ISSN: 2594-6153

Toxidade e Bioconcentração do Cobre para o Camarão Branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei)* em diferentes Salinidades

Daniela Oliveira Teixeira de Sousa[1], Rodrigo Schveitzer[2], Helen Sadauskas-Henrique[1]

[1]Universidade Santa Cecília (Unisanta), Santos-SP, Brasil
[2]Universidade Federal do Estado de São Paulo (Unifesp), Campus Baixada Santista
E-mail: daniela-lavigne@hotmail.com

Resumo: O Camarão Branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei,* tem uma grande importância na área da carcinicultura, e mesmo que ocorram as trocas de águas reduzidas nesse cultivo, ocorre o acúmulo de metais, como o cobre, presentes na ração. Considerando que o *L. vannamei* consegue ser cultivado em diferentes salinidades, o presente estudo buscou avaliar como as diferentes salinidades podem influenciar na toxicidade (CL50- 24 h) e na bioacumulação do cobre nas brânquias de pós-larvas de *L. vannamei.* As pós-larvas (PLs) foram aclimatadas em 3 diferentes salinidades (5, 15 e 30 ppt) por 24 h, e posteriormente expostas por 24 h a diferentes concentrações nominais de cobre em 5 ppt (0,05 a 0,8 mg/l), 15 ppt (3,5 a 100 mg/l) e 30 ppt (2 a 144 mg/l), para o cálculo da CL50- 24 h. Após isso, PLs foram expostas à 100% do valor da CL50- 24 h, em cada salinidade, por 24 h, para a análise da concentração de cobre nas brânquias. A toxicidade do cobre foi fortemente influenciada pela salinidade, sendo observado aumento nos valores da CL_{50}-24 h em menores salinidades. Nos animais aclimatados em 30 ppt, a CL50%-24 h foi de 106,82 mg/l (limite inferior de 84,87 e superior de 134,45 mg/l). Já nos animais aclimatados em 15 e 5 ppt, a CL_{50}-24 h foi de 49,21 mg/l (limite inferior de 35,53 e superior de 68,17 mg/l) e 0,30 mg/l (limite inferior de 0,23 e superior de 0,40 mg/l), respectivamente. Apesar disso, a bioconcentração de cobre foi maior nas brânquias da PLs em 30 ppt (0,12 mg/kg). Assim, o acúmulo de metais *via* ração em sistemas de cultivo com baixa ou nenhuma renovação de água, em salinidades reduzida, pode resultar em aumento da mortalidade de *L. vannamei* em função do aumento da toxicidade do cobre. Apesar disso, essa maior toxicidade não aparenta estar relacionada com a bioacumulação do cobre nas brânquias, uma vez que, maior bioacumulação de cobre foi observada nas PLs em 30 ppt.
Palavras-Chave: bioconcentração; osmoregulação; ionoregulação; especiação do cobre.

Analysis of copper bioconcentration in the gills of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei)

Abstract: The Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, holds significant importance in the field of shrimp farming. Even in systems with limited water exchange, there is an accumulation of and toxicity from metals, such as copper, present in the feed. Given that L. vannamei can be cultivated across a range of salinities, this present study sought to evaluate how varying salinities can influence copper toxicity (LC50-24 h) and copper bioaccumulation in the gills of L. vannamei postlarvae (PLs). PLs were acclimated to three different salinities (5, 15, and 30 ppt) for 24 hours. Subsequently, they were exposed for 24 hours to different nominal copper concentrations at 5 ppt (0.05 to 0.8 mg/l), 15 ppt (3.5 to 100 mg/l), and 30 ppt (2 to 144 mg/l) for the calculation of LC50-24 h. Afterward, PLs were exposed to 100% of the LC50-24 h value at each salinity for 24 hours to analyze the copper concentration in the gills. Copper toxicity was strongly influenced by salinity, with higher LC50-24 h values observed at

ISSN: 2594-6153

lower salinities. In animals acclimated to 30 ppt, the LC50-24 h was 106.82 mg/l (lower limit: 84.87 mg/l, upper limit: 134.45 mg/l). In contrast, in animals acclimated to 15 and 5 ppt, the LC50-24 h was 49.21 mg/l (lower limit: 35.53 mg/l, upper limit: 68.17 mg/l) and 0.30 mg/l (lower limit: 0.23 mg/l, upper limit: 0.40 mg/l), respectively. However, copper bioconcentration was higher in the gills of PLs at 30 ppt (0.12 mg/kg). Therefore, metal accumulation via feed in systems with low or no water exchange at reduced salinities can lead to increased mortality of L. vannamei due to elevated copper toxicity. Nevertheless, this toxicity seems not to be related with the Copper bioacumulation in the gills, once higher copper bioaccumulation was observed in PLs at 30 ppt..
Key words: bioconcentration; osmoregulation; ionoregulation; copper speciation.

Introdução

A espécie *L. vannamei,* originária do Leste do Pacífico, são encontradas no México, Equador e Panamá em fundos lamosos de até 72 m de profundidade [1,2,3]. É uma espécie exótica que foi introduzida para fins de aquicultura, sendo seu cultivo realizado em qualquer estágio de desenvolvimento e em diferentes salinidades. No Brasil o *L. vannamei* é cultivada em sistema intensivo na carcinicultura. Os problemas que o *L. vannamei* enfrenta no cultivo é a utilização de dietas que são ricas em fósforo e nitrogênio, onde um dos metais presentes na ração é o cobre, elemento essencial para o metabolismo dos animais. A acumulação de restos de rações nos tanques de cultivo pode levar ao aumento das concentrações de cobre [7,6]. O cobre é um elemento essencial, sendo um cofator para várias enzimas [8,9]. No entanto, em altas concentrações ele pode ser potencialmente tóxico [5,9].

Portanto, o presente estudo buscou avaliar a toxicidade do cobre nas salinidades de 5, 15 e 30 ppt e examinar a bioconcentração do cobre nas brânquias das pós-larvas (PLs) de *L. vannamei*. Dessa forma, entender e modelar a tolerância dessa espécie ao cobre em função de diferentes salinidades é de grande importância comercial, econômica e biológica.

Objetivos

(1) Calcular os valores da CL50- 24 h do cobre para as PLs em diferentes salinidades (5, 15 e 30 ppt). (2) Avaliar a concentração do cobre (bioconcentração) nas brânquias do *L. vannamei* expostos a 100% da CL50- 24 h do cobre nas salinidades 5, 15 e 30 ppt.

Materiais e métodos

Camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) foi obtido no estágio de desenvolvimento PL10 (1 milheiro) em piscicultura e transportados para o laboratório. Os camarões foram

ISSN: 2594-6153

mantidos em caixas d´água de 2000 l com salinidade 30 ppt e aeração constante até alcançarem o estágio de desenvolvimento PL20, estágio no qual os experimentos foram realizados.

As PLs foram aclimatadas por 24 h em cada salinidade estudada (5; 15 e 30 ppt) antes do início dos experimentos. Para calcular a CL50- 24 h, as PLs foram distribuídas aleatoriamente em câmaras experimentas de 500 ml (10 larvas), com aeração constante em banho maria (temperatura de 28°C). As soluções-teste de cobre foram preparadas a partir de cloreto de cobre heptahidratado ($CuSO_4.5H_2O$, pureza 99%, Sigma Aldrich), em água do mar (previamente filtrada e diluída, em água destilada, de acordo com a salinidade desejada), com 24 horas de antecedência, mantida sob agitação até o momento do teste. As concentrações de cobre utilizadas foram, 0; 2; 6; 12; 24; 36; 48; 60; 72; 84; 96; 120; 144 mg/L para 30 ppt, 0; 3,5; 7; 14; 21; 28; 35; 42; 49; 56; 63; 70; 100 e 140 mg/L para 15 ppt, e 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20 mg/L para 5 ppt. A CL50-24 h foi calculada no programa Trimmed Spearman-Karber. Para a avaliação da bioacumulação do cobre, as PLs foram submetidas as condições controles (um controle por salinidade) e tratamentos (concentração de cobre em 100% do valor da CL50- 24 h calculados posteriormente, sendo eles: 0,30; 49,21 e 106,82 mg/L para as salinidades de 5; 15 e 30 ppt, respectivamente). Após o período de 24 h, os animais foram eutanasiados em gelo, lavados em solução de EDTA 10%, secados e pesados. Após isso, com o auxílio de uma lupa, as brânquias foram retiradas para análise da bioconcentração do cobre. Para tanto, as brânquias foram removidas e digeridas com ácido nítrico (10%), sendo o material digerido filtrado em malha 0,45µm (Millipore®) e diluído em água Milli Q (1:200) para a leitura do cobre utilizado um espectrômetro de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, Thermo Scientific, modelo iCAP 6500 com vista axial), utilizando uma curva analítica contruída a partir de solução padrão multielementar de 1000 mg/L (Merck®) contendo cobre (10 a 2000 µg/L em meio aquoso de HNO_3 1% (v/v)).

Resultados

Nos animais aclimatados em 30 ppt, a CL50- 24 h foi de 106,82 mg/l (limite inferior de 84,87 e superior de 134,45 mg/l). Já nos animais aclimatados em 15 e 5 ppt, a CL50-24 h foi de 49,21 mg/l (limite inferior de 35,53 e superior de 68,17 mg/l) e 0,30 mg/l (limite inferior de 0,23 e superior de 0,40 mg/l), respectivamente. Esses valores representam uma redução de cerca de 22 e 100% dos valores de CL50- 24 h dos animais em 15 e 5 ppt, em comparação aos animais em 30 ppt. Não houve mortalidade das pós-larvas de *L. vannamei* aclimatadas por 24 h em nenhuma das salinidades estudadas (controles). A concentração de cobre nas brânquias variou

ISSN: 2594-6153

de 0,003 a 0,11 mg/kg, com aumento significativo nas PLs expostas ao cobre na salinidade de 30 ppt em relação ao controle (Figura 1).

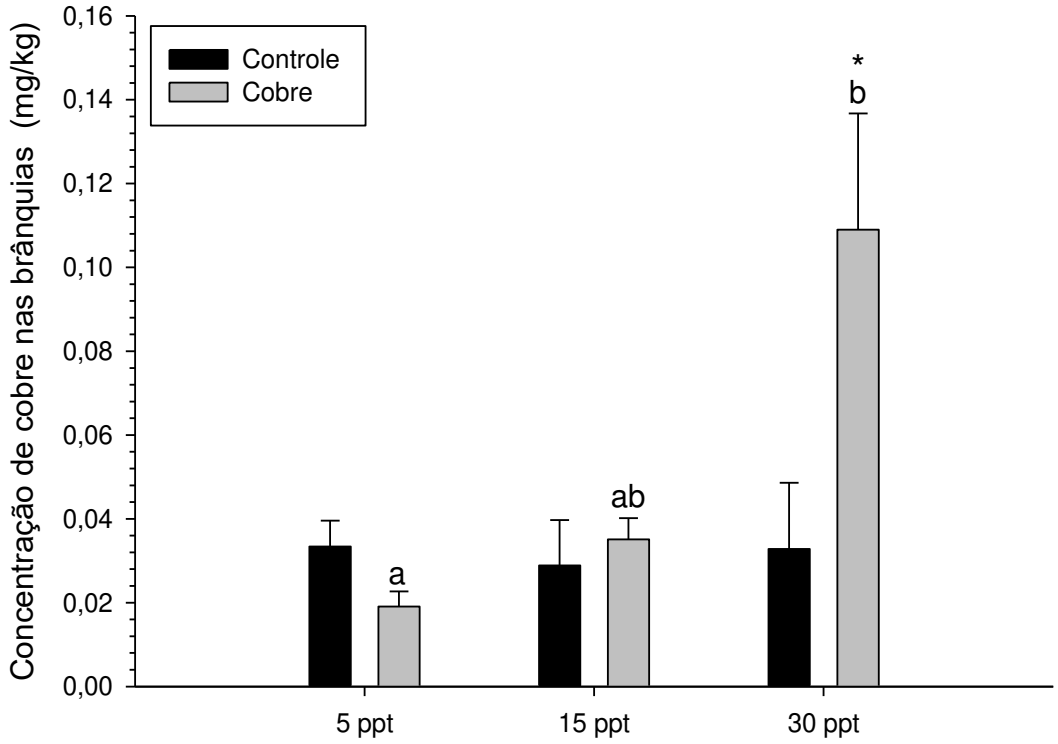


Figura 1. Concentração de cobre (mg/kg) nas brânquias de pós-larvas do camarão branco do Pacífico expostos a 50% da CL50-24h do cobre nas diferentes salinidades, além dos respectivos controles. Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas (P<0,05) na concentração do cobre entre os animais (controle ou cobre) nas diferentes salinidades. Asterisco (*) representa diferenças estatísticas significativas (P<0,05) entre os animais do controle e do cobre, na mesma salinidade.

Discussão

Nossos dados sugerem que a maior toxicidade do cobre em salinidade reduzida pode estar relacionada sua maior disponibilidade em menores salinidades, devido a menor competição do metal com cátions dissolvidos. No entanto, maior acumulação do cobre nas brânquias foi encontrada para PLs expostas na salinidade de 30 ppt. Esses dados sugerem que os mecanismos de toxicidade do cobre nas menores salinidades podem estar relacionados com a competição com cátions, como o Na^+ e K^+, com os sítios ativos de absorção, além de poder agir na inibição da atividade de enzimas como a Na^+/K^+ - ATPase. Como consequência, alterações dos processos de absorção ou excreção de íons, como o Na^+ e o K^+ poderiam ficar prejudicados, levando a maior toxicidade do cobre nas menores salinidades.

ISSN: 2594-6153

Conclusões

A toxicidade do cobre para as PLs foi fortemente influenciada pela salinidade, sendo observado aumento nos valores da CL50- 24 h em menores salinidades. No entanto, a maior toxicidade na salinidade 5 ppt não aparenta estar relacionada com maiores concentrações de cobre nas brânquias.

Agradecimentos

DOTS agradece ao auxílio CAPES- Código de Financiamento 001. RS agradece à FAPESP e ao CNPq.

Referências

1.Angelo L Silva MD. Cultivo do camarão branco do pacífico, Litopenaeus vannamei (BOONE, 1931), em tanques-rede no litoral paranaense: estudo de caso Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/4805

2.Barbieri e Melo GAS. Biodiversidade: ocorrência da espécie Litopenaeus vannamei (Booni, 1931) no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape – Ilha Comprida. O Mundo Saude. [2006].

3.Freitas Patrícia Domingues de. Repositorio Institucional Ufscar [Internet]. Estudos de diversidade genética em estoques reprodutores de camarões Litopenaeus vannamei cultivados no Brasil.; 29 ago 2003 Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/5409/TesePDF.pdf?sequence=1&isAllowed=y

4.Frias-Espericueta MG, Voltolina D, Osuna-Lopez JI. Acute Toxicity of Copper, Zinc, Iron, and Manganese and of the Mixtures Copper?Zinc and Iron?Manganese to Whiteleg Shrimp Litopenaeus vannamei Postlarvae. Bull Environ Contam Toxicol [Internet]. 1 jul 2003;71(1):68-74. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00128-003-0132-z

5.HARRIS ED 2000. Cellular copper transport and metabolism.Annu. Rev Nutr 291 301. [2000]

6.Lopes D. Acúmulo de metais traço Cobre (Cu) e Zinco (Zn) em viveiro de cultivos de camarão (Litapenaeus vannamei). Diss Mestre Cienc Mar Trop Inst Cienc Mar Fortaleza Ceara. 2006.

7.Molon Bo Bauer W Wallner-Kersanach. Concentração de cobre e zinco no tecido de camarões em uma fazenda de cultivos. 12º Mostra Prod Univ Rio Gd RS. 2013.

8.Pena Mmo Lee J Thiele DJ. A Delicate Balance: Homeostatic Control of Copper Uptakeand Distribution. NA Soc Nutr Sci 1251 1260 1999.

9.Uauy R Olivares M Gonzalez M. Essentiality of copper in humans 1 – 3. Am J Clin Nutr 3970009 952 959 1998.