

TOXICIDADE AGUDA DO NITRITO NA LARVICULTURA DO CAMARÃO-ROSA *PENAEUS PAULENSIS* PÉREZ-FARFANTE, 1967.

Antonio OSTRENSKY*
Luis Henrique POERSCH**

INTRODUÇÃO

Uma importante tendência da aquacultura atual diz respeito à intensificação do controle das variáveis ambientais. Em muitas partes do mundo a produção de peixes e de outros organismos marinhos está diretamente relacionada às condições climáticas e à disponibilidade de água abundante e de boa qualidade (Poxton & Allouse, 1982). Nestas circunstâncias, torna-se cada vez mais freqüente o emprego de sistemas fechados, com a reutilização da água dos tanques de cultivo (Wickins, 1976; Alderson, 1979). Uma das etapas mais importantes neste processo é a remoção dos compostos nitrogenados do meio (Collins *et al.*, 1975).

O nitrito é um composto intermediário no processo de nitrificação, no qual bactérias *Nitrosomonas* convertem amônia em nitrito e *Nitrobacter* oxidam nitrito a nitrato (Russo, 1980). Se parte deste processo for, por qualquer circunstância, afetada, pode haver um acúmulo de nitrito no meio, interferindo nas taxas de crescimento e podendo causar significativa mortalidade dos organismos cultivados (Russo *et al.*, 1981; Lewis *et al.*, 1986; Tomasso, 1986; Chen & Chin, 1988).

O presente trabalho parte da simulação dos procedimentos e metodologias utilizadas pelo Laboratório de Carcinocultura da Universidade do Rio Grande, RS, Brasil, em sua rotina de realização de larviculturas de camarões peneídeos, e analisa a toxicidade do nitrito para os ovos e estágios larvais do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. Tal análise objetiva a expansão dos conhecimentos sobre as inter-relações organismo/meio neste complexo sistema manipulado e direcionado à produção de pós-

* Centro de Estudos do Mar (CEM). Av. Beira Mar S/No. Pontal do Sul, PR. CEP 83305-970. Pontal do Sul, PR.

** Departamento de Oceanografia, Universidade do Rio Grande, CP 474, CEP 96200, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

larvas de camarões e possibilita, através da determinação dos limites de tolerância da espécie ao nitrito, a otimização do manejo das larviculturas, com um conseqüente aumento de produtividade.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os ovos e larvas foram obtidos a partir de reprodutores capturados no litoral de Santa Catarina, em fevereiro de 1991. As fêmeas foram submetidas à ablação unilateral do pedúnculo ocular e mantidas em laboratório sob condições ambientais controladas.

A água utilizada nos testes foi captada na praia do Cassino, RS, e filtrada através de um filtro de areia e, posteriormente, através de um filtro cunco de 1 μ m.

Foram utilizados béqueres de 500 ml contendo soluções preparadas pela dissolução de nitrito de sódio (NaNO_2) P.A. em água do mar. Os experimentos foram realizados de duas formas, utilizando-se 5 concentrações em duplicata, ou então 10 concentrações sem duplicata, todas comparadas com um grupo controle, testado em duplicata, em que não havia qualquer fonte inorgânica de nitrito. Sempre que a mortalidade nos controles ultrapassou 10% os testes foram descartados.

As concentrações de nitrito testadas em cada estágio larval foram definidas através de testes preliminares utilizando escala geométrica com fator 10 (0,01; 0,1; 1; 10; 100 mg/l N- NO_2^-). Nos testes definitivos as concentrações foram determinadas por escala geométrica com fator 0,5 a partir dos limites quantificados nos testes preliminares. Todos os testes definitivos foram repetidos de 3 a 6 vezes, de modo que larvas obtidas de distintas matrizes fossem testadas e para que se pudesse avaliar a repetibilidade dos resultados.

O número de indivíduos em cada béquer foi 30, no caso de ovo, náuplio, zoéa e misis, e 20 no estágio de pós-larva (PL). Todas as larvas submetidas aos testes encontravam-se inicialmente no primeiro subestágio de cada estágio.

Nos testes com náuplios não foi fornecido qualquer alimento. As zoéas foram alimentadas com o fitoflagelado *Tetraselmis chuii* e as misis e PL's, com náuplios recém- eclodidos de *Artemia sp.*

Os béqueres foram mantidos em incubadora tipo D.B.O. com o fotoperíodo regulado em 12h Luz : 12h Escuro, intensidade luminosa de 1800 lux, temperatura de 25 (\pm 0.2) $^\circ\text{C}$, e aeração suave e constante. A salinidade foi ajustada para 28 ‰ em todos os testes.

Os béqueres foram diariamente monitorados em relação às variações de nitrito, sendo que o método analítico utilizado foi o de Bendschneider & Robinson (1952). Porém nunca foram registradas variações superiores a 2% em nenhuma das soluções - teste, que foram renovadas diariamente em cerca de 95%, caracterizando bioensaios em sistema semi-estático (Buikema *et al.*, 1982). Diariamente também foram monitoradas as variações de pH das soluções-teste. Os limites quantificados foram de

7,90, nos testes com misis, e 8,21, nos testes com zoéa, com um valor médio de 8,03 ao longo dos experimentos.

Os indivíduos foram considerados mortos quando não apresentavam movimentos nem respostas a estímulos mecânicos feitos com uma micropipeta. O número de organismos mortos em cada béquer, em intervalos de 24h, foi submetido ao "software" "Probit Analysis", desenvolvido pelo Pe. Jesus Santiago Moure, do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, com base em Finney (1952) e Sokal (1958), para cálculo das CL's50. Este programa estabelece a equação obtida pela regressão linear entre o logaritmo das concentrações testadas e o "probit" das mortalidades observadas, analisando ainda, através de um teste de qui-quadrado, a significância estatística dos resultados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ovos

Os testes mostraram que os ovos de *P. paulensis* apresentam alta susceptibilidade ao nitrito. Em concentrações entre 3,0 e 4,0 mg/l de $N-NO_2^-$ muitos náuplios completaram o seu desenvolvimento embrionário, mas nenhum conseguiu eclodir, permanecendo dentro do ovo até cerca de 48h, quando morreram (o período normal de desenvolvimento embrionário e eclosão é, geralmente, de 18 a 20h, em uma temperatura de 25 °C). Acima de 5,0 mg/l nenhum náuplio completou o seu desenvolvimento embrionário e entre 1,0 e 2,0 mg/l de $N-NO_2^-$ os poucos náuplios que eclodiram apresentaram deformações morfológicas, com o desaparecimento parcial ou mesmo total das cerdas dos apêndices e, principalmente, das setas furcais. Com isso os movimentos natatórios tornam-se anormais e, em casos extremos, os indivíduos perdem por completo a capacidade natatória. Observou-se a evolução dos indivíduos deformados e constatou-se que nenhum atingiu o estágio de zoéa. A CL50 calculada para um período de 24h foi de 0,94 mg/l de $N-NO_2^-$.

Utilizando-se o programa "Probit Analysis" obteve-se a seguinte equação para o surgimento de organismos deformados: $Y = 4,6515 + 2,8033X$, onde Y é o "probit" correspondente à porcentagem de indivíduos deformados e X o logaritmo da concentração de nitrito, em mg/l de $N-NO_2^-$. Tal equação permite estimar que em concentrações de 1,33 mg/l de $N-NO_2^-$ 50% dos náuplios que eclodiram sofreram deformações morfológicas e que a concentração máxima que não apresentou qualquer efeito adverso foi de 0,33 mg/l de $N-NO_2^-$.

Há uma acentuada carência de estudos sobre a ação tóxica do nitrito sobre ovos de camarões. Jayasankar & Muthu (1983) observaram, no entanto, a existência de náuplios de *P. indicus* com deformações nas setas furcais. Segundo os autores estas deformações ocorreram em larvas submetidas à concentrações entre 5 e 50 mg/l de $N-NO_2^-$.

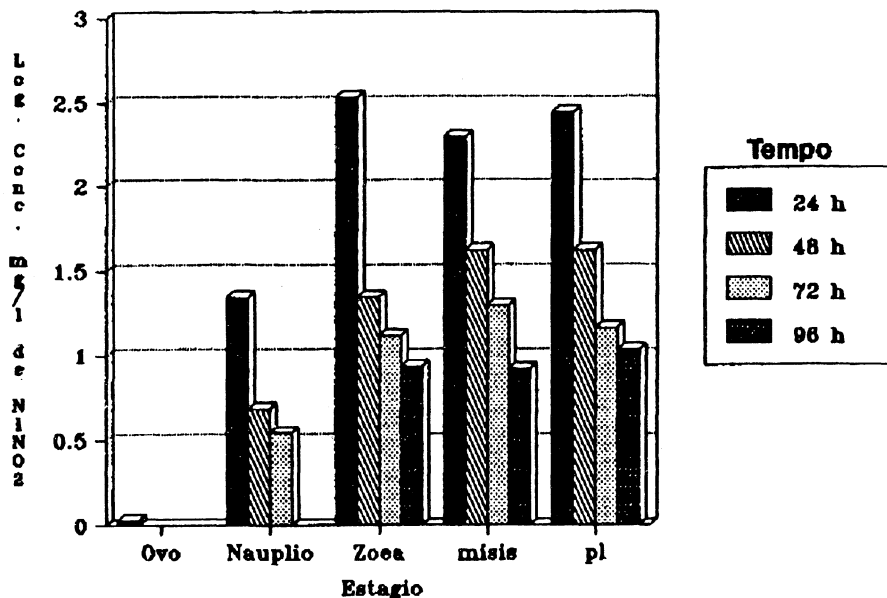


Fig. 1

Varição das concentrações letais médias (CL's 50) do nitrito para os estágios larvais do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. Resultados apresentados em termos do logaritmo das concentrações de nitrogênio na forma de nitrito (em mg/l).

Estágios larvais

Os estágios larvais de *P. paulensis* apresentaram respostas bastante peculiares à exposição ao nitrito. O fato que caracterizou este estudo foi que em 24h todos os estágios apresentaram grande resistência. A partir de 48h, entretanto, o nitrito passou a afetar de forma muito mais acentuada a sobrevivência larval, o que ficou constatado através dos valores calculados das CL's50 (tabela I). Destaca-se que houve ainda uma tendência de aumento da resistência ao nitrito ao longo do desenvolvimento larval.

No caso de náuplio as CL's50 em 24, 48 e 72h foram de, respectivamente, 21,91; 4,84 e 3,5 mg/l de $N-NO_2^-$. Da mesma forma que nos ovos, a exposição dos náuplios à soluções contendo nitrito também provocou deformações das cerdas dos apêndices e setas furcais.

A partir de Zoéa não foram observadas alterações morfológicas em função do nitrito, apenas a perda parcial ou mesmo total da mobilidade e posterior mortalidade dos indivíduos submetidos às concentrações mais elevadas (acima de 2mg/l de $N-NO_2^-$). As CL's50 também foram superiores às verificadas para náuplios. A CL50 24h calculada para zoéa, 340,57 mg/l, foi a mais elevada registrada ao longo de toda a larvicultura, ficando acima das quantificadas para misis e PL's, que foram de, respectivamente, 197,75 e 277,8 mg/l de $N-NO_2^-$ (Fig. 1).

Chen & Chin (1988) encontraram valores para as CL's50 24h, iguais a 5,0; 13,2; 20,65 e 61,87 mg/l de $N-NO_2^-$ para os seguintes subestágios de *P. monodom*: náuplio (N_{VI}), zoéa (Z_I), misis (M_I) e PL (PL_{VI}). As CL's50 48h, para misis (M_I) e PL (PL_{VI}) foram calculadas em 8,3 e 33,17 mg/l de $N-NO_2^-$ e que a CL50, em 72 e 96h, para PL (PL_{VI}), foram de 20,53 e 13,55 mg/l de $N-NO_2^-$.

Catedral *et al.* (1977) concluíram que a resistência de *P. monodom* ao nitrito varia ao longo do desenvolvimento larval. O estágio de misis apresentou grande resistência até concentrações de 10 mg/l, sendo que em concentração de 15 mg/l houve uma mortalidade de 40%. Já para zoéa a tolerância máxima foi de 3,0 mg/l, sendo que em concentração de 5,0 mg/l a mortalidade foi elevada. O grande problema deste trabalho é que os autores não fizeram referência à unidade utilizada (mg/l de $N-NO_2^-$, mg/l de NO_2 ou ainda mg/l de $NaNO_2$).

As CL's50 24h do nitrito para náuplio, zoéa e misis de *P. indicus* foram calculadas em 10,23; 20,43 e 33,87 mg/l de $N-NO_2^-$ (Jaysankar & Muthu, 1983).

Chen & Tu (1990) concluíram que há uma tendência de aumento da resistência de *P. japonicus* ao nitrito, embora o estágio de misis tenha se mostrado o mais sensível dentre todos os estágios larvais (CL50 48h de 24,08 mg/l $N-NO_2^-$).

Chen & Nan (1991), trabalhando com *Metapenaeus ensis*, encontraram valores de CL50 24h entre 16,05 mg/l (para N_2) e 70,06 mg/l de $N-NO_2^-$ (para PLI).

O presente trabalho indica que *P. paulensis* é, em média, mais resistente ao nitrito que as outras espécies estudadas. As CL's50 aqui determinadas aproximam-se daquelas encontradas por Armstrong (1976) para o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (CL50 24 e 96h de, respectivamente, 130 e 8,6 mg/l de $N-NO_2^-$), que tem uma já comprovada resistência à deterioração da qualidade da água em condições de cultivo.

"Safe Level"

Os testes aqui realizados são importantes para que se possa estabelecer níveis máximos suportáveis pela espécie durante seus primeiros estágios vitais. Desta forma, um controle rígido da qualidade de água, com renovações parciais ou total da água dos tanques de cultivo, utilização correta de filtros biológicos ou outras formas de manutenção da homeostase, tendem a diminuir os níveis de nitrito, garantindo uma maior sobrevivência e maior qualidade das larvas produzidas.

Sprague (1971) sugeriu o estabelecimento de um nível de segurança ("safe level") que, se respeitado, tenderia a diminuir significativamente a perda de organismos cultivados em função de um determinado tóxico. O autor sugere que o limite máximo recomendável poderia ser estimado pela multiplicação do valor da CL50 48h por um fator de aplicação (geralmente 0,1 ou 0,01).

Jaysankar & Muthu (1983) calcularam um nível de segurança de 0,33 mg para *P. indicus*. Os autores afirmaram que as CE's50 (concentrações efetivas médias, ou seja, concentrações que provocam efeitos outros que não a morte dos indivíduos) podem fornecer uma maior segurança que a CL50 quando da aplicação prática deste nível. Utilizando a CE50 como estimador (no caso, concentrações que inibiam a muda

para o estágio seguinte) os autores sugeriram que o limite máximo seria de 0,18 mg/l de $N-NO_2^-$. O limite recomendado por Chen & Chin (1988), para larvas de *P. monodom*, foi de 0,11 mg/l de $N-NO_2^-$. As concentrações máximas permisíveis para larviculturas de *P. japonicus* (Chen & Tu, 1990) e para *Metapenaeus ensis* (Chen & Nan, 1991) foram estimadas em, respectivamente, 1,34 e 0,71 mg/l de $N-NO_2^-$.

Para efeito de comparação com a metodologia utilizada por outros autores da área de carcinocultura, o nível de segurança do nitrito para *P. paulensis* foi estimado a partir da multiplicação do fator de aplicação (0,1) pelo valor obtido para a CL50 48h no estágio larval mais susceptível ao tóxico (náuplio), o que origina um valor limite de 0,484 mg/l de $N-NO_2^-$ (0,1 X 4,84).

Como neste trabalho foi desenvolvida uma análise em um ponto até então não explorado, a toxicidade de nitrito para os ovos de camarão, um nível mais sensível foi definido a partir do produto do fator de aplicação pela CL50 calculada para os ovos. A concentração máxima recomendada para tanques de larvicultura de *P. paulensis* foi então estimada em 0,094 mg/l de $N-NO_2^-$ (0,1 X 0,94).

ABSTRACT

Acute toxicity of nitrite on larval rearing pink shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967.

The acute toxicity of nitrite on eggs and larval stages of pink shrimp *Penaeus paulensis* was investigated using semistatic bioassays systems. The eggs are highly susceptible to nitrite, besides decreasing the hatching rate nitrite induced serious morphological deformities in hatched nauplii. The 24-h LC50 on eggs, nauplii, zoea, mysis, and post-larvae were, respectively, 0.94; 21.91; 340.57; 197.75; and 277.80 mg/l NO_2^- -N. There was an increase in the toxic action of nitrite on larvae after 24 hours. The 96-h LC50 were 8.6, 8.21, and 10.71 mg/l NO_2^- -N for, respectively, zoea, mysis, and post-larvae. A "safe level" of nitrite was estimated at 0.094 mg/l NO_2^- -N, on the basis of 24-h LC50 for eggs. Such studies on larval prawns are relevant to water management practices in hatcheries producing prawn seed for aquaculture purpose.

Key words: Toxicity, nitrite, shrimp, *Penaeus paulensis*, larval rearing

RESUMO

Através de bioensaios em sistema semi-estático, analisou-se a toxicidade aguda do nitrito para ovos e estágios larvais de *Penaeus paulensis*. Os ovos mostraram-se bastante susceptíveis ao nitrito, além de diminuir a taxa de eclosão o nitrito causou uma série de deformações morfológicas nos náuplios eclodidos. As CL's50 24h para ovos, náuplios, zoéas, misis e pós-larvas foram de, respectivamente, 0,94; 21,91; 340,57; 197,75 e 277,80 mg/l de $N-NO_2^-$. Houve um aumento acentuado da ação tóxica do nitrito sobre as larvas após 24h. Em 96h, as CL's50 passaram para 8,6; 8,21 e 10,71 mg/l de $N-NO_2^-$ para, pela ordem, zoéa, misis e pós-larva. O nível de segurança ("safe level") recomendado para que o nitrito não interfira na larvicultura de *P. paulensis* foi estimado em 0,094 mg/l de $N-NO_2^-$.

Palavras-chave: Toxicidade, nitrito, camarão, *Penaeus paulensis*, larvicultura

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDERSON, R. 1979. The effect of ammonia on the growth of juvenile dover sole, *Solea solea* (L.) and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquaculture* 17: 291-309.
- ARMSTRONG, D.A.; STEPHENSON, M.J. & KNIGHT, A.W. 1976. Acute toxicity of nitrite to larvae of giant Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 9: 39-46.
- BENDSCHNEIDER, K. & ROBINSON, R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water *J. Mar. Res.*, 11: 87-96.
- BUIKEMA, A.L.; NIEDERLEHNER, B.R. & CAIRNS Jr, J. 1982. Biological monitoring. Part IV-Toxicity testing. *Water Res.* 16: 239-262.
- CATEDRAL, F.F.; GEROCI, D.D.; QUIBYEN, A.T. & CASLMIN, C. M. 1977. Effect of ammonia, nitrite and temperature on *Penaeus monodom* larvae. Quarterly Research Report. Third Quarter. *Seafdec* 1(3): 9-12. J.L.Maclean, L.B. Dizon and L.V. Hosillos (Eds.). Manila, Philippines.
- CHEN, J.C. & CHIN, T.S. 1988. Acute toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodom*, larvae. *Aquaculture* 69: 253-262.
- _____. & TU, C.C. 1990. Acute toxicity of nitrite to larval *Penaeus japonicus*. *J. Fish. Soc. Taiwan* 17(4): 277-288.
- _____. & NAN, F.H. 1991. Lethal effect of nitrite on *Metapenaeus ensis* larvae. *J. World Aquacult. Soc.* 22(1): 51-56.
- COLLINS, T., GRATZEK, J.B.; SHOTTS Jr., E.B.; DAWE, D.L.; CAMPBELL, L.M. & SENN, D.R. 1975. Nitrification in an aquatic recirculating system. *J. Fish. Res. Board Can.* 32(11): 2025-2031.
- FINNEY, D.J., 1952. *A statistical Treatment of the Sigmoid response curve*. 2 ed. Cambridge at University Press, U.S.A. 318p.
- JAYASANKAR, P. & MUTHU, M.S. 1983. Toxicity of nitrite to the larvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Ind. J. Fish.* 30(2): 231-240.
- LEWIS, W.M.J. & MORRIS, D.P. 1986. Toxicity of fish: a review. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115(2): 183-195.
- POXTON, M.G. & ALLOUSE, S.B. 1982. Water quality criteria for marine fisheries. *Aquacultural Engeng.* 1: 153-191.
- RUSSO, R.C., 1980. Recent advances in the study of nitrite toxicity to fishes. EPA Ecol. Res. Ser. EPA-600/9-80-034, U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN.
- _____.; THURSTON, R.V. & EMERSON, K. 1981. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout *Salmo gairdneri*: effects of pH, nitrite species, and anion species. *Canadian J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 383-393
- SOKAL, R.R. 1958. Probit analysis on a digital computer. *J. Econ. Entomol* 51(5): 738-739.
- SPRAGUE, J.B. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish - III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Res.* 5: 245-266.
- TOMASSO, J.R., 1986. Comparative toxicity of nitrite to freshwater fishes. *Aquat. Toxicol.* 8:129-137.
- WICKINS, J.F., 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture* 9: 19-37.

Tabela 1. Toxicidade aguda do nitrito para ovos e larvas de *Penaeus paulensis* (em mg/l de N-NO₂). Os limites de 95% de confiança estão representados entre parênteses.

Tempo	24hs	48hs	72hs	96hs
Estágio				
Ovo	0,94(0,75-1,17)	-	-	-
Náuplio	21,91(16,4-29,3)	4,84(3,7-6,3)	3,50(2,6-4,60)	-
Zoéa	340,57(276,9-420,5)	22,09(17,2-28,3)	13,10(8,2-22,1)	8,60(5,3-14,1)
Misis	197,75(163,2-211,6)	41,75(30,2-60,6)	19,70(12,3-31,2)	8,21(5,0-13,4)
PL	277,80(225,8-343,4)	41,58(31,2-55,5)	14,47(6,8-27,1)	10,71(5,08-19,7)