

I-289 - MONITORAMENTO E CIANOBACTÉRIAS E SUAS TOXINAS NO AÇUDE ACARAPE DO MEIO – REDENÇÃO – CE: UM ESTUDO DE CASO

Cecília Leite Costa⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Especialista em Engenharia Ambiental e Saneamento Básico pela Faculdade Integrada do Ceará (FIC). Bióloga da CAGECE.

Stella Maris de Castro Carvalho

Bióloga pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestranda em Recursos Hídricos na UFC. Bióloga da CAGECE.

Milena de Oliveira Pereira

Bióloga pela Universidade Federal de Roraima (UFRR). Especialização em Educação Ambiental pela Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA). Bióloga da CAGECE.

Maria Cleide Andrade Ximenes

Bióloga pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Bióloga da CAGECE.

Endereço⁽¹⁾: Rua João Cordeiro, 2245 – Joaquim Távora – Fortaleza – Ceará – CEP: 60000-000 – Brasil – Tel: + 55 (85) 3101-4766 – Fax: +55 (85) 3101-4767 – e-mail: cecilialcosta@hotmail.com.

RESUMO

Cianobactérias são organismos procariontes fotossintetizantes encontrados naturalmente em mananciais superficiais. O aumento da concentração de nutrientes nesse tipo de ambiente, principalmente nitrogênio e fósforo, leva a um estado de eutrofização, que pode ter como consequência a ocorrência de florações de cianobactérias. Tais florações devem receber atenção especial, pois esses organismos são capazes de produzir toxinas nocivas à saúde do homem e de animais. No Estado do Ceará o monitoramento de cianobactérias é realizado pela Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE). Entre os mananciais monitorados pela Companhia, o açude Acarape do Meio merece destaque, pois abastece nove localidades e apresenta, em seu histórico, presença constante de cianobactérias potencialmente produtoras de cianotoxinas. O objetivo deste trabalho foi verificar se a floração presente no manancial é composta por espécies produtoras de cianotoxinas. As cianobactérias presentes na zona de captação deste açude foram monitoradas semanalmente durante um período de 12 meses, iniciado em fevereiro de 2009, e sua presença correlacionada a fatores físico-químicos. A produção de cianotoxinas foi investigada por meio de bioensaios de toxicidade em camundongos, considerando as variações ocorridas nas estações chuvosa e seca, além da detecção de microcistinas por meio do teste ELISA. Os resultados mostraram a ocorrência de florações de cianobactérias potencialmente produtoras de cianotoxinas, com predomínio de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Os testes de toxicidade evidenciaram a presença de neurotoxinas somente durante a estação seca.

PALAVRAS-CHAVE: Cianobactérias, Cianotoxinas, *C. raciborskii*, Eutrofização, Açude Acarape do Meio.

INTRODUÇÃO

A água é elemento essencial para o desenvolvimento e manutenção da vida, sendo fornecida hoje a uma considerável parcela da população mundial graças ao armazenamento e distribuição planejada.

O processo de urbanização ocasionou uma intensificação no lançamento de contaminantes nos corpos hídricos, acarretando na redução da qualidade da água presente nesses ecossistemas. O aumento dos nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, em corpos d'água é conhecido como a principal causa de eutrofização.

A eutrofização pode ocasionar o massivo crescimento de cianobactérias, fenômeno conhecido por florações. As cianobactérias são organismos procariontes que realizam fotossíntese e estão presentes naturalmente nos ambientes aquáticos, mas suas florações podem causar gosto e odor desagradáveis na água, além de alterar o equilíbrio ecológico do ecossistema aquático. O maior dano causado pelas cianobactérias, no entanto, é a produção de metabólitos secundários tóxicos, as cianotoxinas. Essas toxinas, quando liberadas na água, podem persistir por várias semanas e meses, sendo nocivas à saúde do homem e de animais, podendo levar estes organismos à morte.

O Nordeste brasileiro apresenta condições propícias ao desenvolvimento de florações de cianobactérias, como clima quente, pouca ou nenhuma renovação de água dos corpos hídricos e pH alcalino. Esses fatores contribuem para a ocorrência comum de florações de cianobactérias na Região.

O açude Acarape do Meio, localizado no município de Redenção, Ceará, é um dos principais reservatórios de abastecimento público da Região Metropolitana de Fortaleza (RMF). Sua distância de Fortaleza é de aproximadamente 75km, é formado pelo barramento do rio Pacoti e sua bacia hidrográfica abrange uma área de 210,01km². A capacidade de reservação do açude é de 31,5hm³ e sua bacia hidráulica possui 2,29km². Abastece as cidades de Pacatuba, Guaiúba, Maranguape, Redenção, Acarape, Barreira e os distritos de Água Verde, Pavuna e Antônio Diogo. É um açude de usos múltiplos, contemplando a irrigação, dessedentação de animais e atende ao complexo industrial do município de Maracanaú (COGERH, 2007).

Por ser um manancial utilizado para abastecimento público, apresentar usos diversificados que resultam em impactos ambientais negativos ao corpo hídrico e possuir histórico de uma constante floração de cianobactérias potencialmente produtoras de cianotoxinas, o açude é um relevante objeto de estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no período de fevereiro de 2009 a janeiro de 2010, considerando as estações chuvosa (fevereiro a julho) e seca (agosto a janeiro).

As amostras foram coletadas diretamente no corpo d'água, na zona de captação do açude Acarape do Meio, utilizando amostrador de profundidade. Antes das coletas foi medida a transparência da água através do disco de Secchi e determinada a profundidade ideal de coleta, correspondente à metade da zona fótica.

As análises de identificação e quantificação de fitoplâncton foram realizadas semanalmente. Para a identificação foram utilizadas amostras frescas, acondicionadas em recipiente térmico e transportadas ao laboratório no prazo máximo de 24 horas. Amostras destinadas a quantificação do fitoplâncton foram fixadas com lugol, imediatamente após a coleta, na proporção de 5mL de lugol por litro de amostra.

A identificação das cianobactérias presentes foi realizada em microscópio biológico Olympus modelo CBA, utilizando lâmina e lamínula, com o auxílio de bibliografia especializada, sendo baseada principalmente em Desikachary (1959), Bourrelly (1968, 1972, 1985), Germain (1981), Komárek e Foot (1983), Streble e Krauter (1987), Komárek e Anagnostidis (1989, 1999), Sant'anna et al. (2006) e Bicudo e Menezes (2006).

As análises quantitativas foram realizadas em câmara de Sedgewick-Rafter, em microscópio biológico invertido calibrado Olympus modelo CKX41, segundo APHA (2005) e CETESB (1978). As contagens foram realizadas por faixas ou campos até atingir 100 organismos da espécie dominante, segundo a distribuição de Poisson (APHA, 2005).

A presença de toxinas foi averiguada através de bioensaios de toxicidade e testes de imunoensaios ligado à enzima (ELISA).

As análises de microcistinas foram realizadas bimestralmente, perfazendo um total de seis análises. A determinação da cianotoxina foi realizada pelo método ELISA, utilizando kit de microplacas da marca Beacon®.

Foram realizados dois bioensaios de toxicidade, um na estação chuvosa (maio/09) e outro na estação seca (novembro/09). Em cada análise foram utilizados dez camundongos machos Swiss cujos pesos variaram entre 17,5 e 22 gramas, sendo um controle e nove testes. Após a inoculação, os animais foram acompanhados por sete dias, observando-se sintomas que indicassem a presença de cianotoxinas hepatotóxicas ou neurotóxicas. Nos casos em que houve morte, os animais foram dissecados para verificação das características morfológicas do fígado e pesagem do mesmo.

As análises dos nutrientes (nitrato, nitrito, amônia total e fósforo total) foram realizadas bimestralmente. As análises de pH, cor aparente e turbidez foram realizadas semanalmente, no momento da coleta, no laboratório

da Estação de Tratamento de Água (ETA) de Redenção. Todas as análises obedeceram metodologias disponíveis em APHA (2005).

AVALIAÇÃO DO FITOPLÂNTON

Durante o estudo foram identificados 40 táxons distribuídos em 8 classes, sendo Chlorophyceae e Cyanophyceae as mais representativas que apresentaram 16 e 14 táxons, respectivamente.

Os 14 táxons de cianobactérias observados restringiram-se a cinco famílias: Chroococcaceae, Merismopediaceae, Nostocaceae, Phormidiaceae e Pseudanabaenaceae, com predomínio das formas filamentosas. A lista completa das cianobactérias identificadas na captação do açude Acarape do Meio encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1: Listagem das cianobactérias identificadas na captação do açude Acarape do Meio.

Famílias	Cianobactérias identificadas
Chroococcaceae	Chroococcus sp.
Merismopediaceae	Merismopedia sp. Aphanocapsa sp. Coelomoron sp.
Nostocaceae	Anabaena sp. Anabaena spiroides Aphanizomenon sp. Cylindrospermopsis catemaco Cylindrospermopsis philippinensis Cylindrospermopsis raciborskii
Phormidaceae	Planktotrix agardhii
Pseudanabaenaceae	Geitlerinema sp. Planktolynbya sp. Pseudanabaena sp.

Os demais grupos fitoplanctônicos identificados nas análises pertencem às classes Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae, Zygnematophyceae, Euglenophyceae e Chlamydomonadaceae.

As análises quantitativas das amostras de água bruta do açude Acarape do Meio atestaram a presença dominante das cianobactérias em relação às demais classes fitoplanctônicas, estando acima de 90% do total de células em todas as análises realizadas.

A densidade de cianobactérias foi bastante elevada se comparada à densidade dos demais grupos fitoplanctônicos, tendo sido registrada uma densidade média máxima desses organismos de 420.655,3 células/mL, enquanto a dos demais grupos atingiu máximo de 2.834,2 células/mL, conforme consta na Tabela 2.

Tabela 2: Comparação entre as quantidades de cianobactérias e os demais grupos fitoplanctônicos, em células/mL, ao longo dos 12 meses de estudo.

Período da coleta	Média mensal de organismos (células/mL)	
	Cianobactérias	Demais grupos
Fevereiro/2009	413.104,6	1.652,9
Março/2009	420.655,3	2.343,5
Abril/2009	314.763,3	2.834,2
Maió/2009	126.794,1	595,3
Junho/2009	91.368,2	1.491,0
Julho/2009	135.395,2	1.749,2
Agosto/2009	161.624,6	2.144,6
Setembro/2009	298.863,5	1.579,4
Outubro/2009	269.849,7	1.090,3
Novembro/2009	252.516,3	1.313,6
Dezembro/2009	247.382,1	1.961,6
Janeiro/2010	346.362,8	2.462,3

As cianobactérias predominantes nas amostras analisadas foram *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Pseudanabaena sp.* Entre as espécies de cianobactérias identificadas *Cylindrospermopsis raciborskii* esteve presente em todas as amostras analisadas e, na maioria delas, foi a espécie predominante.

O sucesso ecológico de *Cylindrospermopsis raciborskii* é devido em grande parte pela capacidade de migrar pela coluna d'água, tolerância a baixa luminosidade, habilidade de estocar fósforo, capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico e resistência à herbivoria pelo zooplâncton (PADISÁK, 1997 citado por CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006).

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Dentre os parâmetros físico-químicos analisados, o pH permaneceu na faixa de neutro a alcalino durante toda a pesquisa, valores estes favoráveis ao desenvolvimento das cianobactérias. A cor aparente e turbidez compreenderam valores compatíveis com o previsto em legislação, entretanto a existência de picos de cor nos meses de maio, junho e julho/09 devem-se a presença de matéria amorfa no manancial e não ao aumento na quantidade de organismos.

A cor e a turbidez interferem na penetração da luz diminuindo a intensidade luminosa e consequentemente dificultando o desenvolvimento do fitoplâncton em geral. Apesar disso, alguns gêneros de cianobactérias como *Oscillatoria*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis* têm habilidades para se adaptar à baixa intensidade luminosa e podem apresentar alta taxa de crescimento nessas condições, conferindo vantagens competitivas em ambientes túrbidos (FERNANDES *et al.*, 2009).

O parâmetro fósforo total esteve dentro dos valores permitidos pela legislação (CONAMA 357/05) apenas nos meses de março/2009 e janeiro/2010, sendo que nos outros meses analisados a concentração de fósforo extrapolou os limites previstos em lei (0,030 mg/L). Os compostos nitrogenados apresentaram valores abaixo do previsto em lei e não foram detectados no mês de maio (Gráfico 1).

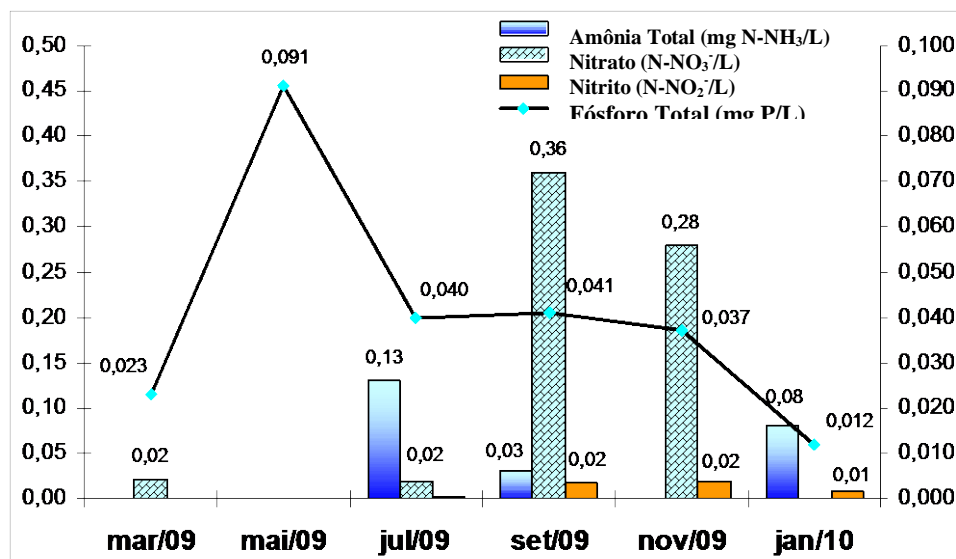


Gráfico 1: Variação média da amônia total, nitrito, nitrato e fósforo total no açude Acarape do Meio, Redenção (COSTA, 2010).

De acordo com o estudo realizado por Pacheco *et al* (2010) sobre a influência do nitrogênio e fósforo na dinâmica de cianobactérias do açude em questão, ele propõe o fósforo como provável nutriente limitante em virtude das razões N:P encontrados. O autor frisou que, por possuírem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, este nutriente não pode ser considerado um fator limitante no crescimento das cianobactérias no açude Acarape do Meio.

AVALIAÇÃO DAS TOXINAS

As análises de microcistinas apresentaram valores abaixo do limite de detecção do kit utilizado, que é 0,1 µL. A partir deste resultado podemos considerar que estas cianotoxinas não poderiam ocasionar a morte das cobaias testadas pois, além de se encontrar em baixas concentrações, os sintomas desenvolvidos pelos animais foram incompatíveis com intoxicação por hepatotoxina.

No bioensaio de toxicidade realizado com a amostra coletada na estação chuvosa, as doses aplicadas variaram de 1.007,0 mg/kg a 220,8 mg/kg de peso corpóreo e não resultaram na morte das cobaias, que apresentaram apenas sintomas de fadiga, provavelmente causado pelo estresse da inoculação. Os detalhes da análise foram apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Bioensaio de toxicidade realizado na estação chuvosa, coletado em maio de 2009.

Animais	Peso (mg)	Dose aplicada (mg/kg)	Tempo de Morte (min)	Sintomatologia
I	21,6	1007	-	-
II	22,6	965	-	-
III	21,2	822,6	-	-
IV	21,3	816,8	-	-
V	20,9	626,1	-	-
VI	21,0	622,5	-	-
VII	20,1	432,9	-	-
VIII	20,4	427,6	-	-
IX	19,7	220,8	-	-
Controle	20,5	0	-	-

Entretanto, o ensaio realizado com amostra da estação seca, com doses aplicadas variando entre 785,0 mg/kg a 206,2 mg/kg de peso corpóreo, resultou na morte de sete animais, dos quais quatro morreram após o período

de 5 a 6 minutos, um após 9 minutos da inoculação e dois após o período de 23 minutos e 40 minutos da inoculação. Apenas sobreviveram dois camundongos cujas dosagens recebidas (251,3 e 206,2 mg/kg) foram as menores utilizadas durante o ensaio, disponíveis na Tabela 4.

Tabela 4: Bioensaio de toxicidade realizado na estação seca, coletado em novembro de 2009.

Animais	Peso (mg)	Dose aplicada (mg/kg)	Tempo de Morte (min)	Sintomatologia
I	17,5	785,0	5	Neurointoxicação
II	18,0	763,8	5	Neurointoxicação
III	18,0	687,5	5	Neurointoxicação
IV	20,4	606,6	6	Neurointoxicação
V	19,0	434,2	9	Neurointoxicação
VI	18,0	305,5	23	Neurointoxicação
VII	19,5	282,0	40	Neurointoxicação
VIII	18,6	251,3	-	-
IX	20,0	206,2	-	-
Controle	19,8	0	-	-

De acordo com o observado, a dose letal mínima encontra-se entre 251,3 e 282,0 mg/kg. Caso a floração de *C. raciborskii* instalada no açude em novembro de 2009 estivesse produzindo a toxina letal aos animais teste, tal floração poderia ser classificada como de média toxicidade, conforme os valores estabelecidos Lawton *et al* (1994) citado por Calijuri, Alves e Santos (2006).

Os sintomas desenvolvidos pelos animais foram prostração, locomoção debilitada, exagerada respiração abdominal, extremidades azuladas (cianose), falta de ar e convulsão seguida de morte. A sintomatologia, exceto pela prostração, foi observada dois minutos antes dos animais apresentarem convulsão seguida de morte.

Após a morte, os animais foram dissecados para avaliação das características hepáticas, mas nenhuma alteração morfológica foi constatada. Os fígados foram pesados e mantiveram-se na média de peso normal que é de cerca de 5% do peso corpóreo. Também foi observada ausência de salivação.

Os sintomas observados evidenciam que se trata de uma neurointoxicação. Apesar dos sintomas apresentados pelos camundongos coincidirem com a sintomatologia descrita na literatura como sendo da neurotoxina anatoxina-a, a predominância dos organismos é da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, reconhecida por produzir neurotoxinas do tipo saxitoxinas e a hepatotoxina cilindrospermopsina. Não há registro na literatura de casos da produção de anatoxina-a por cianobactérias desta espécie.

CONCLUSÕES

A partir dos dados encontrados foi possível verificar a presença de floração de cianobactérias na zona de captação do açude Acarape do Meio. Entre as cianobactérias presentes durante o período de estudo foi observada a predominância da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*.

As condições ambientais obtidas confirmam o que já havia sido evidenciado na literatura para o bom desenvolvimento das cianobactérias, como a elevada intensidade luminosa, pH neutro alcalino, ausência de turbulência, dentre outras.

A análise de microcistinas não evidenciou a presença destas cianotoxinas em concentrações relevantes durante todo o período de estudo.

Os sintomas observados no bioensaio de toxicidade realizado em novembro indicaram a presença de uma potente neurotoxina capaz de causar a morte de cobaias testadas dentro de poucos minutos. Não foi possível até o momento identificar qual a toxina presente.

Novas pesquisas deverão ser realizadas com as cianobactérias presentes no açude, afim de averiguar qual o organismo produtor e a toxina produzida, ou ainda verificar se as neurotoxinas presentes no Acarape do Meio são oriundas de outras fontes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.P.H.A. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: Apha/wef/awwa, 2005.
2. BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. (Org.). **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. 2. ed. São Carlos: Rima, 2006.
3. BOURRELY, P. **Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II: Les algues jaunes et brunes: Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées**. Paris: Éd. Boubée, 1968.
4. BOURRELY, P. **Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les algues vertes**. Paris: Éd. Boubée, 1972.
5. BOURRELY, P. **Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III: Les algues bleues et rouges. Les Euglénies, Péridiens et Cryptomonadines**. Paris: Éd. Boubée, 1985.
6. BRASIL. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), 2005.
7. CALIJURI, M. do C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. dos. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: Rima, 2006.
8. CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M. F. O.; AN, J. S.; MOLICA, R. J. R.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAW, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, U.S., jul. p. 663-668. 2001.
9. CETESB. NT 06: L5.303. **Determinação de fitoplâncton de água doce – métodos qualitativo e quantitativo**. São Paulo, 1978.
10. COGERH (2007) – COMPANHIA DE GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS. Disponível em www.cogerh.com.br. Acesso em: 15/06/07.
11. COSTA, C. L. **Avaliação e monitoramento de cianobactérias potencialmente tóxicas no açude Acarape do Meio, Redenção (Ceará, Brasil)**. 2010. 69 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2010.
12. DESIKACHARY, T.V. **Cyanophyta**. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 1959.
13. FERNANDES, V. O.; CAVATI, B.; OLIVEIRA, L. B.; SOUZA, B. D'A. Ecologia de cianobactérias: fatores promotores e consequências das florações. **Oecologia Brasiliensis**. v. 13, n. 2, p. 247-258, 2009.
14. GERMAIN, H. **Flore des diatomées: eaux douces et saumâtres**. Paris: Societe Nouvelle Des Editions Boubée, 1981.
15. KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota. 1. Teil: Chroococcales. In: Ettl, H., Gärtner, G. and Heynig, H. and Mollenhauer, D. (eds). **Süßwasser von Mitteleuropa**. Stuttgart: Gustav Fischer, 1999.
16. KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Bridel G. Gastner, L. Krienitz and M. Scharger (Hrs.) **Süßwasser von Mitteleuropa**. Elsevier, 2005.
17. KOMÁREK, J.; FOOT, B. Das Phytoplankton des Süßwasser Systematik und Biologie. 7. Teil: Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. In: Elster, H. J. and Ohle, W. (Eds): **Die Binnengewässer**. Stuttgart. 1983.
18. PACHECO, C. H. A.; SALES, S. K. M.; GOMES, R. B.; PAULINO, W. D.; PEREIRA, M. O.; CEBALLOS, S. O. **Influência dos teores de nitrogênio e fósforo na ocorrência e dinâmica de cianobactérias no reservatório Acarape do Meio, região metropolitana de Fortaleza – CE**. X Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste, Fortaleza- CE, 2010.
19. SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. de P.; AGUIJARO, L. F.; CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência, 2006.