



CLADÓCERO *CERIODAPHNIA DÊBIA* UTILIZADO NO BIOMONITORAMENTO DE CIANOTOXINAS NO RESERVATÓRIO GARGALHEIRAS (RN)

L. A. P. da Silva

K. P. G. Pereira; R. Panosso; I. A. S. da Costa; F. O. de Araújo

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. leide_amara@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Florações de cianobactérias, além de frequentemente afetarem animais, podem prejudicar também a saúde humana, devido a capacidade de produção de cianotoxinas - produtos naturais tóxicos, de síntese geneticamente determinada (Kaebernick & Neilan, 2001). A intoxicação por cianotoxinas tem maiores chances de ocorrer com o aumento das densidades das florações, especialmente quando as populações naturais atingem a senescência, ocasionando a lise das células. A intoxicação pode ocorrer por diferentes vias: pela ingestão de água contaminada; durante recreação em corpos aquáticos contaminados, havendo contato com a pele, ingestão ou inalação não intencional; pelo consumo de alimentos contaminados; e por meio de hemodiálises, se a água utilizada não for devidamente purificada (Dittmann & Wiegand, 2006). Um caso notório de intoxicação por cianotoxinas ocorreu em Caruaru, Pernambuco, numa clínica de hemodiálise, onde 54 pacientes foram a óbito depois de submetidos a tratamentos de hemodiálise realizados com água contaminada por hepatotoxinas (Azevedo *et al.*, 2002).

A dominância por cianobactérias está associada a vários fatores físico - químicos, biológicos e climatológicos (Bouvy *et al.*, 1999) e reservatórios da região semi - árida apresenta um grande potencial para o surgimento de florações por apresentar alguns desses fatores determinantes, como águas quentes, grande aporte de nutrientes, alta turbidez, elevados índices de luminosidade durante na maior parte do ano.

Na região semi - árida, devido à escassez hídrica natural, foram construídos reservatórios de água para suprir as necessidades das populações, os quais foram projetados para diversos usos, como irrigação e pesca, e para abastecimento humano. Porém, alguns estudos indicam que as cianobactérias são dominantes em 100% do ano nos reservatórios do semi - árido (e.g. Huszar *et al.*, 2000). Isso representa um sério problema de saúde pública, principalmente devido à escassez de água nessa região (Panosso *et al.*, 2007).

As cianobactérias produzem toxinas que são caracterizadas

como hepatotoxinas e neurotoxinas, onde as primeiras são representadas por peptídeos cíclicos (microcistina e nodularina) e alcalóides (cilindropermopsina), e as segundas por alcalóides (anatoxinas e saxitoxinas) (Dittmann & Wiegand, 2006). Nos humanos, as hepatotoxinas podem provocar danos ao fígado, como hemorragias, aparecimento de tumores e câncer, além de diarreias e cólicas. Já as neurotoxinas podem provocar tontura, adormecimento da boca e extremidades, fraqueza muscular, náusea, vômitos e taquicardia (Apeldoorn *et al.*, 2007).

Entre as cianobactérias tóxicas encontradas em ecossistemas de água doce, as espécies mais bem representadas compõem o gênero *Cylindropermopsis* (Bouvy *et al.*, 1999). Em reservatórios do Rio Grande do Norte, há registros frequentes de florações de cianobactérias (Costa *et al.*, 2006; Panosso *et al.*, 2007), as quais são dominadas principalmente pelos gêneros *Cylindropermopsis*, *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* e *Planktothrix* (Panosso *et al.*, 2007).

Levando os fatores abordados em consideração, surge, então, a necessidade da realização de monitoramentos constantes de cianobactérias e cianotoxinas (Port. 518/2004 - MS) presentes na água dos reservatórios, a fim de gerar um diagnóstico do potencial tóxico dessas cianobactérias nesses ambientes, assim como dos possíveis efeitos das cianotoxinas nas comunidades aquáticas e para a saúde humana.

Para tanto é preciso adotar as metodologias propostas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em sua publicação **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management** (Port. 518/2004 - MS). Testes para comprovação de toxicidade podem ser aplicados por meio de diferentes métodos, entre eles ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay, HPLC-High Performance Liquid Chromatography e bioensaios com camundongos. Ainda, podem ser realizados testes de toxicidade utilizando - se cladóceros, que devido sua sensibilidade, apresentam potencial de uso em monitoramento de cianotoxinas (Ferrão - Filho *et al.*, 2008).

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é avaliar os efeitos causados por cianotoxinas presentes em reservatório do semi - árido brasileiro por meio de biomonitoramento com cladóceros, além de avaliar a eficiência do uso desses nesse tipo de monitoramento. Foram realizados ensaios agudos, utilizando - se organismos da espécie *Ceriodaphnia dubia*. Segundo Ferrão - Filho *et al.*, (2008) esses organismos têm sido considerados referência na toxicologia, sendo utilizados para avaliar o impacto de substâncias tóxicas em água doce.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo de zooplâncton

Cladóceros da espécie *Ceriodaphnia dubia* foram cultivados em béqueres, sob condições controladas de luz (12:12 h) e temperatura (25 °C), em meio contendo água mineral comercial e a clorófitica *Pseudokirchneriella subcaptata* utilizada como alimento *ad libitum*. Algumas vezes utilizou - se fermento biológico como complemento alimentar. O meio de cultivo foi renovado duas vezes por semana.

Ceriodaphnia dubia (Crustacea, Cladocera) é um microcrustáceo zooplânctônico, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado (NBR 13373, 2006).

Bioensaios de toxicidade aguda

Foram realizados, em amostras coletadas nos meses de abril (1 coleta) e maio (2 coletas) de 2009 no reservatório Gargalheiras (semi - árido, RN), 3 bioensaios de toxicidade aguda com a espécie *C. dubia*. Foram utilizados neonatos (<24h), distribuídos em tubos de ensaio, em meios compostos por um gradiente de concentrações da água do reservatório: 0% (controle, somente água mineral), 20%, 40%, 60%, 80% e 100% (porcentagem de água dos reservatórios). As diluições foram preparadas utilizando - se água mineral comercial, e cada tubo recebeu também a clorófitica *P. subcaptata*, usada como alimento de boa qualidade. Cada ensaio contou com 6 tratamentos, sendo 5 réplicas por tratamento e 5 organismos por réplica, totalizando 150 organismos por ensaio. Os organismos foram expostos a todos os tratamentos por 48 h. Após as primeiras 24 h os organismos foram observados quanto à mortalidade. Os sobreviventes (indivíduos visivelmente móveis) eram transferidos para um novo meio de mesma concentração, e os indivíduos imóveis foram colocados em um meio sem a presença de cianotoxinas (suspensão de alimento), a fim de confirmar a imobilidade ou morte dos indivíduos. Ao final das 48 h os organismos foram novamente observados, e feita novamente a contagem dos sobreviventes e transferência dos imóveis para a suspensão de alimento. A mortalidade em 48 h de incubação foi então determinada.

Análises estatísticas

Foi aplicada a ANOVA, a fim de verificar se houve diferença significativa entre a média de organismos mortos nos diferentes tratamentos.

RESULTADOS

O primeiro ensaio apresentou, nos tratamentos com maiores concentrações de séston, um aumento significativo da mortalidade dos cladóceros ($p < 0,001$) quando *Cylindrospermopsis raciborskii* foi a cianobactéria dominante. No segundo ensaio, a sobrevivência dos organismos não variou entre os tratamentos ($p > 0,08$), coincidindo com a dominância do fitoplâncton por *Microcystis aeruginosa*. No terceiro ensaio não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos ($p > 0,40$), caracterizando a não toxicidade da amostra sobre os cladóceros, e apresentou como espécie dominante do fitoplâncton a *Cylindrospermopsis raciborskii*. Tais resultados indicam que a sensibilidade dos organismos utilizados nos ensaios depende do tipo da toxina presente na amostra, bem como da quantidade encontrada.

Uma possível explicação para o baixo poder de toxicidade das cianobactérias sobre os indivíduos de *C. dubia* nos dois últimos ensaios é que as coletas foram realizadas na estação chuvosa, quando ocorreu o vertimento das águas do reservatório. A elevação do nível da água pode ter influenciado na diluição das comunidades algais presentes no reservatório em questão. O primeiro ensaio apresentou diferença significativa entre tratamentos, possivelmente, devido ao fato de o reservatório ainda não ter transbordado.

Outra hipótese é que as cianobactérias não fizeram, de forma tão expressiva, parte da dieta desses cladóceros, os quais, possivelmente, alimentaram - se também de outros organismos fitoplanctônicos (clorófitas, por exemplo) e partículas presentes na água. As cianobactérias não são boa fonte de alimento, devido sua morfologia (colônias ou filamentos), deficiência nutricional e potencial de toxicidade (Wilson *et al.*, 2006), sendo consideradas impalatáveis. Ferrão - Filho *et al.*, (2008), ainda, observou que a melhoria na qualidade da água, com o aumento de sais dissolvidos e compostos orgânicos (como vitaminas), associada à impalatibilidade das colônias de *Microcystis*, favoreceu uma baixa toxicidade sobre cladóceros.

CONCLUSÃO

A partir dos bioensaios realizados nesse estudo pôde - se contatar um baixo potencial tóxico de cianotoxinas sobre a espécie *Ceriodaphnia dubia* no reservatório Gargalheiras, nos meses de abril e maio de 2009, devido à influência de fatores físicos, químicos e biológicos. Ainda, o trabalho propõe o uso de cladóceros nativos, como organismos potencialmente sensíveis a bioensaios de toxicidade, no monitoramento de cianotoxinas em reservatórios eutrofizados dominados por cianobactérias.

Agradecimentos

Esse trabalho é parte do PELD/Caatinga. Agradecimentos especiais ao PIBIC/CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ABNT NBR 13373 (2006).
Apeldoorn, M. E. van, *et al.*, . **Toxins of cyanobacteria**. Mol. Nutr. Food Res. (2007).

- Azevedo, S.M F.O., *et al.*, . **Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil.** *Toxicology* (2002).
- Bouvy, M., *et al.*, . **Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylin drospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi - arid region of north-east Brazil.** *Aquatic Microbial Ecology* (1999).
- Costa, I. A. S., *et al.*, . **Occurrence of toxin - producing cyanobacteria blooms in a brazilian semiarid reservoir.** *Braz. J. Biol.* (2006).
- Dittmann, E. & Wiegand, C. **Cyanobacterial toxins - occurrence, biosynthesis and impact on human affairs.** *MNF Journal* (2006).
- Ferrão - Filho, A. da S., *et al.*, . **Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays.** *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2008).
- Huszar, V. L. M., *et al.*, . **Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters.** *Hydrobiologia* (2000).
- Kaebnick, M. & Neilan, B. A. **Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production.** *Microbiology Ecology* (2001).
- Panosso, R. **Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** *Oecol. Bras.* 2007).
- PORTARIA Nº 518, de 25 de março de 2004-Ministério da Saúde.
- Wilson, A. E., *et al.*, . **Effects of cyanobacterial toxicity and morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta - analyses of laboratory experiments.** *Limnol. Oceanogr.* (2006).