

RELATÓRIO TÉCNICO

**I - ANÁLISE QUANTITATIVA & QUALITATIVA DE FITOPLÂNCTON
EM FAZENDAS DE CULTIVO DE CAMARÃO.**

**II – CONCENTRAÇÃO DE TOXINAS NA ÁGUA DAS FAZENDAS DE
CULTIVO DE CAMARÃO.**

Dra. Clarisse Odebrecht

Dr. João Sarkis

Biol. M.Sc. Márcio Silva de Souza

Rio Grande, 3 de setembro de 2003

I - ANÁLISE QUANTITATIVA & QUALITATIVA DE FITOPLÂNCTON EM FAZENDAS DE CULTIVO DE CAMARÃO.

INTRODUÇÃO

Após a observação de sinais clássicos de opacidade muscular em camarões cultivados e laudo de especialista citando a toxidez por microalga, como um dos possíveis responsáveis por tal opacidade, foi requisitado pela Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC, uma avaliação completa do fitoplâncton presentes no cultivo e suas toxinas.

MATERIAL E MÉTODOS

O material analisado foi coletado entre os meses de julho e agosto de 2003, em três fazendas de cultivo de camarão da região nordeste do Brasil, sendo uma em Cajueiro da Praia – PI, uma em Camocim – CE e a última em Aracati – CE.

Essas amostras (volume final entre 300 e 1000 ml; fixadas com solução de Formol 2%) foram enviadas entre os meses de julho e agosto, para o **Laboratório de Ecologia de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos / FURG** e utilizadas para a identificação e a contagem do fitoplâncton.

Em laboratório foram utilizadas câmaras de sedimentação de 2,1 e/ou 10 ml, segundo critérios e método de análise específicos para fitoplâncton (Utermöhl, 1958; Sournia, 1978). A identificação dos organismos foi realizada de acordo com literatura relacionada com as classes de microalgas e cianobactérias observadas: Anagnostidis & Komárek (1988), Desikachary (1959), Komárek & Anagnostidis (1989), Torgan (1997). A enumeração dos organismos (expressa em indivíduos l⁻¹) foi efetuada com a utilização de microscópios ópticos de luz invertida Nikon e Axiovert 135 ZEISS equipados com contraste de fase e/ou contraste de interferência, e com os aumentos de 100X a 400X.

A identificação dos tricomas de cianobactérias dominantes foi realizada através de microscópio ótico de luz transmitida, utilizando os corantes azul de metileno e nanquim para realçar caracteres diagnósticos para a determinação de gêneros e/ou espécies (Torgan, 1997), no aumento 1000X, em lâmina-lamínula sob objetiva com óleo de imersão.

Resultados

Tabela 01. Concentração de organismos (ind./L) do fitoplâncton nas amostras de cultivo **Piauí, Camocim e Aracati** (julho-agosto de 2003). Quadros marcados com X indicam a presença, com +++++ indicam a presença de grande quantidade.

Organismos	Piauí	Camocim	Aracati
Cyanophyta/Cyanobacteria			
<i>Anabaena</i> sp.	100		
cf. <i>Planktothrix</i> / <i>Planktolyngbya</i>	2000		
cf. <i>Pseudanabaena</i> / <i>Limnothrix</i>			
tricomas retos	148292500	234431100	399229200
tricomas espirais	12895000	47195700	150613600
Células cocóides unicelulares			+++++
Dinophyceae			
<i>Protoperdinium</i> sp.	20420	14583	
<i>Gymnodinium</i> sp.	4084	14583	29166
<i>Gyrodinium</i> sp.	21441	165274	
<i>Katodinium</i> sp.	13273	315965	
<i>Scrippsiella trochoidea</i> complexo	152129	272216	
Dinoflagelado ñ identificado	2042	58332	
Bacillariophyceae			
<i>Amphora</i> sp.	14294	X	X
<i>Cyclotella</i> sp.		1200667	136108
<i>Cymbella</i> sp.	38798		68054
<i>Navicula</i> spp.	X	X	X
<i>Nitzschia</i> sp.	X	476	X
<i>Odontella sinensis</i>	100		
<i>Paralia sulcata</i>	500		
Penadas ñ identificadas	148045	111803	194440
<i>Pleurosigma</i> sp.	1700	2381	1905
<i>Thalassiosira</i> sp1.			709706
<i>Thalassiosira</i> sp2. (colônia)			1001366
Euglenophyceae			
Euglenofíceas ñ identificadas	11231	43749	296190

Considerações

De maneira geral, as diatomáceas apresentaram maior número de espécies nas três amostras, seguidas por dinoflagelados e cianobactérias (Tabela 01). Em relação à densidade, as cianobactérias foram os organismos com os maiores valores nas três amostras, atingindo a concentração máxima de $5 \cdot 10^8$ tricomas/L na amostra de Aracati. Nesta amostra, foram também observados organismos unicelulares cocóides de tamanho menor de 2 μm ou seja, pertencente ao picoplâncton, indicados com +++++ na Tabela 01. Devido à altíssima concentração desses organismos, a sua contagem não foi possível pela técnica utilizada e a sua identificação taxonômica requer ferramentas especiais de microscopia. Entretanto, podemos considerar que a sua presença requer um estudo mais detalhado.

As amostras do **Piauí** e de **Camocim** foram caracterizadas pela riqueza de *taxa* de dinoflagelados, pela alta densidade de tricomas (retos e espiralados) de cianobactérias e pela densidade expressiva de diatomáceas penadas não identificadas (Figuras 01, 02 e 03). Em relação aos dinoflagelados, notou-se a abundância de representantes heterotróficos e/ou mixotróficos (por exemplo *Gymnodinium*, *Gyrodinium*, *Katodinium*, e *Protoperidinium*) sugerindo uma condição eutrófica nos tanques de cultivo, provavelmente por alto teor de matéria orgânica e de biomassa fitoplanctônica.

A amostra de **Aracati** apresentou a maior densidade de tricomas de cianobactérias retos e espiralados (respectivamente, $\sim 4,0 \times 10^8$ ind./l e $1,5 \times 10^8$ ind./l), identificados como cf. *Limnothrix* / *Pseudanabaena* (Tabela 01; Figuras 04 e 05). Além disso, essa amostra foi caracterizada por maior densidade de Euglenofíceas ($2,9 \times 10^5$ ind./l) em comparação com as outras duas amostras ($0,1$ e $0,4 \times 10^5$ ind./l, respectivamente amostra do **Piauí** e de **Camocim**) (Tabela 01). O dinoflagelado *Scrippsiella trochoidea* complexo foi observado em baixas concentrações apenas nas amostras do **Piauí** e de **Camocim** (respectivamente, $1,5$ e $2,7 \times 10^5$ ind./l). Foram observadas altas concentrações ($> 10^6$ ind./l) das diatomáceas cêntricas *Cyclotella* sp. ($1,2 \times 10^6$ ind./l, amostra de **Camocim**) e *Thalassiosira* sp. ($\sim 10^7$ ind./l, amostra de **Aracati**) e das cianobactérias (em todas as amostras; Tabela 01) que podem representar riscos ao cultivo pela condição de floração (*blooms*).

Os tricomas de cianobactéria foram identificados como pertencentes ao gênero *Limnothrix* ou *Pseudanabaena*, e *Planktothrix* ou *Planktolyngbya* (Anagnostidis & Komárek, 1988).

Não foi possível determinar o gênero e espécie dos tricomas observados, tendo em vista o diminuto tamanho de suas células (1 μm de largura ou diâmetro, 5 a 7 μm de comprimento), impedindo a visualização de caracteres diagnósticos importantes, tais como a constituição e a constrição da parede celular, a presença de bainha mucilaginosa, e a presença e disposição ao longo da célula dos aerotopos.

Ressalta-se que não há registro de toxicidade para o gênero *Limnotherix* (Anagnostidis & Komárek, 1988), mas sim para o gênero *Pseudanabaena* (Gorham *et al.*, 1982 *apud* Falconer, 1993). Confirma-se assim, a importância da realização de análise bioquímica de amostras vivas do plâncton e do camarão para a confirmação da presença de possíveis toxinas oriundas de cianobactérias.

Bibliografia Consultada

- Anagnostidis, K. & Komárek, J. 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes: 3 - Oscillatoriales. **Arch. Hydrobiol. Suppl.**, **80**, 1-4. Stuttgart, p: 327-472.
- Desikachary, T.V. 1959. **Cyanophyta**. I.C.A.R. Monographs on Algae. New Dehli, 686p.
- Falconer, I. 1993. **Algal Toxins in Seafood and Drinking Water**. Academic Press, London. 224p.
- Faria, J.G. 1914. Um ensaio sobre o plankton, seguido de observações sobre a ocorrência de plankton monótono, causando mortandade de peixes na Bahia do Rio de Janeiro. **Tese de Livre-Docência**, Faculdade de Medicina, Rio de Janeiro, 48p.
- Fritz, L. & Triemer, R.E. 1985. A rapid simple technique utilizing calcofluor white 2MR for the visualization of dinoflagellate thecal plates. **J. Phycol.** **21**: 662-664.
- Gorham, P.R; McNicholas, S. & Allen, E.A.D. 1982. Problems encountered in searching for new strains of toxic planktonic cyanobacteria. **South Afr. J. Sci.** **78**, 357.
- Honsell, G. & Cabrini, M. 1991. *Scrippsiella spinifera* sp. nov. (Pyrrhophyta): a new dinoflagellate from the Northern Adriatic Sea. **Botanica Marina**, **34**: 167-175.
- Montresor, M.; Sorosso, S.; Procaccini, G. & Kooistra, H.C.F. 2003. Intraspecific diversity in *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae): evidence for cryptic species. **Phycologia**, **42** (1): 56-70.
- Sournia, A. 1978. **Phytoplankton Manual**. Monographs and oceanographic methodologies. UNESCO, Paris. 337p.
- Torgan, L.C. 1997. Estrutura e Dinâmica da Comunidade Fitoplanctônica na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil, em um Ciclo Anual. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de São Carlos, S.P., 284p.
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. **Mitt. int. Verein. theor. angew. Limnol.**, **9**: 1 - 38.

Biólogo MSc. Oc. Bio. Márcio Silva de Souza (e-mail: pgobmss@super.furg.br)

Profª Drª Clarisse Odebrecht (e-mail: doclar@super.furg.br)

Rio Grande, 03 de setembro de 2003

II – CONCENTRAÇÃO DE TOXINAS NA ÁGUA DAS FAZENDAS DE CULTIVO DE CAMARÃO.

Introdução

Nos dias 14 e 16 de agosto do corrente ano, recebemos amostras de camarões para análise de microcistinas. Foram analisadas as concentrações de microcistinas no meio e nos organismos. Numa análise microscópica de das amostras (3, 4, 5 e 7) identificou-se a presença de mais de 1 milhão de células/ml de uma cianobactéria unicelular, não-colonial com diâmetro entre 6 a 7µm , com possível potencial nocivo. Igualmente foram identificadas mais de 4 mil filamentos/ml dos gêneros Planktothrix e Pseudoanabaena também com potencial nocivo, como os gêneros e as características morfológicas destes organismos enquadram-se entre os produtores de hepatotoxinas, as microcistinas foram as toxinas analisadas nas amostras de água (3, 5 e 8) nas amostras de camarão (1, 2 e 6) fornecidas.

Nas amostras de água do meio foram detectadas concentrações de microcistinas de 6,0 a 94 µg/L (**Figura 1**). Confirmando assim que os três gêneros encontrados na análise microscópica das amostras são produtores de hepatotoxinas. Estes valores são considerados baixos em relação aos mais altos (>1000 µg/L) encontrados em ambientes impactados por eutrofização em baías ou em barragens no país. As taxas de CL50 =2,25 ug mL (concentração letal que mata 50% da população) descritos para juvenis do camarão marinho *Farfantepenaeus paulensis* por Salomon em 1996 e confirmados com extratos de florações naturais de *Microcystis*, mais tarde por Yogui 1999, alertam para que um controle estrito do aumento desta eutrofização deva ser exercido pelos responsáveis para evitar que as toxinas encontradas possam dizimar a biomassa de camarões dos cultivos.

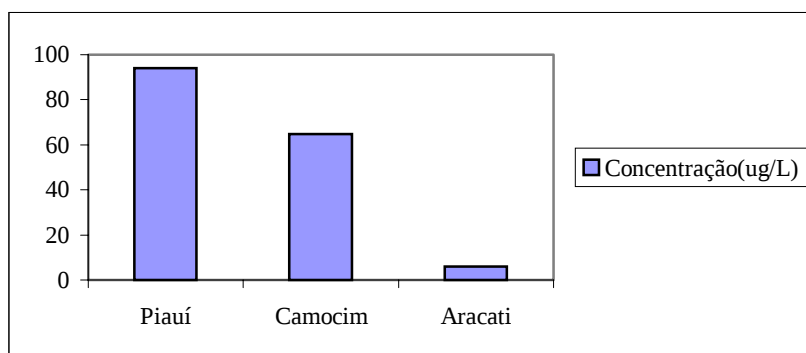


Figura 1. Concentração de toxinas (µg/L) na água.

Concentração de toxinas nos organismos - Nestas duas datas foram recebidas, como já citado, amostras de indivíduos, congelados, também para análise de microcistinas. Os indivíduos foram analisados por amostras, sendo que cada amostra (1, 2 e 6) foi separada segundo a rotulagem enviada pela empresa, ou seja: Camocim, Piauí e Aracati. No intuito de avaliar o risco de transferência das toxinas via consumo do camarão, as amostras foram divididas em dois grupos: uma das amostras corresponde aos camarões com cabeça e casca (camarões inteiros), e a outra, camarões sem cabeça e sem casca, (abdome-parte comestível). Os resultados variaram de 1,473 a 2,105 µg/kg de camarão

(**figura 2**). Valores estes compatíveis com aqueles acumulados nas tilápias da Baía de Jacarepaguá, R.J. (Magalhães et al. 2001).

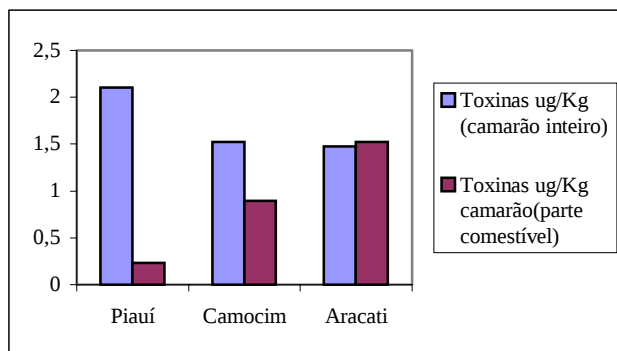


Figura 2. Concentração de toxinas (µg/kg) nos organismos

A diferença entre o conteúdo de toxinas presente no camarão inteiro e na parte comestível justifica-se pela superfície de contato e pela colocação superpostas das placas tegumentares do crustáceo (evidenciada pela coloração verde de alguns exemplares) e pela possível concentração nas brânquias. Ambas partes removidas quando da análise da parte comestível (abdômen).

Concentrações permitidas segundo a OMS - Os resultados obtidos foram comparados com os limites propostos pela OMS (Organização Mundial da Saúde)* para alimentos contaminados com microcistinas, estes são expressos em TDI (Tolerância Diária Ingerida = 0,04 µg/kg.dia), e comparados com EDI (Estimativa Diária Ingerida), que considera uma pessoa de 50kg, que consumiria até 1kg de camarão por dia (**figura 3**).

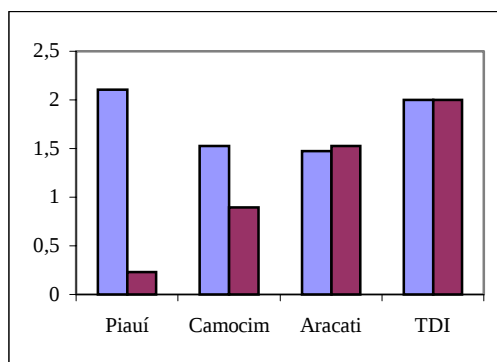


Figura 3. Níveis de microcistinas atingidos pelos EDI (Ingestão Diária Estimada, µg/kg.dia) e o TDI (Tolerância diária ingerida, já calculada para 2 µg).

Conclusão:

Das amostras analisadas, verificamos que na análise do camarão inteiro foram obtidos valores que se aproximam ou mesmo ultrapassam (**Piauí**) o TDI sugerido pela OMS. Já as amostra contendo

somente o abdômen (camarão sem casca e sem cabeça) estiveram todas abaixo do TDI, isto é, estando livres para o consumo.

Referências:

Salomon, OS. 1996. Determinação do Potencial Tóxico de Florações de *Microcystis aeruginosa* (cianobactéria) na Lagoa dos Patos, estuário e praia do Cassino. Trabalho de Conclusão de Curso. FURG, 82 p.

Yogui, GT. 1999. Considerações Biótica e Abiótica Sobre a Toxicidade de *Microcystis aeruginosa* Kutizing (cianobactéria) no estuário da Lagoa dos Patos, RS. Trabalho de Conclusão de Curso. FURG, 56 p.

Magalhães, VF; Soares, RM; Azevedo, SMFO (2001). Microcystin contamination in Fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. **Toxicon** 39: 1077-1085.

*Chorus, I & Bartram, J. (1999). Toxic Cyanobacteria in Water . A guide to their public health consequences, monitoring and management. 416 p. **E & FN SPON**, Londres e NY.

Prof. Dr. João Sarkis Yunes
Responsável pela UPC