

BIOACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS EM TILÁPIA DO NILO E RETENÇÃO NO SOLO E SEDIMENTO DOS VIVEIROS COM ADIÇÃO DE PROBIÓTICOS NA DIETA

BIOACCUMULATION OF HEAVY METALS IN NILE TILAPIA AND CONCENTRATIONS IN SOIL AND SEDIMENT OF THE PONDS WITH ADDITION OF THE PROBIOTICS IN THE DIET

Nilton Garcia MARENGONI¹; Monique Bayer WILD²;
Affonso Celso GONÇALVES JUNIOR³; Marisa Maria Pletsch Schneider VIVIAN⁴;
Milton César de MOURA⁵

1. Professor Associado, Pós-Doutor, Pesquisador do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil. ngmget@hotmail.com; 2. Mestra em Zootecnia - Unioeste, Marechal Cândido Rondon-PR, Brasil; 3. Professor Associado, Pós-Doutor, Pesquisador do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Unioeste, Marechal Cândido Rondon-PR, Brasil; 4. Mestra em Zootecnia - Unioeste, Marechal Cândido Rondon-PR, Brasil; 5. Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUC Paraná, Toledo-PR, Brasil.

RESUMO: O trabalho objetivou monitorar a bioacumulação de Cd, Pb e Cr na tilápia do Nilo e retenção no sedimento da caixa de coleta e no solo de viveiros com administração de probióticos na ração. A dieta foi composta de ração comercial peletizada, para alevinos e probióticos liofilizados incluídos na dieta utilizando 2% de óleo vegetal, constituindo de: ração isenta de probióticos (Isento); ração + 0,5% de *B. cereus* var. Toyoi (ração + *B. cereus*); ração + 0,5% de *B. subtilis* C-3102 (ração + *B. subtilis*); ração + 0,25% de *B. cereus* var. Toyoi + 0,25% de *B. subtilis* C-3102 (ração + *B. cereus* + *B. subtilis*). Amostragens de ração, filé, pele, brânquias, fígado, carcaça, solo e sedimento da caixa de coleta dos viveiros foram realizadas para a determinação de metais pesados tóxicos por digestão nitro perclórica, e, espectrometria de absorção atômica. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos teores dos metais observados nos tecidos analisados dos juvenis alimentados com diferentes combinações de probiótico e ração. Teores de Pb no filé foram superiores ao preconizado pela legislação. Teores de Cr foram detectados somente na pele dos juvenis. O teor de Pb do solo no final do cultivo ($71,15 \text{ mg kg}^{-1}$) foi maior ($p < 0,05$) que o encontrado inicialmente ($49,10 \text{ mg kg}^{-1}$) e o Cr no sedimento da caixa de coleta ($29,95 \text{ mg kg}^{-1}$) foi maior ($p < 0,05$) que o encontrado no solo ($18,4 \text{ mg kg}^{-1}$). A adição de probióticos não tem efeito sobre a bioacumulação de metais em juvenis, e sobre a retenção no solo e sedimento.

PALAVRAS-CHAVE: *Bacillus cereus*. *Bacillus subtilis*. Juvenis. *Oreochromis niloticus*. Tanque-rede.

INTRODUÇÃO

Os íons metálicos ocorrem naturalmente na água, são altamente reativos, bioacumuláveis e absolutamente não degradáveis (PORTO; ETHUR, 2009). Acumulam-se em componentes do ambiente e a sua toxidez é pertinente à disponibilidade, visto que, tanto elementos essenciais como não essenciais são tóxicos aos organismos vivos, quando presentes em altas concentrações (MOKHTAR et al., 2009).

A maior preocupação com estes elementos está na sua bioacumulação pela flora e fauna aquáticas e translocação nos diferentes níveis tróficos até o homem, produzindo efeitos subletais e letais, decorrentes de disfunções metabólicas (CAMPOS et al., 2009).

Os probióticos são aditivos microbianos vivos que têm efeito benéfico ao hospedeiro, modificando a comunidade microbiana, proporcionando melhorias na utilização dos alimentos. Além destas importantes funções benéficas aos hospedeiros os probióticos podem

também contribuir na degradação da matéria orgânica, reduzindo significativamente o material sedimentado, melhorando então, a qualidade da água, a sanidade dos peixes e a segurança alimentar (SAHU et al., 2008; NAYAK, 2010; MOHAPATRA et al., 2013).

Alguns estudos foram realizados para quantificação de metais (SANTANA; BARRONCAS, 2007; MARENGONI et al., 2008; MARENGONI et al., 2013), porém, poucas pesquisas são encontradas com relação à utilização de agentes antimicrobianos como medida preventiva à contaminação dos peixes ou do ambiente por metais pesados tóxicos em sistemas de cultivo em tanque-rede.

Este estudo objetivou monitorar a bioacumulação de Cd, Pb e Cr na carcaça dos alevinos e, no filé, pele, brânquias, fígado e carcaça dos juvenis de tilápia do Nilo, linhagem GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*), alimentados com ração comercial contendo probióticos (*Bacillus subtilis* C-3102 e *Bacillus*

cereus var. Toyoi) e a retenção destes metais no sedimento da caixa de coleta e no solo dos viveiros de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (InPAA), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) e teve duração de 150 dias iniciando-se em 21 de novembro de 2009.

Sobre a caixa de coleta de alvenaria com 1,04 m² (1,3 x 0,8 x 0,5 m) dos vinte viveiros escavados de paredes revestidas de alvenaria com área de 12 m² (6,0 x 2,0 m), com abastecimento e escoamento de água individual, foram colocados 20 tanques-rede com 0,25 m³ (0,5 x 0,5 x 1,0 m),

confeccionados em material *Sannet*, malha de 4 mm, constituindo as unidades experimentais (Figura 1).

Os 1800 alevinos de tilápia do Nilo, com peso médio de 0,34 g, pós-revertidos sexualmente, foram igualmente distribuídos nas 20 unidades experimentais, resultando na biomassa inicial de 30,6 g. A dieta foi composta de ração comercial peletizada, para peixe em fase inicial (alevinos) com 36% de proteína bruta, e probióticos liofilizados incluídos na dieta utilizando 2% de óleo vegetal, constituindo de: ração isenta de probióticos, ou, tratamento controle (Isento); ração + 0,5% de *B. cereus* var. Toyoi (ração + *B. cereus*); ração + 0,5% de *B. subtilis* C-3102 (ração + *B. subtilis*); ração + 0,25% de *B. cereus* var. Toyoi + 0,25% de *B. subtilis* C-3102 (ração + *B. cereus* + *B. subtilis*).

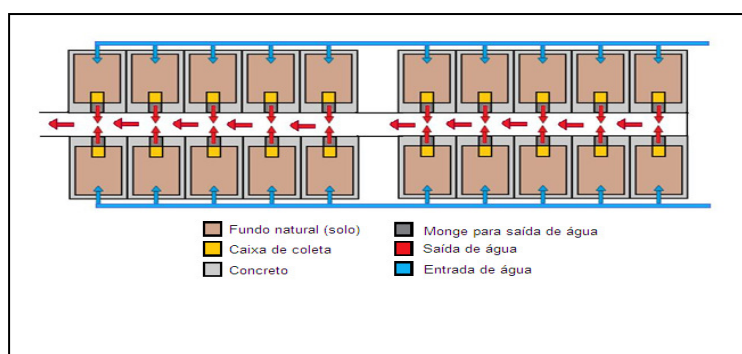


Figura 1. Layout da bateria de viveiros utilizados e tanques-rede instalados nos viveiros.

As amostras do solo (latossolo vermelho eutroférico), de cada viveiro foram coletadas previamente e posteriormente ao cultivo, com auxílio de um trado do tipo caneca, em profundidade de 10-20 cm, sendo eliminada uma fração superficial de 5 cm. A amostragem inicial da caixa de coleta, sob o tanque-rede, não foi realizada por motivo de o viveiro apresentar-se seco anteriormente ao cultivo, não existindo material sedimentado. Ao final do cultivo, amostras deste material foram coletadas para serem comparadas com o teor de metais no solo.

No início do cultivo foram coletados e eviscerados 260 alevinos para análise do teor de metais pesados tóxicos (Cb, Pb e Cr) na carcaça sem vísceras e brânquias. No final da safra, a biomassa média final foi de 6,62 ± 0,52 kg, quando foram amostrados cinco juvenis por unidade experimental, constituindo 20 tilápias por tratamento e totalizando 100 peixes, com aproximadamente 96 g. Todos os peixes foram transportados para o laboratório em embalagens plásticas com água e oxigênio.

Os procedimentos de insensibilização e abate seguiram o protocolo 81/2009 junto ao Comitê

de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas (CEEAAP). Na sequência, foi realizada evisceração para a coleta de fígado e brânquias e, filetagem para a coleta do filé, da pele com escamas e da carcaça. Amostras de ração também foram coletadas para a avaliação da potencial fonte de poluição por cromo, cádmio e chumbo.

As amostragens de ração, filé, pele, brânquias, fígado, carcaça, solo e sedimento da caixa de coleta dos viveiros foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas e moídas (AOAC, 2005). A determinação dos metais Cr, Cd e Pb ocorreu por digestão nitro perclórica, e, espectrometria de absorção atômica, utilizando-se o aparelho da marca GBC, modelo 932 AA (WELZ; SPERLING, 1999).

Os teores totais de metais pesados nos diferentes tratamentos foram comparados calculando-se o Índice de Poluição por Metais (MPI) por meio da equação: $MPI = (CF_1 \times CF_2 \times CF_3 \dots \dots CF_n)^{1/n}$, onde, CF_n = concentração de metal na amostra n (USERO et al., 1996).

A adição de probiótico (Isento, ração + *B. cereus*, ração + *B. subtilis*, ração + *B. cereus* + *B.*

subtilis) sobre o teor de metais presentes no solo nas épocas de coleta (no início e no final do cultivo) e sobre o local de coleta no final do cultivo (solo e sedimento), foi avaliada utilizando um delineamento em esquema fatorial 4 x 2 com cinco repetições, sendo quatro tratamentos avaliados em duas épocas ou dois locais. Os 1800 alevinos de tilápia do Nilo foram igualmente distribuídos nas 20 unidades experimentais.

O teor de metais, nas brânquias, no fígado, no filé, na pele, na carcaça eviscerada dos juvenis no final do cultivo e na porcentagem de metais inicialmente encontrados na carcaça, foi avaliado utilizando um delineamento inteiramente casualizado sendo quatro tratamentos e cinco repetições. As análises de variância foram empregadas, seguidas de teste de Tukey, a 5% de probabilidade (SAS, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de *F* calculado e da probabilidade destacam que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os teores de Cd, Pb e Cr e, no Índice de Poluição por Metais (MPI), observados nas brânquias, fígado, filé, pele e carcaça dos juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com diferentes combinações de ração e probiótico (Tabela 1). Teores de Cd não foram detectados no filé, entretanto, foram encontrados nos outros tecidos analisados. Resultado semelhante foi observado por Usero et al. (2004), obtendo diferença de até 5 mg kg⁻¹ para os metais Zn, Ni, Cd e Pb presentes no fígado quando comparados ao músculo.

Tabela 1. Valores médios (mg kg⁻¹) de Cd, Pb e Cr e Índice de Poluição por Metais (MPI) para as brânquias, fígado, filé, pele e carcaça de juvenis de tilápia do Nilo e limites estipulados pela Anvisa (Brasil, 1998), *Food and Agriculture Organization* (FAO, 1992), e *World Health Organization* (WHO, 1989)

Material	Cd		Pb		Cr		MPI	
Brânquias	F=1,32	p=0,31	F=0,23	p=0,87	F=0,00	p= 0,00	F=0,09	p=0,96
Isento	1,00		2,75		ND		1,66	
Ração+B. cereus	1,20		3,60		ND		2,03	
Ração+B. subtilis	1,00		3,40		ND		1,80	
Ração+B. cereus+B. subtilis	1,40		3,40		ND		2,00	
CV(%)	10,47		62,16		-		17,16	
Fígado	F=1,48	p=0,26	F=0,42	p=0,74	F=0,00	p=0,00	F=0,23	p=0,87
Isento	0,75		4,50		ND		1,82	
Ração+B. cereus	1,00		4,80		ND		2,11	
Ração+B. subtilis	0,60		3,60		ND		2,35	
Ração+B. cereus+B. subtilis	1,00		2,60		ND		1,57	
CV(%)	42,81		52,03		-		41,97	
Filé	F=1,32	p=0,31	F=0,38	p=0,77	F=0,00	p=0,00	F=0,24	p=0,86
Isento	ND		10,50		ND		10,50	
Ração+B. cereus	ND		9,60		ND		9,60	
Ração+B. subtilis	ND		10,00		ND		10,00	
Ração+B. cereus+B. subtilis	ND		9,00		ND		9,00	
CV(%)	-		39,23		-		40,64	
Pele	F=0,60	p=0,63	F=0,40	p=0,76	F=0,78	p=0,52	F=0,83	p=0,50
Isento	1,75		9,00		3,25		3,52	
Ração+B. cereus	1,60		5,40		0,60		2,52	
Ração+B. subtilis	1,40		9,00		2,00		2,98	
Ração+B. cereus+B. subtilis	1,80		5,40		2,00		2,36	
CV(%)	12,95		40,52		86,54		27,88	

Carcaça	F=1,48 p=0,26	F=1,22 p=0,34	F=0,00 p=0,00	F=0,18 p=0,91
Isento	1,75	16,50	ND	5,32
Ração+B. cereus	1,60	16,00	ND	5,00
Ração+B. subtilis	2,00	14,20	ND	5,29
Ração+B. cereus+B. subtilis	2,00	13,60	ND	5,20
CV(%)	13,05	30,73	-	10,37
BRASIL (1998)	1,00 ^a	2,00	1,00	-
WHO (1989)	1,00	2,00	50,00	-
FAO (1992)	0,05-5,50	0,50-6,00	1,00	-

CV, coeficiente de variação; F, F calculado; p, probabilidade; ND, não detectado pelo método EAA-chama; ^a, qualquer alimento (produto a ser consumido).

A inobservância de Cd no filé das tilápias pode ser justificada, de acordo com Eisler (1985), pelo fato deste metal tender a concentrar-se nas vísceras, especialmente no fígado e nos rins, e ainda, acumular-se em estruturas que contenham cálcio (ossos e brânquias), provocando colapso no esqueleto e toxicidade. Conforme estes autores, os músculos de peixes contêm menos de 0,01 mg kg⁻¹ de Cd, enquanto que o fígado contém aproximadamente 0,5 mg kg⁻¹.

Os valores de Cd no fígado (Tabela 1), independente da adição de probiótico, apresentaram-se inferiores ou no limite preconizado no regulamento técnico da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998) e, da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1989). Na carcaça dos juvenis, nas brânquias e na pele os teores médios deste metal foram maiores que o recomendado para o consumo humano.

A carcaça dos juvenis (Tabela 1) apresentou valores médios de Cd superiores aos estabelecidos pela Anvisa (BRASIL, 1998) e pela WHO (1989), porém, dentro do limite máximo recomendado pela *Food and Agriculture Organization* (FAO, 1992).

Os teores de Cd nas brânquias dos juvenis alimentados com ração contendo 0,5% de probiótico *B. cereus*, ração com 0,25% de *B. cereus* e 0,25% de *B. subtilis* e na pele dos peixes nutridos com todas as adições de probióticos permaneceram acima dos limites estipulados pela Anvisa e pela WHO (Tabela 1).

Na Tabela 1 observa-se que as médias de Cd nas brânquias variaram entre 1,00 e 1,40 mg kg⁻¹ e as de Pb entre 2,75 e 3,60 mg kg⁻¹, para as diferentes combinações de ração e probióticos. Estes valores foram inferiores aos teores de Cd (1,59 mg kg⁻¹) e o Pb (6,75 mg kg⁻¹) encontrados por Dural et al. (2007), nas brânquias da tainha (*M. cephalus*).

Os valores máximos e mínimos de Pb encontrados no filé (Tabela 1) foram de 10,50 e 9,00 mg kg⁻¹, respectivamente. Estes teores foram

superiores ao observado por Türkmen et al. (2005), na musculatura de três espécies marinhas de peixes com valor comercial (*Saurida undosquamis*, *Sparus aurata*, *Mullus barbatus*) na Baía Iskenderun, Turquia, com valores entre 0,09 e 6,95 mg kg⁻¹. A diferença entre o objeto de estudo deste trabalho (*Oreochromis niloticus*) e essas espécies marinhas pode ser explicada por uma alteração química e física da água ou diferenciação de comprimento e peso entre estas espécies.

A carcaça apresenta teores de Pb mais elevados que o filé, pois este metal tende a se acumular em maior proporção nos ossos formando cerca de 90% a 95% do conteúdo corpóreo total de Pb no organismo, que é qualitativamente um análogo biológico do Ca.

Os teores de Pb presentes nas brânquias, fígado, filé, pele e carcaça dos juvenis (Tabela 1), estiveram acima do convencionado pela Anvisa e pela WHO. Contudo, a carcaça dos juvenis, a pele e o filé tiveram valores médios superiores, inclusive, ao estabelecido pela FAO, que é a legislação mais tolerante. Estes resultados são preocupantes e merecem atenção especial por serem estas, as porções da tilápia mais consumidas, podendo vir a causar efeitos deletérios ao homem. Sua toxicidade está relacionada principalmente aos sistemas nervoso e hematopoiético, podendo ocorrer efeitos renais, cardiovasculares e reprodutivos (EISLER, 1988).

Teores de Cr foram detectados somente na pele (Tabela 1), ultrapassando o estipulado pela Anvisa e pela FAO. A vida média dos compostos metálicos no organismo pode ser prolongada por sua afinidade protéica. O Pb e Cd acumulam-se, com vidas médias superiores há 20 anos; o Cr não se acumula e tem vida média de dias, podendo ser detectado durante um tempo maior em lugares considerados como de eliminação (BENITE et al., 2007). A pele, dentre outras funções, realiza a eliminação de substâncias, explicando a maior

bioacumulação de Cr neste tecido observado no presente estudo.

A carcaça dos juvenis, composta por pele com escamas, ossos e filé apresentou valores de Cr inferiores aos limites de detecção do método utilizado, possivelmente porque a pele com escamas representa uma pequena porcentagem da carcaça, resultando em um efeito de diluição deste metal.

Foram detectados teores de Cd ($1,0 \text{ mg kg}^{-1}$), Pb ($25,0 \text{ mg kg}^{-1}$) e Cr ($7,0 \text{ mg kg}^{-1}$) nos alevinos coletados anteriormente ao cultivo (Figura 1). O teor de Cr na carcaça dos alevinos foi superior ao proposto no regulamento técnico da Anvisa, segundo a qual, o nível de contaminante de Cr para peixe e produto da pesca é $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$, porém,

apresentou-se abaixo dos $50,0 \text{ mg kg}^{-1}$ preconizados pela WHO (Tabela 1).

Verificou-se que o aporte de Cd nos tecidos dos peixes do cultivo não foi proveniente da ração, visto que, teores de Cr e Cd não foram detectados na dieta alimentar dos juvenis durante o cultivo. A fonte de Cd no cultivo é indeterminada, podendo ser proveniente da água do rio São Francisco Verdadeiro, que abastece o Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental ou de outras origens não pontuais.

Houve redução de 40% dos teores de Pb nos juvenis, passando de $25,00 \text{ mg kg}^{-1}$ para, em média, $15,07 \text{ mg kg}^{-1}$ no final do cultivo (Figura 2). Os teores de Cr tiveram uma redução de 100%, sendo a princípio de $7,00 \text{ mg kg}^{-1}$ na carcaça dos alevinos.

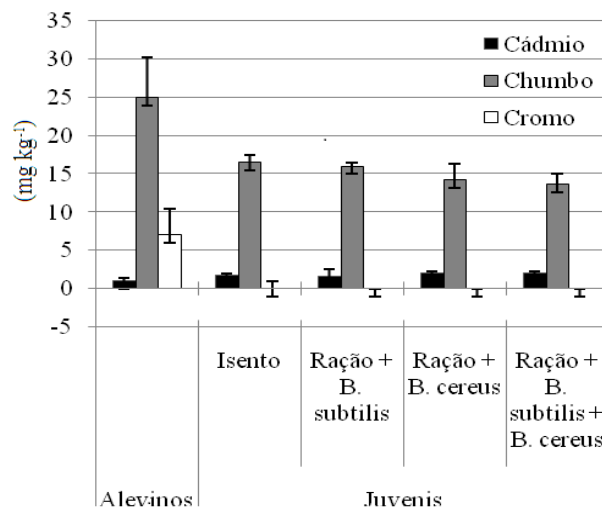


Figura 2. Concentração de metais pesados tóxicos (mg kg^{-1}) e desvio padrão na carcaça dos alevinos e juvenis em cultivo sob diferentes combinações de arraçoamento.

Houve um aumento médio dos teores de Cd em 83%, tornando-se, $1,83 \text{ mg kg}^{-1}$ a partir de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$. As concentrações de Cd são mais elevadas em organismos mais velhos que em indivíduos jovens, explicando os maiores teores de Cd nos juvenis em comparação aos alevinos do cultivo (EISLER, 1985). Embora o Cd possa ser excretado principalmente na urina e nas fezes, a concentração no organismo tende a aumentar com a idade atuando como um metal tóxico cumulativo (HAMMONS et al., 1978), proporcionando efeitos como, diminuição da taxa de crescimento e inibição da reprodução.

A sazonalidade do cultivo (verão/outono), responsável por modificações de fatores intrínsecos, como o ciclo de crescimento dos peixes, pode ter influenciado a bioacumulação de metais nos diferentes tecidos analisados (KARGIN, 1996). Efeito significativo da sazonalidade na bioacumulação de Pb no mexilhão dourado

(*Limnoperna fortunei*) do reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional foi evidenciado por Marengoni et al. (2013).

O Índice de Poluição por Metais (MPI) no filé (9,40) dos juvenis analisados neste experimento apresentou-se 79,8, 79,2, 69,6, 44,6 e 40,5% maior que o MPI encontrado nas brânquias, no fígado, na pele, na carcaça dos alevinos e na carcaça dos juvenis, respectivamente (Figura 3A). Este resultado caracteriza uma maior capacidade de bioacumulação de metais, especialmente chumbo no filé (MOKHTAR et al., 2009), destacando-se que, se estas condições de estudo forem mantidas em indivíduos adultos, há preocupação quanto ao consumo deste filé, que é produto de maior demanda no mercado da tilapicultura.

A concentração de elementos traço varia de acordo com os órgãos e tecidos, como músculos e vísceras abdominais em potencial o fígado, além do

epitélio das brânquias, serem os principais sítios de acúmulo dessas substâncias. A presença de metais tóxicos em qualquer um desses órgãos infere que há

algum risco de contaminação humana, devido o consumo destes peixes (PORTO; ETHUR, 2009).

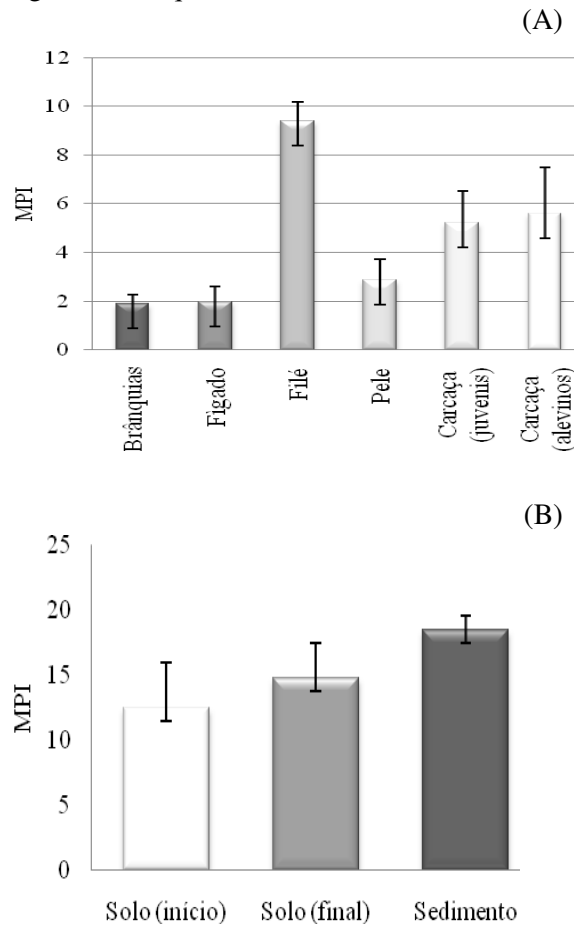


Figura 3. Índice de Poluição por Metais (MPI) e desvio padrão nas brânquias, fígado, filé, pele e carcaça de juvenis e alevinos de tilápia do Nilo (A) e, no sedimento e no solo dos viveiros no inicial e final de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo (B).

A época de coleta (início e final) não apresentou efeito de interação com as combinações de ração e probiótico (isento, ração + *B. cereus*, ração + *B. subtilis*, ração + *B. cereus* + *B. subtilis*). Os valores médios de Cr, Cd e Pb no solo do final do cultivo não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as combinações de adição de probióticos (Tabela 2).

O teor de Pb do solo no final do cultivo foi maior ($p < 0,05$) que o encontrado inicialmente (Tabela 2), representando um aumento de 45,2%, que pode ser proveniente da ração utilizada, a qual apresentou as concentrações médias de 26,0, 27,0, 22,0 e 21,0 mg kg^{-1} nas dietas Isento, Ração+*B. cereus*, Ração+*B. subtilis*, Ração+*B. cereus*+*B. subtilis*, respectivamente; ou ainda, de efluentes industriais lançados no Rio São Francisco Verdadeiro, o qual abasteceu o cultivo.

Observa-se na Tabela 2, que não houve efeito de interação entre o local de coleta (solo e

sedimento) e as combinações de ração com probiótico (isento, ração + *B. cereus*, ração + *B. subtilis*, ração + *B. cereus* + *B. subtilis*). As adições de probióticos não apresentaram diferença significativa quanto aos teores médios de Cd e Pb presentes no sedimento, bem como no sedimento e no solo do final do experimento.

As concentrações de Cd apresentaram-se entre o CONAMA Nível 1 e Nível 2 (Tabela 2), estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (BRASIL, 2004) como, limiar abaixo do qual se prevê baixa probabilidade de efeitos adversos à biota e, limiar acima do qual se prevê um provável efeito adverso à biota, respectivamente. Entretanto, a disponibilidade de Cd na forma ionizada para os organismos desencadeia na transferência para raízes de plantas aquáticas e na liberação deste íon metálico na água após a morte de macrófitas (EISLER, 1985) ou até mesmo, na ocorrência de biomagnificação na cadeia

trófica. As concentrações de Pb apresentaram-se entre o CONAMA Nível 1 e Nível 2 (Tabela 2). Os valores de Cr, no entanto, apresentaram-se inferiores

ao CONAMA Nível 1 ($37,3 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo em média $18,6 \text{ mg kg}^{-1}$ no início do cultivo e $18,4 \text{ mg kg}^{-1}$ no final.

Tabela 2. Valores médios (mg kg^{-1}) de Cd, Pb, Cr e Índice de Poluição por Metais (MPI) para o solo e sedimento coletados no início e no final do cultivo de juvenis de tilápia do Nilo e, limites estabelecidos pelo CONAMA Nível 1 e Nível 2 (BRASIL, 2004)

Solo	Cd		Pb		Cr		MPI	
Tratamentos	F=0,61	p=0,61	F=1,54	p=0,22	F=0,48	p=0,69	F=1,21	p=0,32
Isento	2,50		62,00		21,20		14,02	
Ração+B. cereus	2,70		65,10		17,20		14,47	
Ração+B. subtilis	2,60		59,70		19,40		13,96	
Ração+B. cereus+B. subtilis	2,40		53,70		16,20		12,03	
Época	F=0,00	p=1,00	F=32,13	p=0,001	F=1,55	p=0,22	F=6,01	p=0,02
Início	2,55		49,10 b		18,60		12,47 b	
Final	2,55		71,15 a		18,40		14,77 a	
Tratamento x Época	F=0,73	p=0,54	F=1,71	p=0,18	F=0,94	p=0,43	F=0,83	p=0,48
CV(%)	7,22		20,45		21,97		5,60	
Solo e sedimento								
Tratamentos	F=1,17	p=0,33	F=1,37	p=0,27	F=0,33	p=0,63	F=1,57	p=0,21
Isento	2,70		81,90		25,30		17,59	
Ração+B. cereus	2,80		78,80		25,20		17,59	
Ração+B. subtilis	2,60		72,60		21,40		15,69	
Ração+B. cereus+B. subtilis	2,40		68,90		24,80		15,65	
Local	F=0,90	p=0,34	F=3,06	p=0,09	F=1,55	p=0,02	F=17,65	p=0,002
Sedimento	2,70		79,95		29,95 a		18,49 a	
Solo	2,55		71,15		18,4 b		14,77 b	
Tratamento x local	F=0,37	p=0,77	F=1,33	p=0,28	F=0,83	p=0,52	F=1,22	p=0,31
CV(%)	7,22		20,45		21,97		5,60	
CONAMA Nível 1	0,60		35,00		37,30		-	
CONAMA Nível 2	3,50		91,30		90,00		-	

Médias, seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; CV, coeficiente de variação; F, F calculado; p, probabilidade.

Os teores de Cr não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre as combinações de ração e probiótico (Tabela 2). Porém, o teor deste metal no sedimento da caixa de coleta foi maior que o encontrado no solo, comprovando que pode ter ocorrido acúmulo proveniente de alguma fonte de poluição difusa durante o cultivo.

O Índice de Poluição por Metal encontrado no sedimento no final do cultivo foi de 18,49 (Figura 3B), representando um aumento de 100% de metais neste local. Houve maior retenção de metais no sedimento da caixa de coleta em relação ao solo. O MPI do solo no final do cultivo foi 18,4% maior que o observado no solo do início do experimento, conferindo que ocorreu acúmulo de metais durante o cultivo destes juvenis.

O fundo de alvenaria da caixa de coleta pode ter influenciado na retenção e nos maiores

teores de metais pesados neste local, enquanto que, os metais presentes no solo podem ter lixiviado, e estarem presentes em faixas mais aprofundadas que as observadas neste trabalho.

A adição de probióticos não influenciou a bioacumulação de metais pesados tóxicos nos juvenis estudados, bem como, não influenciou a retenção de metais no solo e sedimento da caixa de coleta dos viveiros. Entretanto, mesmo que não tenha sido realizada análise da água do cultivo, em decorrência de ser esta uma fonte não pontual e difusa, os probióticos podem ter melhorado a dinâmica de nutrientes e a qualidade da mesma. A ação comprovadamente benéfica dos probióticos em converter a matéria orgânica em dióxido de carbono, reduz os níveis de nitrato e nitrito nos viveiros e a descarga de nitrogênio nos efluentes da piscicultura (MOHAPATRA et al., 2013). Neste âmbito,

somente a melhoria na qualidade da água já torna favorável à utilização de probióticos em viveiros de tilapicultura.

Os resultados deste estudo inferem ainda, à necessidade de cuidados concernente à saúde pública e ambiental, em função do potencial de toxicidade dos elementos cujos níveis mostraram-se elevados no músculo dos juvenis. Acredita-se que sua origem esteja relacionada com resíduos da atividade agropecuária ou processos geológicos naturais e, são sugeridas pesquisas futuras que possam quantificar possíveis fontes poluidoras

destes metais, bem como o monitoramento da qualidade da água da bacia hidrográfica local.

CONCLUSÃO

A adição de probióticos na ração não influencia a bioacumulação de Cd, Pb e Cr nas brânquias, fígado, filé, pele e carcaça dos juvenis de tilápia do Nilo, bem como na retenção destes metais no solo e no sedimento da caixa de coleta dos viveiros.

ABSTRACT: The study aimed to monitor the bioaccumulation of Cd, Pb and Cr in the Nile tilapia and sediment retention in the collection box in the ground and nursery with administration of probiotics in the ration. The diet consisted of commercial pelleted ration to fingerlings and probiotics included in the diet using 2% vegetable oil, constituting of: diet free of probiotics (Exempt); ration + 0.5% *B. cereus* var. *Toyoi* (ration + *B. cereus*); ration + 0.5% *B. subtilis* C-3102 (ration + *B. subtilis*); ration + 0.25% *B. cereus* var. *Toyoi* + 0.25% *B. subtilis* C-3102 (ration + *B. cereus* + *B. subtilis*). Samples of ration, filet, skin, gills, liver, carcass, soil and sediment of the collection box of the ponds were performed for the determination of toxic heavy metals by nitro perchloric digestion, and atomic absorption spectrometry. There was no significant difference ($p>0.05$) observed in the levels of metals in the tissues analyzed for juveniles fed different combinations of probiotic and ration. Lead levels in the filet were greater than recommended by law. Levels of Cr were detected only in the skin of the juveniles. The level of the Pb content of soil at the end of cultivation (71.15 mg kg^{-1}) was higher ($p<0.05$) than that found initially (49.10 mg kg^{-1}) and the Cr in the sediment of the collection box (29.95 mg kg^{-1}) were greater ($p<0.05$) than that found in the soil (18.4 mg kg^{-1}). The addition of probiotics has no effect on the bioaccumulation of metals in juveniles, and on the retention in the soil and sediment.

KEYWORDS: *Bacillus cereus*. *Bacillus subtilis*. Cages. Juvenile. *Oreochromis niloticus*.

REFERÊNCIAS

- AOC - ASSOCIATION OF OFFICIAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Maryland: AOAC, 2005.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, nov. 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 1998.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 344, de 25 de março de 2004. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 2004.
- CAMPOS, A. E. L.; NUNES, G. S.; OLIVEIRA, C. S.; TOSCANO, I. A. S. Avaliação da contaminação do Igarapé do Sabino (Bacia do Rio Tibiri) por metais pesados, originados dos resíduos e efluentes do Aterro da Ribeira, em São Luís, Maranhão. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 960-964, fev. 2009.
- DURAL, M.; GOKSU, M. Z. L.; OZAK, A. A. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. **Food Chem.**, Berlin, v. 102, n. 1, p. 415-421, 2007.
- EISLER, R. Lead hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. **U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.**, Washington, v. 85, p. 1-14, abr.1988.

EISLER, R. Cadmium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. **U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.**, Washington, v. 2, p. 1-30, jul. 1985.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Report on a Regional Study and Workshop on the Environmental Assessment and Management of Aquaculture Development**, FAO, 1992.

HAMMONS, A. S.; HUFF, J. E.; BRAUNSTEIN, H. M. DRURY, J. S.; SHRINER, C. R.; LEWIS, E. B. WHITFIELD, B. L.; TOWILL, L. E. Reviews of the environmental effects of pollutants: IV cadmium. **U.S. Environ. Protection Agency**, Cincinnati, v. 600, n. 1-7, p. 8-26, 1978.

KARGIN, F. Seasonal changes in levels of heavy metals in tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* collected from Iskenderun Gulf (Turkey). **Wat. Air Soil Poll.**, Dordrecht, v. 90, n. 3-4, p. 557-562, ago. 1996.

MARENGONI, N. G.; POSSAMAI, M.; GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; OLIVEIRA, A. A. M. A. Performance e retenção de metais pesados de juvenis de tilápia do Nilo em hapas. **Acta Sci. Anim. Sci.** Maringá, v. 30, n. 3, p. 351-358, jul./set. 2008.

MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P.; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 36, p. 359, mar. 2013.

MOHAPATRA, S.; CHAKRABORTY, T.; KUMAR, V.; DEBOECK, G.; MOHANTA, K. N. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, v. 97, n. 3, p. 405-430, jun. 2013.

MOKHTAR, M. B.; ARIS A. Z.; MUNUSAMY, V.; PREVEENA, S. M. Assessment level of heavy metals in *Penaeus monodon* and *Oreochromis* sp. in selected aquaculture ponds of high densities development area. **Eur. J. Sci. Res.**, London, v. 30, p. 348-360, mai. 2009.

NAYAK, S. K. Probiotics and immunity: A fish perspective. **Fish Shellfish Immunol.**, London, v. 29, n. 1, p. 2-14, jul. 2010.

PORTO, L. C. S.; ETHUR, E. M. Elementos traço na água e em vísceras de peixes da Bacia Hidrográfica Butuí-Icamaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2512-2518, out. 2009.

SAHU, M. K.; SWARNAKUMAR, N. S.; SIVAKUMAR, K.; THANGARADJOU, T.; KANNAN, L. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. **Indian J. Microbiol.**, Calcutta, v. 48, n. 3, p. 299-308, set. 2008.

SANTANA, G. P.; BARRONCAS, P. S. R. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus - (AM). **Acta Amaz.**, Manaus, v. 37, n. 1, p. 111-118, jan./mar. 2007.

SAS - **Statistical Analysis System**. Versão 8.0. Cary: SAS Institute, 1999.

TÜRKMEN, A.; TÜRKMEN, M.; TEPE, Y.; AKYURT, I. Heavy metals in three commercially important fish species from Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. **Food Chem.**, Berlin, v. 91, n. 1, p. 167-172, jun. 2005.

USERO, J.; GONZALEZ-REGALADO, E.; GRACIA, I. Trace metals in the bivalve mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. **Marine Poll. Bull.**, Oxford, v. 32, n. 3, p. 305-310, mar. 1996.

USERO, J.; IZQUIERDO, C.; MORILLO, J.; GRACIA, I. Heavy metals in fish (*Sole vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on southern Atlantic coast of Spain. **Environ. Int.**, New York, v. 29, n. 7 p. 949-956, jan. 2004.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food safety issues associated with product from aquaculture. **Technical Report Series**, 1989.