

ESTUDOS DA TRANSFERÊNCIA DE CÉSIO-137
EM CADEIA TRÓFICA MARINHA

SANDRA REGINA MATTIOLO MARCHESE e IEDA IRMA LAMAS CUNHA
Coordenadoria para Projetos Especiais - COPESP e
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária
05508 - São Paulo - SP

RESUMO

Através de bioensaios utilizando o traçador de Cs-137, determinou-se o Fator de Concentração e o Fator de Eliminação para os integrantes da cadeia alimentar marinha: *Tetraselmis gracilis*, *Artemia salina* e *Abdefduf saxatilis*. São descritas as condições de cultivo empregadas no Laboratório Radioecológico do Litoral - LARELI para os integrantes desta cadeia. A determinação do Fator de Concentração é importante para o estudo da transferência de Cs-137 ao longo da cadeia alimentar.

1. INTRODUÇÃO

Com o advento da energia nuclear houve a necessidade de investigações de ordem radioecológica visando quantificar os radionuclídeos presentes no meio ambiente.

O oceano, por apresentar um grande volume, parece ter sido escolhido como local para a liberação e depósito de rejeitos de usinas nucleares e no passado foi berço de testes com armas nucleares.

Estes radionuclídeos podem se acumular em elementos da biota aquática, principalmente pela cadeia alimentar. Sabemos que alguns dos constituintes da biota possuem a característica de acumular certos radionuclídeos mais que outros organismos, por isso são chamados de bioindicadores.

Gouvea e colaboradores [1], através de experimentos com traçadores em água do mar, verificaram que o molusco *Perna perna*, situa-se entre os melhores bioindicadores da fauna marinha, revelando a poluição deste meio pelos radionuclídeos I-131, Co-60, Zn-65 e Cr-51. Os testes foram feitos em aquários e para avaliar a capacidade bioindicadora do mitilídeo foram estudados os seguintes parâmetros: velocidade de concentração, fator de concentração e meia-vida biológica. Estes mesmos autores [2] verificaram que a anêmona *Bunodosoma caissarum*, espécie exclusivamente brasileira, também é um indicador de poluição radioativa marinha para os elementos Cr-51, Zn-65 e Co-60, devido aos elevados fatores de concentração. Os testes de concentração e eliminação foram feitos em aquários com água do mar, sob condições controladas de laboratório, acompanhando-se toda a cinética por radiometria gama.

O Cs-137 está entre os radionuclídeos que mais preocupa a radioecologia, por possuir uma meia-vida longa e por ser quimicamente similar ao potássio, que se concentra principalmente nos músculos.

Os traçadores radioativos em ensaios biológicos tem sido amplamente utilizados para determinar o fator de concentração de radionuclídeos em diversos gêneros e espécies, como peixes, crustáceos,

moluscos, equinodermas, etc. [3]. O uso desta técnica vem aumentando nossos conhecimentos dos mares, oceanos e dos seres vivos que habitam esses ecossistemas.

Esse trabalho tem como objetivo estudar a transferência do Cs-137 na cadeia trófica marinha *Tetraselmis gracilis* - *Artemia salina* - *Abdefduf saxatilis*.

Para os bioensaios de bioacumulação e eliminação de Cs-137, que serão descritos a seguir, selecionamos os organismos, levando em consideração os seguintes fatores:

- relativa facilidade de ser encontrada em todo o território nacional;
- as dimensões relativamente pequenas;
- a facilidade de manuseio, captura e transporte;
- a sua adaptabilidade às condições de laboratório;
- sua importância na cadeia alimentar;
- o uso de espécies "padrão", já utilizadas em ensaios biológicos em toda parte do mundo, de acordo com as agências internacionais de proteção ambiental;
- a utilização de cadeias alimentares curtas no estudo da bioacumulação de radionuclídeos naturais e artificiais.

2. PARTE EXPERIMENTAL

A água do mar utilizada foi coletada em São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo, na praia onde está localizado o Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo - CEBIMAR, que possui salinidade de 35 ‰.

O Laboratório Radioecológico do Litoral - LARELI, onde se realizou os bioensaios, está provido de um sistema de ar condicionado, sendo que a temperatura não variou mais que 2°C superior. O fotoperíodo adotado, para o cultivo e bioensaios, foi de 12 horas de exposição à luz e 12 horas de escuro (das 08:00 às 20:00 hs), controlada por um timer.

Os ensaios de bioacumulação foram feitos de modo estático, ou seja, uma vez introduzida a substância a ser testada e mantidos os parâmetros físicos e químicos da água, não renovando-a até o fim do experimento.

Os parâmetros utilizados em nossos estudos para se quantificar a acumulação foi o Fator de Concentração (F.C.) que é definido como sendo a razão entre a concentração do radionuclídeo (no caso do Cs-137) nas espécies e a concentração do referido radionuclídeo na água.

E, para a análise dos resultados dos testes de eliminação o parâmetro utilizado foi a comparação entre a atividade presente na espécie no decorrer do experimento e a atividade no organismo, quando o mesmo atingiu o equilíbrio de absorção, obtendo-se assim, a % de radioatividade retida.

2.1 Cultivo e Bioensaios Com *Tetraselmis gracilis*. Esta espécie é amplamente utilizada em aquicultura mundial, sendo anteriormente designada como *Platymonas*.

O inóculo inicial foi fornecido pelo Banco de Algas do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, que armazena diversas algas planctônicas que foram isoladas de águas da costa brasileira. Este Banco existe há vários anos e este trabalho possui pleno êxito.

A alga é cultivada em balões com água do mar filtrada, enriquecida com meio de cultura. O meio de cultura adotado foi o de Guillard "F/2" [4] a temperatura de 21°C, a salinidade de 35‰ e a luminosidade de 3800 lux aproximadamente.

Para a realização dos bioensaios iniciou-se dois cultivos de microalga em balão de vidro de 2 litros, adicionando-se a cada um dos balões o mesmo número de inóculo de células. Quando a cultura chegou ao 10º dia (530x10³ células/ml), iniciou-se o experimento. Em um dos balões, adicionou-se traçador de Cs-137, livre de carregador, com atividade específica de 1 uCi/l, no segundo balão, que foi chamado de "controle", não se adicionou traçador.

Após a adição do traçador no balão teste, periodicamente foram coletadas duas amostras de 35 ml. Estas amostras foram centrifugadas à 1500 rpm por 15 minutos. O sobrenadante - água livre de células algais - foi colocado em pote plástico e contado

em detector de NaI por 5 minutos. O precipitado - algas - foi ressuspensionado em 35 ml de água do mar livre de traçador para retirar o excesso da radioatividade, centrifugado à 1500 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e a alga foi ressuspensionada em 35 ml de água do mar, colocada em pote plástico e contada. Ao mesmo tempo que a amostra foi retirada do balão teste, foi realizada a amostragem da população pelo balão controle. Para a contagem celular foram retirados 3 ml, fixadas com 2 gotas de lugol acético, homogeneizadas, distribuídas em câmara tipo hemocitômetro marca NEUBAUER, que determina a densidade celular (número de células/ml) e contadas sob um microscópio óptico marca Nikon.

2.2 Cultivo e Bioensaios Com *Artemia salina*. Os ovos de *Artemia* foram cedidos pelo Instituto Oceanográfico - USP. Foram colocados em uma caixa de cimento-amianto revestida com tinta epóxi, com capacidade para 50 litros, com mangueira conectada ao compressor e ar e registro para controle. Este sistema recebeu iluminação por meio de luminárias fluorescentes - aproximadamente

3800 lux. Após a eclosão dos ovos, os náuplios foram alimentados com *Tetraselmis gracilis*, cultivada no LARELI.

Os bioensaios foram realizados em béquer de vidro, com capacidade para 4 litros, utilizando-se 2 litros de água do mar. Foi tampado com chapa de acrílico transparente com um orifício para entrada da mangueira do compressor de ar.

No béquer teste foram adicionados 2 litros de água do mar filtrada, traçador de Cs-137 na atividade específica de 1 uCi/l e as *Artemias*. Periodicamente, realizou-se a contagem da radioatividade das *Artemias* e da água.

Para a contagem da radioatividade e cálculo do FC retirou-se duas amostras (A1 e A2) cada uma delas sendo constituídas de três *Artemias*. As mesmas após serem retiradas do béquer com traçador foram lavadas em água do mar não contaminada, colocadas em potes plásticos, contadas no detector de NaI tipo planar. Desta forma, obteve-se os valores do Fator de Concentração FC1 e FC2. A seguir adicionou-se mais quatro *Artemias* nos potes, totalizando sete *Artemias*, que foram contadas (amostras A3 e A4) e calculados os FC (FC3 e FC4, respectivamente).

2.3 Cultivo e Bioensaios com *Abdefduf saxatilis*. Os peixes utilizados nos experimentos foram capturados no litoral norte do Estado de São Paulo, em São Sebastião, na faixa de 1,5 a 2,0 cm de comprimento.

Após a captura permaneceram em aquário de vidro com capacidade para 50 litros, provido de filtro biológico e mangueira conectada em compressor de ar, a temperatura de 21°C, a iluminação foi através de luminárias fluorescentes, com aproximadamente 3800 lux. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia com *Artemias*.

Os experimentos foram realizados em béquer de vidro com capacidade para 4 litros, com tampa de acrílico transparente, com um orifício para entrada da mangueira de ar - assim diminui a evaporação - permanecendo sob as mesmas condições de temperatura e iluminação do aquário de criação.

No béquer foram adicionados 2 litros de água do mar filtrada, o traçador de Cs-137 sem carregador, com atividade aproximada de 1 uCi/ml e os peixes em estudo. Esses foram periodicamente retirados do frasco por uma redinha de polietileno, lavados em água do mar, para retirar o excesso de radioatividade e colocados em frascos plásticos e contados em detector de NaI do tipo planar. Após a contagem o peixe foi devolvido ao béquer.

Foram contados dois peixes (Amostra 1 e Amostra 2) para cada tempo empregado, obtendo-se desta forma os valores de FC1 e FC2, respectivamente.

Quando o equilíbrio foi atingido, os peixes foram colocados em béquer de vidro com 2 litros de água do mar livre de traçador e seu fator de eliminação calculado.

2.4 Transporte de Cs-137 em cadeia alimentar. Para se determinar o transporte do Cs em cadeia alimentar, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$C_{p,i} = C_{w,i} \cdot B_p \quad (1)$$

onde:

$C_{p,i}$ = concentração do radionuclídeo i no alimento aquático p ($Bq.Kg^{-1}$);
 $C_{w,i}$ = concentração do radionuclídeo i na água ($Bq.L^{-1}$);
 B_p = a proporção existente entre a concentração do radionuclídeo i no alimento aquático p e da sua concentração na água, conhecido como fator de concentração ($L.Kg^{-1}$).

A transferência do Cs-137 a partir da água contaminada através dos vários níveis tróficos na cadeia alimentar destes organismos consumidos pelo Homem, são condensados em um único parâmetro, o fator de concentração [5].

3. RESULTADOS E CONCLUSÕES

Na presença do traçador de Cs-137 a microalga alterou seu comportamento, o que não ocorreu com a cultura controle, demonstrando, assim, sua sensibilidade à atividade empregada no bioensaio. Após a adição do traçador, observou-se que a alga, anteriormente distribuída por todo o recipiente, precipitou-se no fundo e não absorveu mais que 0.08% da radioatividade total do frasco.

A Tabela 1 apresenta os valores de FC para a *Artemia salina*.

Nos experimentos de bioacumulação com *Artemia salina*, podemos perceber uma grande variação do FC de acordo com o peso das Artemias selecionadas para a contagem. A não uniformidade dos resultados do FC provavelmente deve-se à diferentes fases de desenvolvimento e ao dimorfismo sexual. Esses resultados são importantes porque evidenciam a complexidade do estudo em questão e mostram também que todos os parâmetros que possam afetar o valor do FC devem ser rigorosamente analisados.

As Tabelas 2 e 3 apresentam os valores dos Fatores de Concentração e Eliminação, respectivamente, para o nécton *Abdefduf saxatilis*.

Após 224 hs pode se considerar, pelos dados apresentados na Tabela 2, que o equilíbrio foi atingido, sendo que o valor médio de FC determinado foi de 5,6. Com 384 hs de permanência em água do mar livre de traçador o peixe eliminou cerca de 82 % da atividade retida.

Os FC's encontrados serão empregados na determinação do transporte do céσιο na cadeia alimentar, juntamente com dados obtidos no estudo da contaminação dos outros integrantes da cadeia trófica: fitoplâncton - zooplâncton - peixe.

Os estudos terão continuidade selecionando-se outras cadeias tróficas marinhas, bem como determinando-se valores de FC na biota de uma determinada região, sem o uso de traçadores.

4. REFERÊNCIAS

[1] GOUVEA, R. C et al. Perna perna (*Linnaeus, 1758*): Bioindicador da poluição radioativa marinha. Revista Brasileira de Biologia. 45(4): 433-438. Rio de Janeiro, RJ. 1985.

[2] GOUVEA, R.C et al. Contaminação radioativa de *Bunodosoma caissarum* corréa, 1964 (Cnidaria, Actinidae) sob condições controladas. Revista Brasileira de Biologia. 45(1/2):101-104, Rio de Janeiro, 1985.

[3] LOWMAN, F.G. The occurrence and distribution of radioactive non-fission products in plants and animals of the Pacific Proving Ground. Washington, Atomic Energy Commission, 1957. (AEC report UWFL 51-61)

[4] GUILLARD, R. R. L. 1962. Salt and osmotic balance. In: Lewin, R. A., end. Physiology and biochemistry of algae. New York, Academic Press, p. 529-540.

[5] Generic Models and Parameters for Assessing the Environmental Transfer of Radionuclides from Routine Releases - Safety Series no. 57 - IAEA, Vienna, 1982.

5. ABSTRACT

The both concentration factor and elimination factor of cesium-137 by the food chain: *Tetraselmis gracilis*, *Artemia salina* e *Abdefduf saxatilis*, were determined in laboratory conditions. The results of laboratory experiments on the uptake, accumulation and elimination of cesium-137 by the species above mentioned are described. The concentration factor determination is important to the study of cesium-137 transfer through food-chain.

Tabela 1 - Fator de Concentração de Cs em *Artemia salina*

tempo de experimento (em hs)	peso em gr amostra A1	peso em gr amostra A2	peso em gr amostra A3	peso em gr amostra A4	FC1	FC2	FC3	FC4
2	0.0049	0.0018			0.73	15.13		
5	0.0059	0.0041			2.94	3.20		
7	0.0038	0.0064			5.75	4.39		
24	0.0065	0.0014			7.86	17.81		
48	0.0052	0.0029			4.67	15.07		
72	0.0011	0.0195	0.0037	0.0107	28.70	4.78	4.12	11.01
120	0.0105	0.0242	0.0107	0.0220	5.48	6.72	7.79	6.47
144	0.0082	0.0253	0.0112	0.0230	5.54	7.34	5.95	8.03
168	0.0044	0.0105	0.0035	0.0156	22.59	20.52	33.16	14.00
192	0.0048	0.0277	0.0075	0.0209	27.48	9.85	11.09	11.67
216	0.0113	0.0225	0.0088	0.0271	7.50	12.19	10.03	8.95
264	0.0238	0.0530	0.0165	0.0515	5.30	5.81	8.15	6.86
312	0.0096	0.0222	0.0078	0.0210	17.35	11.81	17.50	11.55
336	0.0119	0.0229	0.0117	0.0350	12.24	12.45	15.35	11.66
384	0.0167	0.0430	0.0331	0.0486	10.78	8.55	8.46	8.03
480	0.0251	0.0421	0.0329	0.0425	8.58	9.24	6.96	7.67

Tabela 2 - Fator de Concentração de Cs-137 em *Abdefduf saxatilis*

tempo do experimento (em horas)	peso em gramas da amostra 1	peso em gramas da amostra 2	FC1	FC2
3	0.3697	0.3439	0.18	0.09
5	0.3631	0.2461	0.11	0.16
7	0.2338	0.2384	0.17	0.30
24	0.2390	0.1805	0.81	0.93
27	0.1504	0.2061	1.28	1.21
30	0.1926	0.1768	1.24	1.17
48	0.2036	0.3119	1.81	1.71
72	0.1823	0.2215	2.39	2.33
96	0.1947	0.1696	3.13	2.95
120	0.4417	0.1630	3.87	3.92
144	0.1955	0.2131	3.44	3.64
168	0.1572	0.2055	4.59	4.17
192	0.2002	0.1653	4.45	4.65
200	0.1958	0.1637	4.69	4.78
224	0.1672	0.1993	5.79	5.36
248	0.1955	0.1667	5.70	5.34
255	0.1624	0.1825	5.83	5.63

Tabela 3 - % de atividade retida por *Abdefduf saxatilis*

tempo de experimento (em horas)	% de atividade retida
16	89.4
40	78.6
64	75.0
112	57.9
180	53.2
232	37.15
264	30.87
336	23.50
360	23.26
384	17.18