleos essenciais possuem numerosos compostos voláteis formados por uma média de 50 a mais de 100 componentes entre esses: hidrocarbonetos terpenicos, álcool, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxido e ácidos orgânicos. Nos óleos, estes componentes estão presentes em diferentes concentrações, sendo algumas majoritárias e outras em baixa concentração, como por exemplo, o 1,8-cineol (Eucaliptol) que é um dos compostos principais de algumas espécies de eucaliptos (CASTRO, 2006).

Araújo *et al.* (2010) afirmam que essas substâncias presentes no óleo essencial de eucalipto, quando dispersas no ambiente, entrando em contato com corpos d'água, liberam constituintes químicos para dentro destes. A prevalência desses óleos no meio aquoso representa um risco potencial de efeitos prejudiciais aos organismos aquáticos como os anfíbios. Segundo Verdade, Dixó e Curcio (2010), os anfíbios são animais que passam parte do ciclo de vida em ambiente aquático e parte em ambiente terrestre. Embora haja variação desse padrão, os anfíbios no geral dependem de umidade para viver e se reproduzir. A maior parte das espécies deposita seus ovos em ambientes aquáticos e apresenta uma fase larval chamada girino, que sofre a metamorfose até se transformar em um jovem com aspecto do adulto, que ainda vai desenvolver até se reproduzir.

Miguel e Tavela (2007) afirmam que os anfíbios por serem os primeiros a sentirem os efeitos da variação ambiental devido às características biológicas que apresentam, são considerados bioindicadores de poluição. Os anfíbios são importantes indicadores ambientais por dependerem de dois meios, aquático e terrestre, para sobrevivência. Eles são considerados sensores porque são os animais que primeiramente denunciam as degradações no meio. De acordo com as condições apresentadas, eles alteram substancialmente a estrutura de seus

órgãos, sendo os primeiros a desenvolver anomalias genéticas e deformações físicas.

Buscando provar que a presença do óleo essencial causa impacto sob a anurofauna será realizado um experimento utilizando girinos de *Lithobates catesbeianus* (rã touro) como bioindicadores. As rãs na sua maioria apresentam pele lisa úmida e glandular; dois pares de extremidades locomotoras para andar ou nadar; duas narinas; dois olhos frequentemente com pálpebras móveis; boca geralmente com dentes finos; língua frequentemente prostrátil; esqueleto de grande extensão óssea; crânio com dois côndilos occipitais; coração com três câmaras (2 aurículas e 1 ventrículo); encéfalo com 10 pares de nervos cranianos; ectotérmicos utiliza fonte de calor do meio para manter as funções metabólicas e fecundação externa. São em sua maioria ovíparas e os ovos apresentam algum vitelo e são encerrados em cápsulas gelatinosas (STORER e USINGER, 2003).

Ferreira (2002) alega que as rãs ao contrário de outros anuros, dependem da água tanto para a reprodução, quanto para a defesa. Além disso, realizam o equilíbrio hídrico e eliminam excretas e peles velhas no ambiente aquático.

## METODOLOGIA

Durante o período experimental de 2 semanas foram utilizados em média 500 girinos de rã touro (*Lithobates catesbeianus*) com idade entre 35 e 40 dias provenientes do ranário Fujioka, localizado na cidade de Hidrolândia, Goiás. No campus da Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Itapuranga, os girinos foram depositados em um recipiente circular com capacidade de 80 litros, utilizado como reservatório de aclimação. Além deste, foram utilizados mais 5 recipientes transparentes com capacidade de 20 litros. Todos os recipientes foram abastecidos com água mineral comercial sendo que o recipiente maior (aclimação) teve a água renovada continuamente. Somente os girinos presentes no recipiente de aclimação receberam alimentação. Essa era à base de ração comercial para peixe com 40% de proteína bruta, a mesma utilizada nos ranários. A ração era triturada e em seguida fornecida duas vezes ao dia, a manhã e à noite, na superfície da água.

Para a realização dos testes, os girinos foram separados aleatoriamente e colocados nos 5 recipientes menores. Foram realizadas 5

baterias de testes, para cada uma houve variação no volume de água e na quantidade de girinos, bem como a dose de eucaliptol, substância adquirida em estabelecimentos que comercializam produtos odontológicos.

Em todas as baterias de testes realizadas, um dos recipientes foi destinado ao grupo controle, não recebendo adição de eucaliptol. Nos demais recipientes, foram adicionadas doses variadas do eucaliptol que, após ser acrescido na água, era misturada com o auxílio de espátula. Os girinos não foram alimentados durante os testes e os sobreviventes foram descartados. Para evitar a influência de fatores externos, os recipientes foram cobertos com uma tela fina (tecido filó). As análises foram feitas após 48 horas de exposição dos organismos ao produto, sendo que a cada 12 horas foram retirados os indivíduos mortos. Na análise dos dados foi utilizado para estimar a DL50 em diferentes doses de eucaliptol e densidades o Modelo Linear Generalizado (GLM). O GLM é uma generalização da regressão linear múltipla. Esta generalização permite que a variável dependente se relacione com as independentes por meio de uma função de ligação (ou seja, por meio de uma função que transforme a variável dependente para que se enquadre nos pressupostos da regressão linear). O GLM permite também que a variância varie em função dos dados (quebrando o pressuposto da homocedasticidade das variâncias).

### RESULTADOS PARCIAIS

Observa-se que quando se tem maior densidade é necessário uma maior dose de eucaliptol para causar danos. Esse fato pode ser explicado devido ao comportamento natural apresentado pelos girinos, à agregação. O comportamento de agregação pode permitir aos indivíduos reduzir a taxa de mortalidade associada à predação, pois: i) causam efeito de confusão que ocorre pela dispersão desordenada dos indivíduos, confundindo o predador; e ii) pelo efeito de diluição que ocorre pela diminuição da chance de cada indivíduo ser predado, que aumenta proporcionalmente ao tamanho do agregado (Wrona & Dixon, 1991). Em estudos feitos por Cavalheri (2010) mostram que quando o risco de predação se torna iminente e os girinos detectam sinais químicos no ambiente que sinalizam a presença do predador, eles podem se agregar como forma de diminuir o risco de serem predados. Além deste risco, o

tamanho do agregado influencia no stress dos organismos. Em agregados maiores, os girinos estiveram menos sujeitos à influência do eucaliptol por se encontrarem menos estressados.

Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciam a necessidade de estudos complementares sobre possíveis efeitos letais em girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) uma vez que doses subletais de eucaliptol, bem como de outros produtos tóxicos no ambiente aquático, podem não resultar em mortalidade imediata dos animais, mas a exposição de organismos a baixas doses de um determinado produto, por um longo período de tempo, pode resultar em um efeito semelhante, quando há exposição à doses elevadas por um curto período de tempo.

### CONCLUSÃO

O efeito do Eucaliptol é tóxico, embora o óleo cause menos impacto em girinos que estiveram mais agregados, ou seja, em densidades maiores (razão entre número de girinos e quantidade, em litros, de água). A presença de eucaliptais próximos a corpos d'água podem causar prejuízos nesses ambientes, liberando substâncias que são letais para organismos que ali vivem.

### REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. N. *A cultura do Eucaliptus*. 1ed. São Paulo: Typographia Brazil de Rothschild e Cia. 1928.
- ARAÚJO, Fabíola Oliveira Lino de et al . Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Mirtaceae). **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, 2010. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422010000700016&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000700016&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 28 ago. 2012.
- CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. *Caracterização fotoquímica de óleos essenciais de eucaliptos e seu efeito sobre protozoário tripanosomatídeo hepertomonas sumuelpessoai*. 97f. Dissertação (Doutorado em Agronomia. Programa de Pós - graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras. 2006.
- FERREIRA, C. M. ET al. *Introdução a ranicultura*. 15f. Boletim técnico do instituto de pesca. São Paulo. 2002.
- MIGUEL, P. S. TAVELA, R. C. *O declínio populacional de anfíbios e suas conseqüências ecológicas*. In. VIII Congresso de Ecologia do Brasil.

Caxambu. 2007. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*. p.1-3.

PEREIRA, J. L. *Composição química dos óleos essenciais de espécies de eucalyptus l' herit (myrtaceae)*. Disponível em: <[http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_arquivos/37/TDE-2010-11-04T111350Z-2636/Publico/texto%20completo.pdf](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/37/TDE-2010-11-04T111350Z-2636/Publico/texto%20completo.pdf)>. Acesso em: 08 mai 2012.

SILVA JÚNIOR, M. C. S; LIMA, R. M. C. e. *Cem árvores urbanas*. Brasília: guia de campo. Rede de sementes do cerrado. 2010.

STORER; et al. *Zoologia geral*. 6. Ed. Editora Nacional: São Paulo, 2003

SIMAS, N. K. et al. *Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida demyroxylon balsamum (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides*. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n1/18807.pdf> > Acesso em: 08 maios 2012.

VERDADE, Vanessa K.; DIXO, Marianna; CURCIO, Felipe F.. Os riscos de extinção de sapos, rãs e pererecas em decorrência das alterações ambientais. *Estud. av.*, São Paulo, v. 24, n. 68, 2010