Floração de cianobactérias e o efeito sobre a biota aquática na Lagoa do Peri, SC, Brasil[1]

Débora Monteiro Brentano[2]; Gabriela Rodrigues[3]; Daniel Pereira[4]; Antônio Pereira Soares[5]; Eduardo Cargnin-Ferreira[6]; Berenice da Silva Junkes[7]

Resumo Expandido

[1] Trabalho executado com recursos do Edital nº 16, da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação.
[2] Professor; IFSC; Florianópolis, SC; brentano@ifsc.edu.br; [3, 4, 5] Estudante; IFSC; [6,7] Professor; IFSC.

RESUMO: Dentre os impactos ecológicos de cianobactérias em comunidades aquáticas, destacam-se as alterações na estrutura da comunidade. Esta pesquisa objetivou avaliar a toxicidade aguda e crônica da água bruta da Lagoa do Peri, utilizando indicadores que refletem a saúde de um grupo de organismos, relacionando toxicidade e variáveis físico-químicas. Analisou-se descritores de qualidade da água, a toxicidade aguda ao organismo-teste *Daphnia magna* e realizou-se análise histológica de peixes das espécies *Jenynsia lineata*, através do monitoramento passivo, e *Paracheirodon* sp., através do biomoniotaramento ativo. A água da Lagoa do Peri apresentou-se tóxica em todas as amostragens realizadas, provocando efeito agudo ao zooplâncton exposto. A CE(I)50 48h variou de 7,95 a 70,71% e o FT de >16 a 4. Os valores de nutrientes para a lagoa foram considerados baixos e, provavelmente devido ao curto tempo de amostragem, não foi possível evidenciar um padrão de relação entre a toxicidade aguda e os dados de qualidade de água. A ictiofauna estudada não apresenta efeitos agudos ou crônicos à água da lagoa em estudo.

Palavra Chave: histologia, toxicidade aguda, *Cylindrospermopsis raciborskii.*

INTRODUÇÃO

Dentre os impactos ecológicos de cianobactérias em comunidades aquáticas, Leonard e Pearl (2005) destacam as alterações na estrutura da comunidade de zooplâncton, com mudança de grandes crustáceos (cladóceros e copépodes) a uma comunidade dominada por pequenos cladóceros e microzooplâncton.

A comunidade fitoplantônica da Lagoa do Peri, um manancial da Ilha de Santa Catarina, Brasil, tem registrado a presença constante da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii* desde 1996, com crescente aumento de densidade (Komárková et al., 1999; Laudares-Silva, 1999; Greellmann, 2006). Trata-se de uma cianobactéria potencialmente produtora de saxitoxina (STX) e cilindrospermopsina (CYL).

Neste sentido, o uso de testes de toxicidade aguda com *Daphnia* é apontado como método eficaz para a detecção de toxinas em água bruta (Ferrão-Filho *et al*., 2010). Como um parâmetro integrador das alterações dos sistemas fisiológicos e bioquímicos do organismo (Myers e Fourne, 2002), surge a histologia que permite avaliar a saúde do organismo, mais eficientemente que os parâmetros bioquímicos (Segner e Braunbeck, 1988), e permite detectar câmbios antes que se produzam variações fisiológicas em todo o organismo (Lin e Steinchein, 1994), facilitando extrapolações posteriores em nível de população natural.

Neste sentido, objetivou-se avaliar a toxicidade aguda e crônica da água bruta da Lagoa do Peri, utilizando indicadores que refletem a saúde de um grupo de organismos, relacionando toxicidade e variáveis físico-químicas.

METODOLOGIA

Este projeto foi desenvolvido no IFSC, nos seguintes laboratórios: Laboratório de Ecotoxicologia, Laboratório de Físico-química e Laboratório de Histologia, tendo como parceiro o Laboratório de Ecologia de Águas Continentais da UFSC e área de estudo a Lagoa do Peri.

A Lagoa do Peri está localizada entre as latitudes sul 27°42’59” e 27°46’45” e as longitudes oeste 48°30’33” e 48°31’59”, 3 m acima do nível do mar.

Metodologia de Coleta: Foram realizadas 12 coletas em um ponto central de máxima profundidade da Lagoa do Peri, na profundidade de extinção do disco de Secchi.

 ISSN 2357-836X

Análise de Qualidade da Água: As amostras foram analisadas de acordo com as metodologias do *Standard methods for the examination of water and wastwater* (Apha *et al*., 1995) quanto às variáveis fosfato, nitrogênio total, nitrito, nitrato, amônia e alcalinidade.

Análise de Toxicidade Aguda: O organismo-teste eleito para avaliação de toxicidade aguda foi o microcrustáceo *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladocera, Crustacea).

O teste com as amostras da água bruta da Lagoa do Peri foi executado segundo NBR 12713 (ABNT, 2009). O resultado foi expresso em CE(I)50 48h (concentração efetiva inicial mediana), utilizando-se os métodos estatísticos Probit Method (Weber, 1993) para dados paramétricos e Trimmed Sperman-Karber Method (Hamilton *et al*., 1977) para dados não paramétricos que representam o efeito agudo (imobilidade) sobre 50% da população exposta a amostra. O resultado também foi expresso em FT – Fator de Toxicidade.

Análise Histológica: Para o **biomonitoramento passivo** 5 animais da espécie *Jenynsia lineata* foram coletados durante os meses de dezembro, janeiro, fevereiro, março e abril na Lagoa do Peri e diretamente disponibilizados para as técnicas histológicas.

Para o **biomonitoramento ativo** 5 animais do gênero *Paracheirodon* sp. foram obtidos de casas de aquariofilia nos meses de novembro e março e colocados em 2 aquários de 5 L cada. Um aquário possuía água bruta da Lagoa do Peri (com cianobactérias) e o outro, água filtrada e declorada (controle). O tempo de exposição foi de 15 dias.

Os organismos foram eutanasiados e fixados em formol tamponado a 4% (pH 7,2 e 0,1M) durante 48h, seguido da desidratação em série etanólica crescente e diafanização em Xilol. O material foi incluído inteiro em parafina histológica à 60º C. Os blocos produzidos foram desbastados até encontrar-se o fígado. Foi realizada a microtomia (5 µm) em micrótomo rotativo Leica 2540. As seções histológicas foram coradas pela técnica de Van Gienson com Azul de Alcian. As lâminas foram examinadas e fotografadas em fotomicroscópio Zeiss Primo Star. O fígado foi o órgão estudado, haja vista que é ele que faz todo o processo de detoxificação do organismo, através das enzimas glutationa S-transferases (GST). As GST's representam uma família de genes/enzimas comprovadamente envolvidas na detoxificação de xenobióticos.

Análise Estatística: Os resultados de toxicidade aguda expressos em CE(I)50 48h foram transformados em Unidade Tóxica – UT, visando apresentar uma relação diretamente proporcional da toxicidade aos valores encontrados, através da transformação: UT=100/CE(I)50.

A UT e as variáveis de qualidade da água foram padronizados e posteriormente plotados em boxplot agrupados pelo tempo, na tentativa de observarem-se padrões de relação. Utilizou-se o programa Statistica, versão 8.0 (Statsoft, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade da Água

Nitrito e nitrato apresentaram baixos valores de concentração. Os valores mais elevados para o fósforo total (13,18 $\mu g.L^{-1}$) e para o nitrogênio total (888,7 $\mu g.L^{-1}$) foram obtidos nos meses de setembro/2013 e agosto/2013, respectivamente. A concentração de fósforo total ficou entre 0,59 e 13,18 $\mu g.L^{-1}$(Tabela 1). Esses valores também são considerados baixos para lagoas costeiras e podem refletir a condição de área de preservação ambiental da Lagoa do Peri. Estas características já foram descritas para este manancial previamente na literatura (Hennemann e Petrucio, 2011; Tonetta *et al.*, 2013).

Tabela 1 – Resultado das variáveis descritoras de qualidade da água.

Data	Alcalinidade ($mg.L^{1}CaCO3$)	Fosfato ($\mu g.L^{-1}$)	NT ($\mu g.L^{-1}$)	Nitrito ($\mu g.L^{-1}$)	Nitrato ($\mu g.L^{-1}$)	Amônia ($\mu g.L^{-1}$)
ago/13	0,16	0,72	888,7	0,08	1,61	ND
set/13	0,16	13,18	586,78	0,2	1,34	3,23
out/13	0,17	1,42	NA	0,04	1,61	0,72
nov/13	0,16	1,83	197,14	0,03	2,42	3,9
dez/13	0,11	0,59	12,01	0,03	ND	4,26
jan/14	0,16	1,98	265,48	ND	5,91	0,84
fev/14	0,18	1,98	294,55	0,07	0,54	5,37
mar/14	NA	2,14	255,28	0,01	2,15	0,68
abr/14	NA	0,69	195,61	0,04	NA	6,4

NA: Dados não disponíveis
ND: Não detectado

Toxicidade Aguda

A Lagoa do Peri apresentou-se tóxica em todas as amostragens realizadas. Conforme observa-se na Tabela 2, a CE(I)50 48h variou de 7,95 a 70,71% e o FT de >16 a 4.

ISSN 2357-836X

Tabela 2 – Resultado da toxicidade aguda da água da Lagoa do Peri para *Daphnia magna*.

Data	Toxicidade Aguda da Água do Peri			
	CE(I)50 24h %	CE(I)50 48h %	FT 24h	FT 48h
21/08/13	5,65	NA	>16	>16
24/09/13	18,7	NA	>16	>16
15/10/13	NA	70,71	1	>16
19/11/13	NA	NA	1	4
10/12/13	NA	30,6	8	8
22/01/14	NA	16,3	16	16
18/02/14	31,28	11,38	16	16
18/03/14	80,22	34,61	16	16
15/04/14	NA	7,95	16	>16
20/05/14	34,87	15,98	8	16
16/06/14	NA	11,09	16	>16

NA: Dados não disponíveis

Sabe-se que a presença de *C. raciborskii* induz mudanças na estrutura populacional do zooplâncton em corpos d'água natural. Há redução proporcional na abundância de espécies de cladóceros grandes na presença de filamentos *C. raciborskii* devido a uma diminuição na taxa de filtração (Hawkins e Lampert, 1989). Inclusive, Hong *et al.* (2013) sugerem que a persistência de *C. raciborskii* no ambiente aquático pode ser promovida pela preferência do zooplâncton em predar outras algas, com perda significativa do controle "top-down" que tem como consequência o aumento da abundância de *C. raciborskii*.

Além do efeito mecânico que pode levar a este efeito, cladóceros são afetados pelos metabólitos tóxicos de *C. raciborskii* (Nogueira *et al.*, 2004). Em bioensaios de toxicidade, cladóceros nativos do Brasil (*Moina micrura* e *Daphnia gessneri*) mostraram-se extremamente sensíveis na detecção de efeitos tóxicos de cianobactérias (Ferrão-Filho *et al.*, 2009). Os autores encontraram que as respostas destes organismos foram mais pronunciadas nos meses em que a biomassa de cianobactérias e os níveis de toxinas foram mais elevados.

Provavelmente devido ao curto tempo de amostragem, não foi possível evidenciar um padrão de relação entre a toxicidade aguda e os dados de qualidade de água (figura 1). Sabe-se que nitrogênio e fósforo são limitantes da produção primária (Esteves, 2011). Uma vez que a toxicidade aguda encontrada neste estudo está relacionada à comunidade fitoplantônica, espera-se que séries históricas de dados de qualidade de água possam relacionar-se ao efeito tóxico provocado.

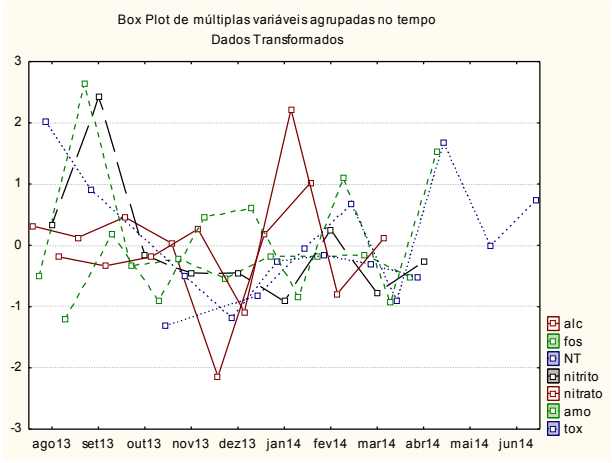
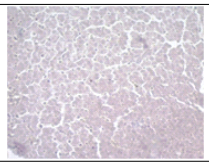
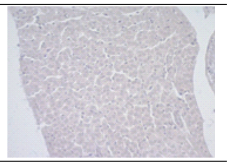
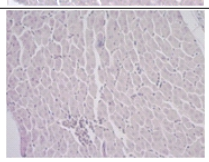
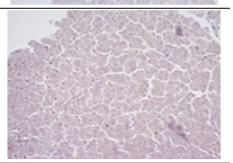


Figura 1: Boxplot de variáveis descritoras da qualidade da água e de toxicidade agrupadas no tempo. Não observa-se padrão de relação entre as mesmas.

Estudo Histológico

Não foram observadas alterações na anatomia microscópica dos fígados dos peixes estudados no **biomonitoramento passivo**. E no **biomonioramento ativo** os resultados refletem uma total inocuidade das águas da Lagoa do Peri (Tabela 3). Essa inocuidade pode ser por dois motivos: (1) as cianotoxinas não estão presentes, não estão biodisponíveis, ou estão em concentrações muito baixas (2) os peixes provenientes dos dois experimentos possuem arsenal bioquímico suficiente para detoxificar a cianotoxina antes que sejam apresentadas alterações hepatotissulares características de toxicidade hepática, características de contaminação por cianotoxinas.

Tabela 3 – Fotomicrografias de seções histológicas de fígados de peixes *Paracheirodon sp* provenientes do biomonitoramento ativo. Coloração Van Gienson + Alcian Blue. Aumento 400X.

Mês	Biomonitoramento ativo	
	Controle	Água Bruta Lagoa do Peri
Novembro (primavera)		
Março (verão)		

ISSN 2357-836X

Futuros estudos de avaliação imunoistoquímica usando-se anticorpos anti-cianotoxina e anti GSTs para averiguação da presença da toxina e da enzima no fígado poderão ser realizados.

CONCLUSÕES

A água da Lagoa do Peri provoca efeito deletério ao zooplâncton de grande porte, o que pode ser atribuído ao efeito mecânico do formato alongado dos tricomas de *C. racborskii*, dominante na comunidade fitoplanctônica da lagoa; ou pelo efeito de cianotoxinas potencialmente produzidas por esta cianobactéria. A ictiofauna estudada não apresenta efeitos agudos ou crônicos à água da lagoa em estudo. Não se observaram padrões evidentes de relação entre toxicidade aguda e as variáveis físico-químicas investigadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao IFSC pelo financiamento da pesquisa; à Bióloga Claudi'Ariane Gomes da Fonseca pelo apoio laboratorial; à acadêmica do Curso Técnico de Meio Ambiente Calini Moser Zacchi; à equipe do Laboratório de Ecologia de Águas Continentais da UFSC; e, ao Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce.

REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2009. 23 p.

APHA - American Public Health Association; AWWA - American Water Works Association; WEF - Water Environamental Federation. **Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater.** 19ª ed. Washington. 1995.

BURCH, M.D., 2008. Effective doses, guidelines & regulations. In: Hudnell, H.K. (Ed.), **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs, Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol. 619, pp. 831E853.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limologia.** 3ª ed. Inteciência. 2011. 790p.

FERRÃO-FILHO, A.; SOARES, M. C. S.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F.O. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 72 (2009) 479–489.

FERRÃO-FILHO, A.; SOARES, M. C. S.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F.O.A rapid bioassay for detecting saxitoxins using a *Daphnia* acute toxicity test. **Environmental Pollution** 158 (2010) 2084 a 2093.

GRELLMANN, C. (2006). **Aspectos da morfologia e ecologia de *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszinska) Seenayya ET Subba Raju e produção de cianotoxinas na Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Brasil**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. (M.Sc. Thesis).

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearmann-Karber metod for calculation of EC50 and LC50 values in bioassais. **Burlington research inc. fci. tecnol**. n. 11, v. 7, p. 114-119**.** 1977.

HAWKINS, P.R.; LAMPBERT, W. The effect of Daphnia body size on filtering rate inhibition in the presence of a filamentous cyanobacterium. **Limnol. Oceanogr,**. 34(6), 1989, 1084-1089.

HENNEMANN MC, PETRUCIO MM. 2011. Spatial and temporal dynamic of trophic relevant parameters in a subtropical coastal lagoon in Brazil. **Environ Monit Assess doi**: 10.1007/s10661-010-1833-5.

HONG, Y.; BURFORD, M. A.; RALPH, P. J.; UDY, J. W.; DOBLIN, M. A. The cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii is facilitated by copepod selective grazing. **Harmful Algae** 29 (2013) 14–21.

KOMÁRKOVÁ J, LAUDARES-SILVA R, SENNA PAC (1999) Extreme morphology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) in the Lagoa do Peri, a freshwater coastal lagoon, Santa Catarina, **Brazil. Algological Studies** 94:207-222.

LEONARD, J., PEARL, H.W., 2005. Zooplankton community structure, microzooplankton grazing impact, and seston energy content in the St Johns river, Florida as influenced by the toxic cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii. **Hydrobiologia** 537, 89–97.

LIN, S.; STEINCHEIN, D. J. A method for determining the stability of lysosomal membranes in the digestive cells of Mytilus edulis. **Marine Ecology Progress Series,** 115:237-241, 1994

MYERS, M. S.; FOURNE, J. W.; Histopathological biomarkers as integrators of anthropogenic an environmental stressors. *In* S. M. Adams, editor. **Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress.** American Fisheries Society. Bethesda, Mariland. p.221-288, 2002.

NOGUEIRA, I.C.G., SAKER, M.L., Pflugmacher, S., Wiegand, C., Vasconcelos, V.M., 2004. Toxicity of the cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii to Daphnia magna. **Environ. Toxicol.** 19, 453e459.

SEGNER, H. & BRAUNBECK, T. Hepatocellular adaptation to extreme nutritional conditions in ide *Leuciscus idus melanotus* L. (Cyprinidae). A morfofunctional analysis. **Fish Physiology and Biochemistry**. 5:79-97, 1988

STATSOFT. **Statistica 8.0**. Software package. 2007.

TONETTA, D.; PETRUCIO, M.M.; LAUDARES-SILVA, R. Temporal variation in phytoplankton community in a freshwater coastal lake of southern Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, vol. 25, no.1, pp 99-110, 2013.

WEBER, C. I. **Method for measuring the acute toxicity of efluents and receiving water to freshwater and marine organisms.** Cincinnati, Ohio: EPA, 1993. 253p.

 ISSN 2357-836X