

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

EFEITO DA MANIPUEIRA NO CONTROLE DE
PREDADORES DA CARCINICULTURA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.

Elvídio Landim do Rêgo Lima.

Dissertação apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará como parte das exigências para
obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

FORTALEZA - CE
NOVEMBRO - 1995.

BSLCM

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L697e Lima, Elvídio Landim do Rêdo.
Efeito da manipueira no controle de predadores da carcinicultura em condições de laboratório / Elvídio Landim do Rêdo Lima. – 1995.
28 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 1995.
Orientação: Profa. Dra. Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira.

1. Camarões. 2. Cianetos . I. Título.

CDD 639.2

ORIENTADORA:

Profa. Dra. Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira
Profa. Adjunto (Presidente)

Prof. José Jarbas Sturdart Gurgel
Prof. Adjunto.

Prof. José William Bezerra e Silva
Prof. Adjunto.

VISTO:

Prof. Luiz Pessoa Aragão, M. Sc.
Prof. Adjunto (Chefe de Departamento).

Prof. José Wilson Calíope Feitosa, M. Sc.
Prof. Adjunto (Coordenador de Graduação).

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Inês Clébia A. Landim e Mauro A. de Albuquerque, e a meu irmão Luiz Eduardo A. Landim, pela descoberta que sempre se pode melhorar...

À Profa. Dra. Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira pelo crédito e oportunidade a mim conferidos, bem como ao prazer de se trabalhar com um ser humano justo e atencioso.

Ao Prof. Dr. José Júlio da Ponte do Departamento de Fitotecnia, por sua valiosa contribuição principalmente por me possibilitar o acesso aos seus trabalhos.

A todos os amigos do Laboratório de Ciências do Mar, especialmente aos do setor de Oceanografia Biótica, entre eles, os Engenheiros de Pesca Alberto Jorge Pinto Nunes, Francisco de Assis Pereira e Maria Odete Parente Moreira, a agrônoma Norma Pinheiro Dantas e ao biólogo Wilson Franklin Junior pela atenção, incentivo, e por serem referências para os mais novos.

Ao Francisco Ferreira Feitosa pela sua boa vontade.

À Profa Maria Goretti de Vasconcelos Silva do Departamento de Química Analítica e Físico-química por ter me recebido com simpatia, e muito me ajudado neste trabalho.

À assistente de laboratório Rozelúcia Barroso de Almeida, do mesmo Departamento, que sempre se dispôs a me ajudar com muita amizade.

Aos amigos do Laboratório de Alimentos do NUTEC que sempre me receberam muito bem.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, sempre muito atenciosos.

Especialmente a DEUS que me deu luz para que eu aprendesse a vencer as dificuldades imposta pela vida, e me sentir cada vez mais forte diante delas.

Obrigado!

RESUMO

A manipueira é um suco leitoso obtido por compressão durante o processamento da mandioca (*Manihot esculenta* Grantz), de elevada carga cianogênica. Com o objetivo de testar sua utilização no controle de predadores, procurou-se conhecer a concentração de sua carga cianogênica, através do método de Harris (1970) modificado. Visando um melhor entendimento da metodologia, foram feitas análises de cianeto em uma solução de KCN para se avaliar o ponto de equivalência entre a prata (Ag^+) e o cianeto (CN), e verificar se ocorriam perdas durante a destilação.

A manipueira fresca foi analisada, obtendo-se um valor inicial de 28,732 mg CN /100 ml. Dividiu-se a amostra em volumes iguais, sendo uma sub-amostra estocada à temperatura ambiente (I) e outra sob refrigeração (II). Quinzenalmente, durante 60 dias, foram feitas análises nas duas sub-amostras. Como resultado verificou-se que a sub-amostra II perdeu pouca carga cianogênica quando comparada a sub-amostra I. Ao final do período, a sub-amostra I revelou uma perda de 65,44%, enquanto a sub-amostra II revelou 17,32% de perdas.

Testes de toxidez do potencial cianogênico da manipueira em mg.CN/l.(mg/l), foram realizados com o sirí *Callinectes ornatus* e o peixe *Pomadasys corvinaeformis* (predadores), e o camarão *Penaeus subtilis*, espécie mais cultivada no Nordeste do Brasil. As concentrações testadas variaram de 0,025 a 0,8 mg/l. Os resultados obtidos indicaram uma CL_{50} de 0,4 mg/l em 24 horas para *C. ornatus*, 0,20 mg/l em 12 horas para *P. subtilis* e 0,10 mg/l em 6 horas para *P. corvinaeformis*. Diante dos resultados verifica-se que os siris são os mais resistentes à ação desta substância tóxica.

1. INTRODUÇÃO.

O controle de organismos indesejáveis à carcinicultura marinha, é essencial para o seu sucesso. Estes organismos competem por espaço e alimento e muitos são predadores naturais dos camarões como os peixes carnívoros e os siris. Tradicionalmente, esse controle é feito através do uso da rotenona. Contudo, por uma série de motivos, a oferta deste produto caiu no mercado, resultando no aumento de seu preço e conseqüentemente onerando os custos de produção dos camarões cultivados. Uma alternativa que vem sendo muito utilizada é a administração de cloro, após a despesca dos camarões, com a finalidade de eliminar os organismos indesejáveis à carcinicultura. Porém essa administração é realizada de forma indiscriminada, podendo causar problemas. Uma vez que, predadores e competidores têm que ser combatidos, sob pena de causar graves prejuízos, investiga-se uma alternativa para substituição total ou parcial da rotenona.

A manipueira é um suco leitoso obtido por compressão durante o processamento da mandioca (*Manihot esculenta* Grantz.), que tem sido usada esporadicamente e de maneira empírica em alguns cultivos, como forma de controle de inimigos naturais.

Considerando o acima referido, o presente estudo teve três objetivos: 1- determinar a concentração do componente tóxico presente na manipueira, no caso os cianetos; 2- testar condições de estocagem para a manipueira; 3 - submeter peixes, siris e camarões a diferentes concentrações de cianeto presentes na manipueira, visando traçar curvas de toxicidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA.

Estima-se que cerca de 500 milhões de pessoas consomem regularmente, a mandioca em todo o mundo. A sua cultura, ocupa o quarto lugar em área plantada, sendo cultivada em aproximadamente 90 países. Da produção mundial, 80% é fornecida por 10 países, sendo que o Brasil é um dos maiores produtores, colhendo 31% de toda a mandioca consumida no mundo (Diaz, 1985).

No Brasil, a mandioca é cultivada em aproximadamente dois milhões de hectares, ocupando o nono lugar entre as outras lavouras. A produção anual de 1991 foi de 24.311.024 toneladas tendo contribuído substancialmente para a composição da renda nacional (IBGE, 1992).

A mandioca é de origem americana, sendo considerada, por alguns, como nativa da América do Sul, tendo como pátria a região tropical do Brasil (Prata, 1983).

A cultura da mandioca se adapta a solos pobres, tolera razoavelmente condições irregulares de chuva, como as do Nordeste do Brasil e pode ser produzida usando somente os fatores terra e trabalho como insumos (SPPR, 1974).

Segundo Nartey (1968), uma das principais características da mandioca é a síntese e acumulação de materiais cianogênicos em seus tubérculos comestíveis.

Segundo Santos (1980), alguns botânicos classificam a mandioca em duas espécies distintas *Manihot utilissima* Pohl (amarga), e *Manihot dulcis* Pax (mansa) de acordo com a presença em maior ou em menor grau de glicosídeos cianogênicos. A mesma autora também reporta, que o conteúdo tóxico da mandioca não está somente associado ao fator genético, podendo variar com a composição do solo, idade das plantas, o tamanho das raízes e especialmente o clima, porém os elementos não atuam isoladamente e sim estão interrelacionados.

Na mandioca estão presentes dois glicosídeos cianogênicos: a linamarina e a lotaustralina, ambos derivados de aminoácidos protéicos e tendo como precursores, respectivamente a L-valina e a L-isoleucina. Sendo a cianogênese, na planta, resultante das hidrólises dos referidos glicosídeos, catalisada pela enzima linamarase (Nartey, 1978).

De acordo com Fernandes (1987), os glicosídeos e as enzimas envolvidas no processos encontram-se em células diferentes, na mesma planta. A linamarina pode ser naturalmente inócua, mas devido a ação de agentes hidrolizantes, há formação de substâncias diferentes ($C_{10}H_{17}O_6N + H_2O = C_6H_{12}O_6 + CH_3CO-CH_3 + HCN$).

Gomez *et al.* (1982), afirmam que o contato dos glicosídeos com a enzima ocorre quando a planta sofre danos mecânicos. Segundo os mesmos autores, há duas formas de HCN nas raízes e em outras partes da mandioca: HCN livre (10 a 15%) e o HCN combinado (85 a 90%), este constitui parte de um glicosídeo cianogenético referido como linamarina ($C_{10}H_{17}O_6N$).

A linamarina foi primeiramente isolada com o nome de phaseolunatin, pois foi extraída de *Phaseolus lunatus* L. por Dunstan & Henry (1903). Só posteriormente foi encontrada na mandioca por Dunstan *et al.* (1906). Segundo estes autores a linamarina (2 (B-D-Glucopyranosyloxy) Isobutyronitrile) ocorre praticamente sozinha na mandioca.

Collard & Levi (1959) purificaram e isolaram a linamarina do "suco" da mandioca e reportaram que se hidrolizava espontaneamente.

Segundo Fernandes (1987), no caso de intoxicação por plantas cianogênicas ou seus derivados, devem ser empregadas substâncias que se combinem com HCN e sejam capazes de formar compostos não tóxicos. Sabe-se que os glicosídeos cianogenéticos devem sua toxidez ao radical cianeto (CN⁻), que combinando-se com enzimas oxidantes celulares (ex. citocromoxidase), impede o aproveitamento do oxigênio pelos tecidos, determinado asfixia interna, por não ocorrer a hematose. Os animais monogástricos são mais sensíveis que os poligástricos, cujas peculiaridades do tubo digestivo (fermentação microbiana do rúmem e eructação) favorecem a eliminação do veneno ou sua neutralização.

Segundo Cereda & Fioretto (1982), o líquido residual de fecularias pode ocasionar sérios problemas ecológicos, dado ao seu elevado poder poluente, já que contém farto material cianogênico, não devendo ser despejado em cursos de água, sob pena de causar mortalidade em animais aquáticos.

Teles (1987) reporta que a liberação do HCN por aquecimento é viável, porém a liberação por refrigeração é duvidosa. Em experimento, verificou-se que o teor de HCN sob refrigeração se manteve praticamente inalterado pelo prazo de uma semana, quando analisado diariamente.

Ponte & Franco (1983) reportaram que a manipueira estocada em baldes de plásticos destampados à temperatura ambiente, pode ser usada como nematicida até após cinco dias da coleta, contudo melhores resultados foram obtidos com estocagem de até 3 dias.

Ponte *et al.* (1979) reportaram que na administração de manipueira, de mandioca brava com mandioca mansa, em doses crescentes (0, 500, 750 e 1000ml)

em 6 litros de solo envasado, obtiveram decrescentes percentagens de plantas de quiabo *Hibiscus . esculentus* L. atacadas (100, 60, 50 e 30%) por *Meloidogyne* spp.

Ponte *et al.* (1981) obtiveram 0% de plantas atacadas por *Meloidogyne* ssp, quando 6 litros de solo envasado foi tratado com 1000ml de manipueira de mandioca brava.

Sena & Ponte (1982) aplicaram manipueira em uma cultura de cenouras (*Daucus. carota*) e obtiveram uma produção 100% superior àquela observada em canteiros não tratados.

Ponte & Franco (1983) constataram um decréscimo populacional de rizóbios inversamente proporcional a quantidade de manipueira incorporada ao solo.

Franco (1986) comprovou haver um efeito residual fitotóxico, no tratamento do solo com manipueira, que persiste por alguns dias; necessitando de um período de carência de 18 a 21 dias para posterior plantio.

Franco & Ponte (1988) reportaram que a manipueira presta-se como fertilizantes, aumentando substancialmente os níveis de macronutrientes do solo, especialmente potássio, nitrogênio e magnésio.

Segundo Dixon & Ledug (1981), em todas as concentrações de cianeto a que truta arco-íris foi submetida, houve uma alta repressão inicial da taxa de crescimento específico, seguido por um aumento significativo, o qual foi insuficiente para compensar a repressão inicial. Esse aumento, somente pode ter ocorrido devido uma acentuada eficiência na conversão alimentar, possibilitada por um alto metabolismo oxidativo, ligado à desintoxicação do cianeto através da rhodanase, que tem sido identificada em muitos animais, incluindo truta arco-íris. Esta enzima , em sua maior parte se encontra presente no fígado e transforma cianeto em tiocianato, que é muito menos tóxico, sendo então eliminado. O significado das respostas respiratórias dos animais expostos com relação aos animais controle, não é clara em peixes, mas ilustra efeitos duradouros do cianeto. Exames histopatológicos do fígado demonstram ser um dos mais sensíveis e significantes indicadores do envenenamento crônico de truta arco-íris por CN⁻, pois em todas as concentrações, necroses degenerativas de hepatócitos foram observadas. Considerando os numerosos processos metabólicos dirigidos pelo fígado, não é surpresa que peixes intoxicados com cianeto mostrem a substancial redução no crescimento reportada. Não seria somente a habilidade do fígado para suprir os produtos do metabolismo intermediário ser limitado, mas poderá ser também um decréscimo na capacidade do fígado de eliminar produtos residuais gerados durante períodos de alta atividade metabólica.

Cheng *et al.* (1981), destacou a alta sensibilidade de embriões do "flagfish" (*Jordanella floridae*), e sugere que temperaturas mais elevadas tem um maior efeito sobre o sucesso de eclosão e sobrevivência dos alevinos, após uma exposição a cianeto de hidrogênio na fase embrionária. O atraso no surgimento da maturidade sexual de indivíduos expostos ao HCN quando embriões, pode ser devido a redução do tamanho das glândulas pituitárias causada pelo cianeto de hidrogênio. Uma redução do volume da glândula produtora de hormônios gonadotróficos pode conseqüentemente, alterar os níveis de hormônios na circulação e atrasar o tempo da maturidade sexual.

Segundo Heming (1985), a conversão endógena de tiocianato para cianeto foi detectada em trutas expostas; a taxa de equilíbrio molar de SCN^- para HCN no sangue foi de aproximadamente 664:1. O tiocianato entra no meio aquático diretamente como SCN^- e indiretamente como produto do metabolismo do cianeto. Conversões endógenas de cianeto para tiocianato, é o principal caminho para desintoxicação do cianeto em muitos animais. Isso não significa, contudo, que o tiocianato não é tóxico. A toxidez do tiocianato pode ser influenciada pela freqüência com que os peixes foram estressados. A truta arco-íris elevou e acumulou quantidades significantes de SCN^- quando exposta ao tiocianato. Isso foi acompanhado por um decréscimo de cloro no plasma sangüíneo, mas não teve nenhum efeito sobre o pH e o conteúdo total de CO_2 . A taxa no qual tiocianato foi acumulado no plasma foi uma função da concentração de exposição e do tamanho do peixe. Em todas as concentrações de exposição, peixes menores acumularam tiocianato mais rapidamente que os peixes maiores. Além da excreção do SCN^- por via urinária, tiocianato pode ter sido excretado via brânquias.

A dose mínima letal de tiocianato de sódio varia com diferentes animais, mas é usualmente referido em ser aproximadamente 500mg por quilograma de peso do corpo (Garvin, 1939).

3. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CIANETO (CN).

3.1.1 NA SOLUÇÃO DE KCN.

Para a realização dos testes de toxicidade, foi necessário se conhecer previamente a concentração do agente tóxico (CN) presente no material de ensaio. Para isto, escolheu-se o método de Harris (1970), adaptado a nossa realidade. Para o domínio do ponto de equivalência entre a prata (Ag^+) e o cianeto (CN), resolveu-se trabalhar com cianeto de potássio (KCN-Roche) para análise. Para tal, foi pesado com exatidão 3,5g. de KCN, previamente dessecado dentro de um frasco de pesagem com rolha de vidro, em dessecador com sílica gel. O KCN foi dissolvido com água destilada, em um frasco de Becker e a seguir completou-se o volume para 250ml em um balão volumétrico. Após a solução ser muito bem agitada, utilizou-se uma bureta de 25ml para transferir cinco alíquotas deste volume para cinco frascos de Erlenmeyers, cada um contendo 10ml de KOH 2%. A seguir adicionou-se em cada frasco de Erlenmayer, 2ml de KI 5% (indicador) mais 5 a 6ml de NH_3OH (6N), e elevou-se o volume para 200ml com água destilada. A titulação foi feita com $AgNO_3$ (0,0500N) até a obtenção da primeira turbidez permanente, melhor observada sobre um fundo preto. Os resultados das titulações foram submetidos ao teste estatístico "Q" para avaliar a dispersão entre os resultados e rejeitar algum dado disperso. Dos resultados aceitos pelo teste, tirou-se uma média e calculou-se a massa do cianeto presente na "alíquota" de 25ml. Paralelamente, para se avaliar alguma perda pelo sistema de destilação, transferiu-se, como acima, cinco alíquotas da mesma solução de KCN para cinco balões de Kjeldahal de 800ml, onde foram adicionados 175ml de água destilada e a seguir colocados em um destilador macro Kjeldahal. O destilado foi recebido em frascos de Erlenmeyers de 250ml contendo 10ml de KOH 2% até o volume de 150ml; onde foi adicionado 2ml de KI 5% e 5 a 6ml de NH_3OH (6N), elevando-se o volume para 200ml com água destilada. Titulou-se como acima. Após submeter os resultados ao teste "Q"; calculou-se a massa de cianeto presente na "alíquota" destilada. As médias das titulações, nas duas situações reportadas acima, foram submetidas ao teste estatístico "T" de Student (diferença de duas médias) para se avaliar o sistema de destilação.

3.1.2 NA MANIPUEIRA.

Concluída a etapa anterior, foram iniciadas as análises da manipueira. Com este objetivo, uma amostra de manipueira foi coletada em uma casa de farinha no município de Horizonte-CE., durante o processamento da mandioca (variedade bujá preta). O material foi transportado para o laboratório em recipiente plástico livre de qualquer resíduo. A amostra foi analisada com base na técnica de Harris (1970) com algumas modificações. Alíquotas de 25ml foram pipetadas para balões de Kjeldahal de 800ml, e a cada balão foi adicionado 175ml de água destilada; e a seguir foram colocados sob destilação. O destilado foi então recebido em frascos de Erlenmeyers de 250ml, contendo 10ml de KOH 2% até aproximadamente 150ml (1 hora de destilação). Em seguida, foi adicionado ao destilado 2ml de KI 5% (indicador) mais 5 a 6ml de NH₃OH (6N), sendo então o volume elevado para 200ml com água destilada. A titulação foi realizada com AGNO₃ (0,0500N), como referido anteriormente, e os resultados submetidos ao teste estatístico "Q". Por fim, foi calculada a massa de cianeto presente na "alíquota" de 25ml de manipueira. Após a análise inicial, a amostra foi dividida em volumes iguais, em duas garrafas plásticas semelhantes. Sendo que uma garrafa foi estocada à temperatura ambiente (sub-amostra I), e a outra estocada sob refrigeração (sub-amostra II). Periodicamente as sub-amostras foram analisadas, e calculadas suas concentrações de cianeto, objetivando avaliar a influência das duas condições de estocagem sobre a concentração de cianeto e determinar um tempo de estocagem satisfatório para o uso do material.

As análises químicas foram realizadas em três laboratórios: Laboratório da química analítica, Laboratório de Alimentos do NUTEC e Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da U.F.C.

3.2. BIOENSAIOS DE TOXIDEZ (96 h).

Os bioensaios de toxidez foram realizados com siris da espécie *Callinectes ornatus*, camarões da espécie *Penaeus subtilis* e peixes da espécie *Pomadasys corvinaeformis*. Parte dos camarões utilizados nos bioensaios foram coletados nos viveiros da fazenda ARTEMISIA AQUICULTURA S/A, localizada no município de Acaraú-CE. Após a captura, os animais foram colocados em sacos plásticos de 90 por 50 cm, numa densidade de 15 indivíduos por saco; contendo 1/3 de água salgada (S = 35‰) e 2/3 de ar comprimido, sendo fechados com ligas de borracha. Estes sacos foram resfriados com pedaços de gelo, protegidos com uma lona e transportados por terra até Fortaleza. Ao chegar ao Laboratório de Ciências do Mar (LABOMAR/UFC.), os sacos plásticos foram colocados dentro dos tanques por 15 minutos para equilíbrio da temperatura da água. Decorrido esse período de tempo, os sacos foram abertos deixando a água dos tanques penetrar lentamente, sendo então feita a liberação dos animais. Os tanques utilizados para aclimação e estocagem eram de cimento amianto com capacidade de 250 litros, 500 litros e 1000 litros, todos com filtro biológico de areia grossa e aeração constante. Os siris, os peixes e parte dos camarões, posteriormente utilizados nos bioensaios, foram coletados por arrasto, na praia do Meireles município de Fortaleza/CE. Os animais foram aclimatizados por um período mínimo de uma semana, antes de serem submetidos aos testes de toxicidade, sendo alimentados diariamente com peixes, moluscos, crustáceos ou ração.

Antes do início de cada bioensaio de toxidez, foi efetuada a análise da amostra de manipueira segundo a técnica anteriormente descrita. De posse da concentração de cianeto por ml de amostra, calculou-se o volume da concentração experimental desejada através de uma regra de três simples.

Os camarões foram submetidos a 0,025 mg/l; 0,05 mg/l; 0,1 mg/l; 0,15 mg/l; e 0,2 mg/l, os siris submetidos a 0,025 mg/l; 0,05 mg/l; 0,1 mg/l; 0,2 mg/l; 0,4 mg/l; e 0,8 mg/l e os peixes submetidos a 0,025 mg/l; 0,05 mg/l; 0,075 mg/l e 0,1 mg/l. Vinte quatro horas antes de se iniciar um bioensaio os animais deixavam de ser alimentados. Cada espécie foi testada separadamente, em sete aquários de dez litros a uma densidade experimental de dois animais por aquário, sendo dez animais teste e quatro controle. Em todos os teste de toxicidez, os aquários foram cobertos com plástico escuro para diminuir o stress sofrido pelos animais, causado pela circulação de pessoas no laboratório. Todos os aquários foram aerados. Uma hora antes de se introduzir os animais, colocava-se a manipueira no volume determinado, segundo a concentração

desejada. Agitava-se a água do aquário com um bastão de vidro para melhor homogeneização. As observações se realizaram de 15 em 15 minutos durante a primeira hora da introdução dos animais, 3 h após a introdução dos animais, 6 h, 12 h, e a cada doze horas até morrer pelo menos 50% dos animais ou se atingir 96 h de trabalhos experimentais. Durante as observações se quantificava, se pesava, e se media os animais mortos usando uma balança semi-analítica (OHAUS-precisão standart) com três casas decimais, e um paquímetro de aço com 0,05mm de precisão. Também, anotava-se o comportamento dos animais vivos. Diariamente foram monitorados a temperatura, através de um termômetro com bulbo de mercúrio e escala variando de -10 à 110°C, e a salinidade através de um refratômetro de mão da marca Atago. O oxigênio não foi monitorado devido os teste de toxicidade terem sido realizados sob aeração contínua; e o pH foi monitorado no início e no final de cada experimento por meio de um potenciômetro da marca Micronal. Ao final de cada teste se pesava e media os animais sobreviventes, como acima referido, sendo estes descartados. Se calculou média, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros biométricos (peso e comprimento total) para todos os três grupos de organismos, bem como dos parâmetros de qualidade da água (T°C, S‰ e pH) dos bioensaios a que estas espécies foram submetidas.

O intervalo de confiança, utilizando o método do ponto médio móvel, para os testes de toxicidade é de 95%. Sendo o nível de confiança para as concentrações que produziram mortalidade > 0% e < 100% igual a 95,0% quando se utilizam pelo menos 5 animais por bioensaio, e igual a 99,0% quando se utilizam dez animais por teste (Ward, 1982).

$$NC = 100[1-2(1/2)^N],$$

onde:

NC é o nível de confiança

N é o número de organismos

Os dados resultantes dos testes foram utilizados na elaboração de tabelas e gráficos, alguns gráficos envolvendo linhas de regressão (linear ou polinomial). Para elaboração dos gráficos foi utilizado o programa de planilhas do Microsoft Excel versão 5.0. A redação e as tabelas foram confeccionadas no Microsoft Word versão 6.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

4.1. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CIANETO (CN).

4.1.1 NA SOLUÇÃO DE KCN.

A utilização da solução de KCN com os objetivos de determinar o ponto de equivalência entre a AG^+ (prata) e o CN⁻ (cianeto), e verificar se ocorriam perdas pelo sistema de destilação foi bastante elucidativa, pois a média dos valores da situação "A" (alíquotas apenas tituladas) não diferiu significativamente da média dos valores da situação "B" (alíquotas destiladas e tituladas), quando submetidas à avaliação pelo teste "T" de Student (diferença de duas médias) aos níveis de confiança para $\alpha = 0,05$ e $\alpha = 0,01$ (Tabela.1).

4.1.2. NA MANIPUEIRA.

O experimento de estabilidade da manipueira estocada sob temperatura ambiente (sub-amostra I), e sob refrigeração (sub-amostra II), durante um período de 60 dias, com análises quinzenais, revelou uma sensível diferença na concentração de cianeto entre as duas sub-amostras. A análise inicial da amostra fresca revelou uma concentração de 28,732 mg CN/100ml. No decorrer das análises verificou-se que a concentração de CN⁻ na sub-amostra I caiu bastante, quando comparada com a concentração da sub-amostra II. Após 60 dias, a sub-amostra I revelou uma concentração de 9,86 mg CN/100 ml de manipueira, valor este equivalente a 34,56% do valor inicial; correspondendo a uma perda de 65,44% durante todo período teste. A sub-amostra II, ao final dos 60 dias, revelou uma concentração de 23,59 mg CN/100 ml de manipueira, que correspondeu a 82,68% do valor inicial; com apenas 17,32% de perdas. Os resultados das titulações, de cada análise quinzenal, foram submetidos ao teste estatístico "Q", para se avaliar a dispersão entre os valores obtidos. Dos resultados aceitos pelo teste "Q", em cada análise, se calculou a média, o desvio padrão dos valores das titulações e a respectiva concentração (Tabela 2, Figura 1). O conhecimento do tempo de estocagem se torna importante principalmente para as fazendas de cultivo, que se localizam distante das casas de farinha, pois terão uma margem de segurança na utilização do material sem muitas perdas de qualidade. No caso da refrigeração seria preciso uma estrutura compatível com o tamanho do empreendimento e a forma de gerenciamento do cultivo, podendo se tornar bastante oneroso e até impraticável. Melhor seria a utilização do material fresco que dispensa os custos de conservação, e para isso se poderia ter uma pequena beneficiadora de mandioca de acordo com as necessidades do local.

4.2. BIOENSAIOS DE TOXIDEZ (96 h)

Houve sobrevivência total dos siris nas concentrações de 0,025 mg/l e 0,05 mg/l. Na concentração de 0,1 mg/l houve uma morte com 36 h de exposição. Na concentração de 0,2 mg/l houve uma morte com 6 h, uma com 12 h e uma com 24 h, ou seja 30% de mortalidade. Na concentração de 0,4 mg/l, houve uma morte com 3 hs, uma com 6 h, uma com 12 hs, e duas com 24 h; sendo a CL_{50} em torno de 24 h na concentração de 0,4 mg/l. Na concentração de 0,8 mg/l, houve 3 mortes com 6 h e 7 mortes com 12 h; portanto 100% de mortalidade nessa concentração. Não houve nenhuma perda dos controles, em todos estes experimento (Tabela 3, Figuras 2 e 3).

Os peixes foram submetidos as concentrações de 0,025 mg/l; 0,05 mg/l; 0,075 e 0,1 mg/l. Nas duas primeiras não houve mortalidade. Na concentração de 0,075 mg/l houve uma morte com 3 h e outra com 6 h; portanto 20% de mortalidade. Na concentração de 0,1 mg/l houve 70% de mortalidade, 3 mortes com 3 h, 4 com 6 h. Portanto a CL_{50} ficou em torno de 6 h. Não houve nenhuma perda de indivíduos controle em nenhum dos bioensaios com peixes (Tabela 4, Figuras 4 e 5).

Os camarões tiveram sobrevivência total quando foram submetidos as concentrações de 0,025 mg/l e 0,05 mg/l. Na concentração de 0,1 mg/l houve uma morte com 60 h, correspondendo a 10% de mortalidade nessa concentração. Na concentração de 0,15 mg/l houve uma morte com 6h e uma com 24 h; resultando em 20% de mortalidade. Na concentração de 0,2 mg/l houve 50% de mortalidade, uma morte com 3 h, uma com 6h e 3 com 12h; estando a CL_{50} para os camarões às 12 h nessa concentração. Em todos os experimentos não houve perdas dos indivíduos controle (Tabela 5, Figuras 6 e 7).

Os valores estatísticos dos parâmetros de qualidade da água e dos parâmetros biométricos, para os três grupos de organismos, são apresentados em tabelas (Tabelas 6, 7, 8 e 9).

5. CONCLUSÕES.

Os testes utilizando a solução de KCN não mostraram haver diferenças significativas, aos níveis de confiança de 0,05 e 0,01, quando a média dos valores do tratamento "A" (alíquotas apenas tituladas) e do tratamento "B" (alíquotas destiladas e tituladas) foram submetidas a avaliação pelo teste estatístico "T" de Student (diferença de duas médias). Verificou-se que não havia perdas pelo sistema de destilação.

No teste de estabilidade da manipueira sob duas diferentes condições de estocagem, verificou-se que a sub-amostra II (sob-refrigeração), tem um período de estocagem satisfatório de 60 dias após a coleta do material fresco; bem maior que o da sub-amostra I (à temperatura ambiente) que demonstrou ter um período de estocagem inferior a 30 dias, e com perdas significativas na concentração de cianeto.

Nos bioensaios de toxicidade se verificou que os siris foram os mais resistentes, sendo sua $CL_{50} = 0,4$ mg/l às 24 h., o dobro da dos camarões $CL_{50} = 0,2$ mg/l às 12 h., e mais de quatro vezes maior que a dos peixes $CL_{50} = 0,1$ mg/l às 6 h. do período experimental. Diante disso, a manipueira não poderá ser colocada diretamente no cultivo sob pena de prejuízos na produção dos camarões. O que poderá se feito é a administração do tóxico após a despesca dos camarões, com a finalidade de eliminar os organismos indesejáveis nos viveiros. Sendo um composto de natureza líquida a manipueira tem o inconveniente de ocupar espaço e possuir um peso significativo, seja no transporte ou no armazenamento, já que seriam necessários $1,7617m^3$ de manipueira para eliminar todos os predadores em uma área de 1ha. com lâmina de água de 0,1 metro, levando em consideração a $CL_{50}=0,4$ mg/l dos siris, segundo o presente trabalho. Para diminuir os custos de transporte e conservação da manipueira, seria interessante a implantação de uma casa de farinha que trabalhe de acordo com as necessidades da fazenda, ou procurar formentar a implantação de pequenas casas de farinha nas comunidades próximas às fazendas de cultivo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

(de acordo com a NBR - 6023 da ABNT).

6.1 LITERATURA REFERIDA.

- CEREDA, M. P., FIORETTO, A. M. C. Potencial de utilização da água residual de feculárias. Anais do II Congresso Brasileiro de Mandioca, Cruz das Almas, v 2, p. 174 - 183. 1982.
- COLLARD, P. & LEVI, S. Purification of linamarina. Nature, p. 183 - 620. 1959.
- DIAZ, C. E. O pão cabloco de alimento a combustível. ICONE editorial Ltda, 1985, 66p.
- DIXON, D., LEDUG, G. Chronic cyanide poisoning of rainbow trout and its effects on growth, respiration, and liver histopatology. Arch. Environm. Contam. Toxicol. New York, v. 10, 117-131, 1981.
- DUNSTAN, W.R., HENRY, T. A. Isolation of linamarina by *Phaseolus lunatus* L. proc. R. Soc. v 72, n 285. 1903.
- DUNSTAN, W. R., HENRY, T. A., AULD, S. J. M. Isolation and identification linamarina in cassav tubrs. Proc. R. Soc., v 78, 152p. 1906.
- FERNANDES, Afrânio. Noções de toxicologia e plantas tóxicas. 2ª. ed. Fortaleza, BNB, v 1 e 2, 80 p 1987 (monografias, 20).
- FRANCO, A. Subsídios à utilização da manipueira como nematicida.(tese de Mestrado) Fortaleza, Brasil, Universidade Federal do Ceará. 53p. 1986.
- FRANCO, A., PONTE, J. J. da. Subsídios a utilização da manipueira como nematicida: dosagem e interferência na fertilidade do solo. Soc. Nemat. Brasileira. n. 12, p. 35 - 45, 1988.
- GARVIN, C., F. The fatal toxic manifestations of the thiocyanates. Journal of American Medical Association. Illinois, V. 12, n. 12, p. 1124 - 1127, february 1939.
- GOMEZ, G., SANTOS, J., VALDIVIESO, M. Utilización de raíces y productos de yuca en alimentación animal. In: DOMÍNGUEZ, C. E. ed. yuca: Investigación, producción y utilización. Cali, PNDU / CIAT, 1982. p. 539 - 566.
- HEMING, T., A. Acute toxicity of thiocyanate to trout. American Fisheries Society. Montana, n.114, p. 895 - 905, 1985.
- IBGE. Anuário Estatístico do Brasil, Ministério de Economia, Fazenda e Planejamento, Rio de Janeiro, 520 p, 1992,.
- NARTEY, F. Studies on cassava *Manihot utilissima* Pohl. Phytochemistry, v 7, p. 1307 - 1312, 1968.

- NARTEY, F. *Manihot esculenta* (cassava): cyanogenesis, ultrastructure and seed germination. In: Resúmenes analíticos sobre yuca (*Manihot esculenta* Grantz). Cali, CIAT, v 4, p. 12 - 13. 1978.
- PONTE, J. J. da, TORRES, J., FRANCO, A. Investigações sobre uma possível ação nematicida da manipueira. Fitopatol. Bras., n. 4, p. 431 - 434, 1979.
- PONTE, J. J. da, FRANCO, A. Manipueira, um nematicida não convencional de comprovada potencialidade. Soc. Bras. Nemat., n.5, p. 25 - 33, 1981.
- PONTE, J. J. da, FRANCO, A. Influência da idade da manipueira na preservação do potencial nematicida do composto (nota prévia). Public. Soc. Brasil. Nemat., Piracicaba. p. 237 - 340, 1983.
- PONTE, J. J. da, FRANCO, A. Implicações da manipueira - um nematicida não convencional - sobre a população rizobiana do solo. Soc. Bras. Nemat., n.7, p. 125-128, 1983.
- PONTE, J. J. da, FRANCO, A. Subsídios a utilização da manipueira como nematicida: dosagem e interferência na fertilidade do solo. Soc. Nemat. Brasileira. n. 12, p. 35 - 45, 1988.
- PRATA, F. C. Principais culturas do Nordeste., 2. ed., Mossoró, EDITERRA, V. 2. 1983, 215p.
- CHENG, S., K., RUBY, S., M. Effects of pulse exposure to sublethal levels of hydrogen cyanide on reproduction of american flagfish. Arch. Environm. Contam. Toxicol. New York, v. 10, p. 105-116, 1981.
- SANTOS, Maria auxiliadora dos. Requisitos climáticos da mandioca (*Manihot esculenta* Grantz). Mossoró - RN: Escola Superior de Agricultura de Mossoró / Fundação Guimarães Duque, 1980. p. 14 - 17 (coleção mossoense, série B - 100).
- SECRETARIA DE PLANEJAMENTO DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. Projeto de desenvolvimento de agroindústria no Nordeste do Brasil. Mandioca. Brasília Instituto de Planejamento. IPLAN - Fundação IPEA, 5.3., p.45.
- SENA, E. S., PONTE, J. J. da. A manipueira no controle da Meloidoginose da cenoura. Soc. Bras. nemat., n. 6, p. 95 - 98, 1982.
- TELES, F. F. Técnicas de liberação do HCN e toxidez cianogênica das mandiocas. Inf. Agrop., Belo Horizonte, v 13, n. 145. p. 18 a 22. p. 1987.
- WARD, G. S., P. R. PARRISSH. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 6. Ensayos de toxidade. FAO, Doc. Téc. Pesca, n.185, 25p.1982.

6.2 LITERATURA CONSULTADA.

- A. O. A. C. Official methods of analysis. 17^a. ed. Washington: Association of agricultural chemists, 1950. p. 354 - 355.
- BACCAN, Nivaldo et alii. Química analítica quantitativa elementar. Campinas: Universidade Estadual De Campinas, 1979. p. 16 - 27.
- EPSTEIN, F. H., MAETZ, J., RENZIS, G. de. Active transport of chloride by the teleost gill: Inhibition by thiocyanate. American Journal of Physiology. Massachusetts, v. 224, n. 6, p. 1294 - 1299, June 1973.
- EPSTEIN, F. H., SILVA, P., FORREST, J. N. Chloride transport and its inhibition by thiocyanate in gill of seawater teleosts. Comp. Biochem. Physiol., Salls Bury Cove, v. 52 a, p. 681 - 683, 1975.
- FAO, Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4^a. Base para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO, Doc. Téc. Pesca, n. 160, 34p., 1981.
- FAO / SIDA, 1983. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 9. Análisis de presencia de metales y organoclorados em los peces. FAO, Doc. Téc. Pesca, (212): 35p.
- FEIGL, Fritz, ANGER, Vinzenz. Spot test in inorganic analysis. New York: Elsevier, 1972. p. 344 - 353.
- GUILBAULT, George G., KRAMER, David N. Ultra sensitive, specific method for cyanide using P-nitrobenzaldehyde and O-dinitrobenzene. Analytical Chemistry, v. 38, n. 7, p. 834 - 836, June 1966.
- HARRIS, L. E. Determination of cyanide in plants. in: Nutrition research technics for domestic and wild animals. Utah State University, Logan Utah. p. 4801, 1970.
- HEMING, T. A., BLUMHAGEM, K. A. Factors influencing thiocyanate toxicity in Rainbow trout *Salmo gairdneri*. Bull. Environ. Contam. Toxic. New York. n. 43, p. 363 - 369, 1989.
- HOLLEMAN, L.W.J., ATEN, A. Processing of cassava and cassava products in rural industries. Washington: FAO, 1956. (FAO agricultural development paper, 54).
- KASS, Maria Leonina, ALBUQUERQUE, Milton, CARDOSO, Eloisa M. R. Concentração e métodos de eliminação de ácido cianídrico em folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Grantz) in: Congresso Brasileiro de Mandioca, 1. Cruz das

- Almas -Ba. Anais, Bahia Sociedade Brasileira de Mandioca. 1979. v. 2, p. 127 - 141.
- LEHNINGER, Albert L. Bioquímica. São Paulo: Edgard Blucher, 1976. p.353 - 358.
- MAIA, M. A. F. Subsídios á utilização da manipueira como nematicida. (tese de Mestrada). Fortaleza-Ce., Brasil, Universidade Federal do Ceará. 53p.,1986.
- OHLWEILER, Otto Alcides. Teoria e prática da análise quantitativa inorgânica. Brasília: Universidade de Brasilia, 1968. v. 4, p. 848 -851, 870 - 871, 924 - 925.
- PONTE, J. J. da. Histórico da pesquisas sobre a utilização da manipueira (extrato líquido das raízes da mandioca) como defensivo agrícola. Fitopatologia Venez. v. 05, p. 1 - 5, 1992.
- PONTE, J. J. da, *et al.* Teste preliminar sobre a utilização da manipueira como inseticida. Rev. Bras. Mand., n.7, p. 89 - 90, 1988.
- SANTOS, A. B. C. Investigação sobre a ação fungicida da manipueira no controle de oídio.(tese de Mestrado). Fortaleza-Ce, Brasil, Universidade Federal do Ceará. 34p., 1993.
- SMITH, R. P. Cyanate and thiocyanate: Acute toxicity. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. New Hampshire, v. 142, n. 3, p. 1040 - 1044, mach 1973.
- STANDART Methods for the examination of water an wastewater. 18. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 4 - 32 / 4 - 25.
- TANAKA, Yoshimasa., YAMAMOTO, Setsu. Detection and determination of cyanide ions with mercuric diphenylcarbazide paper. Japan Analyst, v. 9, n.1, p. 8 -12, 1960. In: Analytical Abstracts, Cambridge, v. 8, 1960.(abstr. 4546).
- VOGEL. Análise inorgânica quantitativa. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981. p. 196 - 197, 258.
- WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdow of linamarin from cassava. J. Sci. Fd. Agric., n. 17, p. 85 - 90, 1966.

Tabela.1. Volumes(ml) de AgNO₃, média (ml), variância e desvio padrão das titulação das alíquotas da solução de KCN submetida a dois tratamentos.

Tratamentos	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	μ	S ²	S
A	1,475	1,450	1,500	1,475	1,450	1,470	4,3x10 ⁻⁴	0,0209
B	1,425	1,400	1,450	1,425	1,400	1,420	4,3x10 ⁻⁴	0,0209

Tabela.2. Avaliação quinzenal da concentração de cianeto (mg CN/100ml) e estimativas dos desvios padrões do volume do titulante *, em duas sub-amostras(I e II) de manipueira estocadas sob duas condições de temperatura, durante um período de 60 dias.

Sub-amostr ^s .	DIAS				
	01	15	30	45	60
I	28,732 (0,027) [†]	23,728 (0,025) [†]	16,131 (0,025) [*]	12,130 (0,035) [*]	9,860 (0,021) [*]
II	28,732 (0,027) [*]	26,295 (0,025) [*]	25,593 (0,019) [*]	23,899 (0,080) [*]	23,590 (0,080) [*]

Tabela.5. Registros de mortalidade de *Penaeus subtilis* submetido a diferentes concentrações de cianeto (mg CN/l), em função do tempo de exposição, durante os ensaios de laboratório

Conc. (mg/l)	Mortalidade por tempo de exposição (n° indivíduos/hr.)										
	01	03	06	12	24	36	48	60	72	84	96
0,000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,025	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,050	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
0,150	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,200	0,0	1,0	1,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela.6. Número de observações, média, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros de qualidade da água levantados durante os experimentos de *Callinectes ornatus*.

Parâmetros	n° de obs.	μ	S	C.V
T °C	182	27,5	1,175	4,27
S ‰	182	33,75	0,89	2,65
pH	77	7,61	0,255	3,357

Tab.7. Número de observações, média, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros de qualidade da água levantados durante os experimentos com *P. corvinaeformis*.

Parâmetros	nº de obs.	μ	S	C.V.
T °C	118	27,67	1,36	4,94
S‰	118	34,24	0,63	1,84
pH	56	8,11	0,13	1,71

Tabela.8. Número de observações, média, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros de qualidade da água levantados durante os experimentos de *Penaeus subtilis*.

Parâmetros	nº de obs.	μ	S	C.V.
T °c	175	27,47	1,09	3,96
S‰	175	34,01	0,83	2,44
pH	70	7,83	0,282	3,6

Tabela.9. Número de observações, média, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros biométricos dos indivíduos de *C. ornatus*, *P. subtilis* e *P. corvinaeformis*; submetidos aos experimentos de toxidez.

SSPs	Biometria	n° Observ.	μ	S	C.V
<i>C. ornatus</i>	Wt	84	9,67	3,79	39,27
	Ll	84	42,92	10,99	22,02
	Lt	84	25,32	3,62	14,29
<i>P. subtilis</i>	Wt	70	11,44	5,61	49,07
	Lt	70	108,03	14,31	13,25
<i>P. Covinaef.</i>	Wt	56	11,00	3,6	32,71
	Lt	56	94,23	10,86	11,52

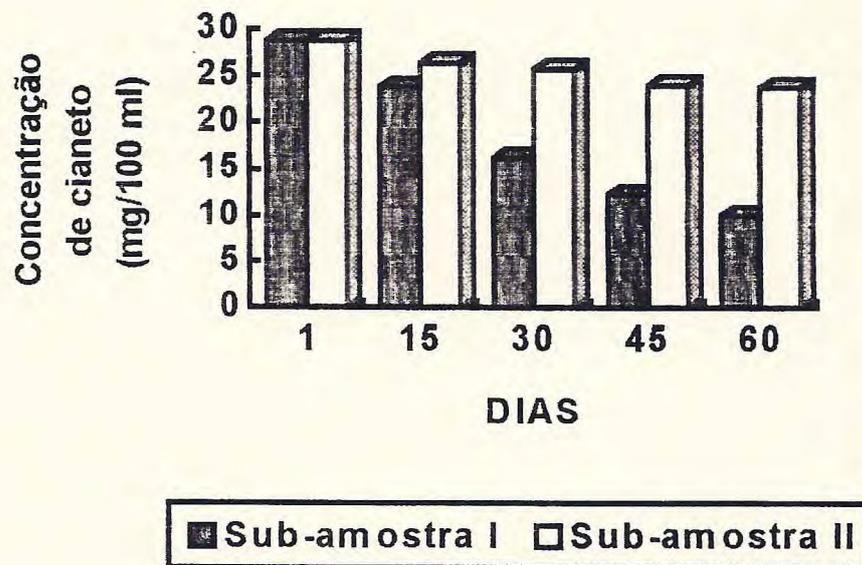


Figura 1. Avaliação quinzenal da concentração de cianeto (mg.CN/100 ml) presente em duas sub-amostras de manípueira estocadas sob diferentes condições de temperatura, durante um período de sessenta dias.

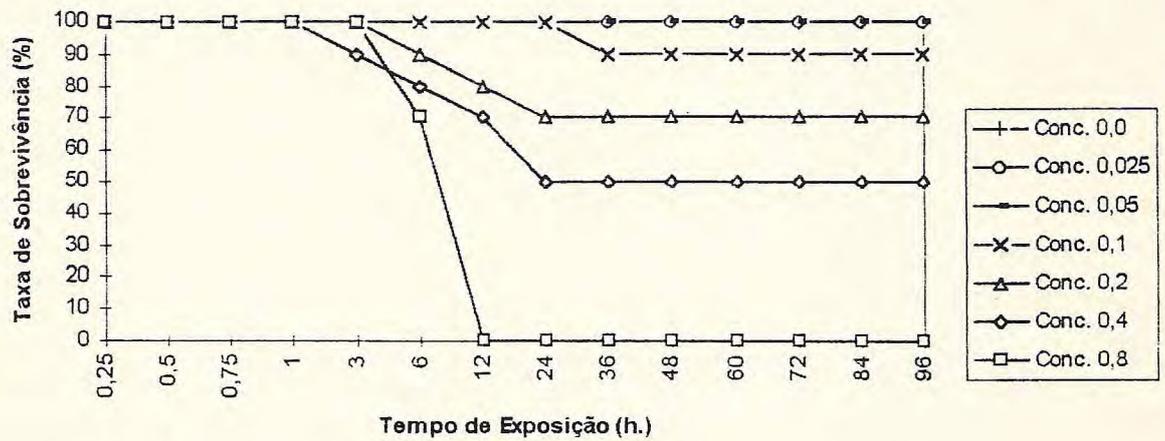


Figura 2. Taxa de sobrevivência (%) de *Callinectes ornatus* em função do tempo de exposição a diferentes concentrações de cianeto (mg/l).

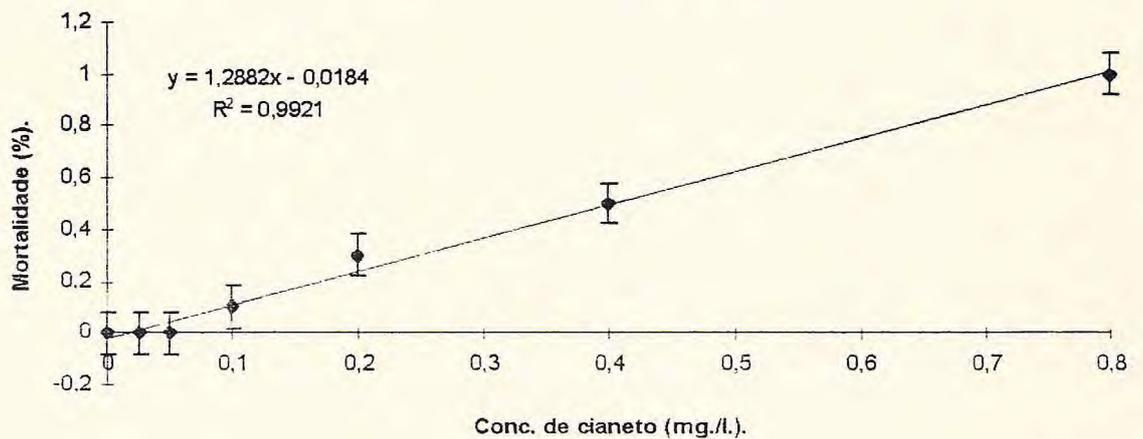


Figura 3. Correlação entre a taxa de mortalidade (%) de sete grupos de ensaio de *Callinectes ornatus* em função das concentrações de cianeto (mg/l).

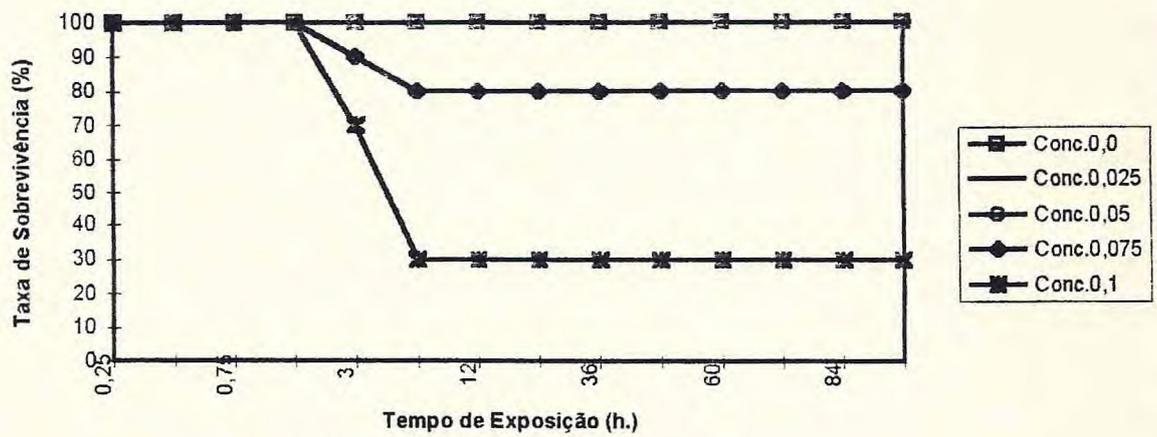


Figura 4. Taxa de sobrevivência (%) de *Pomadasys corvinaeformis* em função do tempo de exposição a diferentes concentrações de cianeto (mg./l).

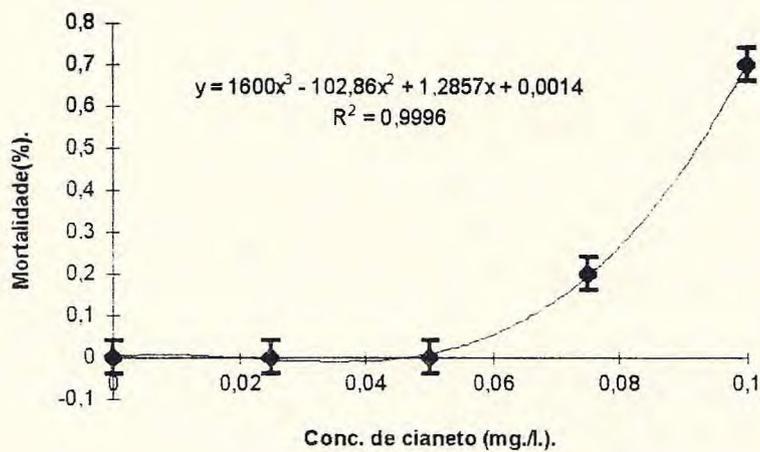


Figura 5. Correlação entre a taxa de mortalidade (%) de cinco grupos de ensaio de *Pomadasys corvinaeformis* em função da concentração de cianeto (mg/l).

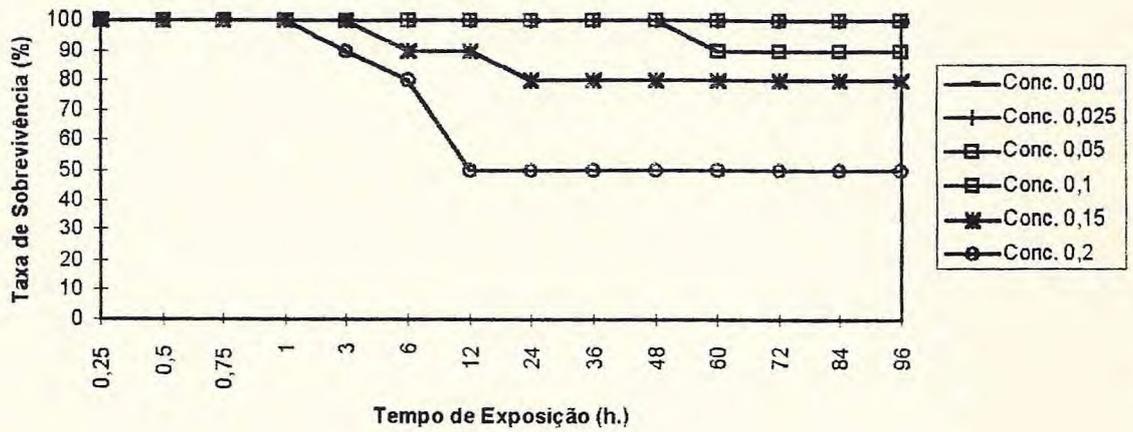


Figura 6. Taxa de sobrevivência (%) de *Penaeus subtilis* em função do tempo de exposição a diferentes concentrações de cianeto (mg./l.).

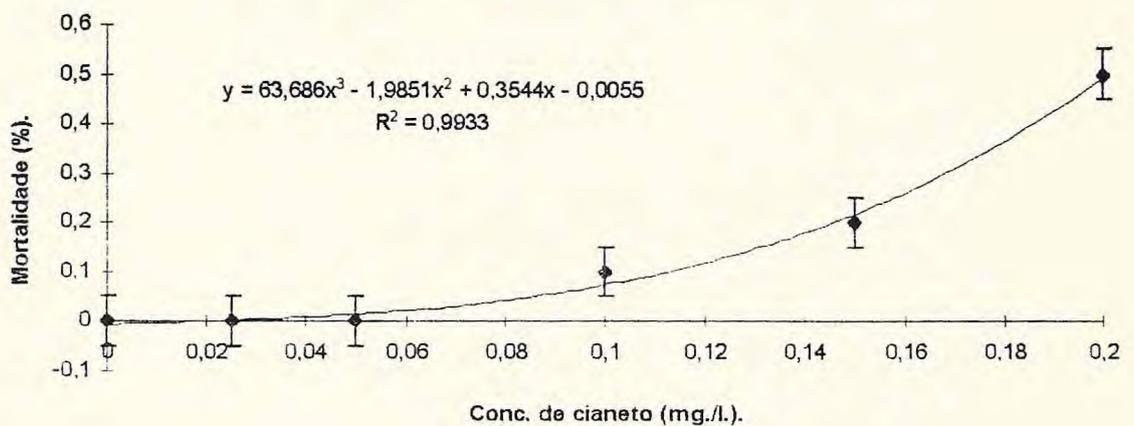


Figura 7. Correlação entre a taxa de mortalidade (%) de seis grupos de ensaio de *Penaeus subtilis* em função das concentrações de cianeto (mg/l.).