

IMPOSEX EM *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767) (MOLLUSCA: GASTROPODA) UMA INDICAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR ORGANOESTÂNICOS NA COSTA DO MUNICÍPIO DE FORTALEZA – CEARÁ – BRASIL

Occurrence of imposex in *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Gastropoda) as a indication of contamination by Organotin in the coastline of Fortaleza city – Ceará - Brazil

Ítalo Braga de Castro¹, Helena Matthews Cascon², Marcos Antônio Fernandez³

RESUMO

O imposex caracteriza-se pelo surgimento de caracteres sexuais masculinos, sobretudo pênis e vaso deferente, em fêmeas de moluscos neogastropodes. O fenômeno é provocado pela contaminação da água do mar e/ou da dieta alimentar dos animais por Tributilestanho (TBT) oriundo das tintas de ação “antifouling” utilizadas em muitas embarcações. Para verificar a existência do problema na costa de Fortaleza e de parte da região metropolitana foram determinados 10 pontos de coleta para o molusco neogastropode *Thais haemastoma*. Realizou-se ainda o mapeamento das áreas estudadas demonstrando os níveis de contaminação de cada ponto. Realizou-se ainda o mapeamento das áreas estudadas demonstrando os níveis de contaminação de cada ponto. Os animais foram levados ao laboratório e analisados revelando a de imposex principalmente na Praia Mansa e na Praia do Mucuripe.

Palavras-chave: *Thais haemastoma*, imposex, organoestânicos, Mollusca

ABSTRACT

The imposex is characterized by the development of males features in females neogastropods mollusks, namely the appearance of a no functional vas deferens and penis. The occurrence of imposex is a consequence of contamination by anti-fouling paints and, in particular, to their main biotoxic ingredient, the tributyltin (TBT). Samples of *Thais haemastoma* were collected in ten beaches of the metropolitan area of Fortaleza, State of Ceara, Brazil, and examined for the occurrence of imposex. Many examined females presented imposex. The degree of imposex was related to the distance of the beach to the city harbor, with the higher levels of contamination being presented by the samples from the Mansa and Mucuripe beaches, closest to the city harbor.

Key words: *Thais haemastoma*, imposex, organotin, Mollusca

(1) Bacharelando do Curso de Ciências Biológicas – UFC – italobraga@hotmail.com

(2) Prof. Adjunto, Depto. De Biologia/LABOMAR-UFC – hmc@ufc.br

(3) Prof. Assistente do Depto. de Oceanografia – UERJ/ Doutorando PUC/Rj – hallfz@uerj.br

INTRODUÇÃO

O imposex (Smith,1971) caracteriza-se pelo surgimento de órgãos sexuais masculinos não funcionais, sobretudo pênis e vaso deferente em fêmeas de moluscos neogastrópodes. O fenômeno é causado principalmente por contaminação da água do mar e/ou da dieta alimentar dos animais por Tributilestanho (TBT) ou em alguns casos, pelo trifenilestanho (TPT) provenientes de tintas de ação “antifouling” geralmente utilizadas em embarcações no intuito de protegê-las da ação de organismos incrustantes. O Problema foi inicialmente observado em *Nucella lapilus* (Bryan et al, 1986) na costa sudoeste da Inglaterra onde algumas populações desse molusco prosobrânquio declinaram severamente.

Vários países ao redor do mundo já evidenciaram o imposex em gastrópodes de suas águas, já existindo inclusive em alguns deles legislações severas que proíbem a utilização de tintas a base de TBT em embarcações de tamanho inferior a 25 metros (Minchin et al, 1995).

No Japão, níveis altos de contaminação por TBT foram verificados em *Thais clavigera* (Horiguchi et al,1994; 1998), *Thais bronni* (Horiguchi et al, 1994) e em alguns mesogastrópodes (Horiguchi et al, 1995), tendo sido realizados bioensaios com algumas destas espécies onde se verificou o nível de sensibilidade destes animais a contaminação por TBT (Horiguchi et al, 1997).

Em áreas tropicais o imposex foi observado na Tailândia em Hong Kong e em Singapura (Bech, 1998 e 1999a e b; Swennen, 1997) em diversas espécies do gênero *Thais*.

No arquipélago dos Açores o imposex foi observado em *Thais haemastoma* tendo sido encontradas inclusive fêmeas esterilizadas pelo processo (Spence, 1990).

Na América do Sul o primeiro registro de imposex foi em cultivos de *Chorus giganteus*, *Xanthochorus cassidiformis* e *Nucella crassilabrum* no Chile (Gooding et al, 1999).

Este trabalho constitui um dos primeiros registros de imposex para a costa Atlântica da América do Sul e tem por objetivo mapear a costa do município de Fortaleza e parte da região metropolitana revelando as áreas onde a contaminação é mais severa bem como correlacionar os índices verificados com a possíveis fontes de TBT no ambiente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram determinados 10 pontos de coleta ao longo do litoral do município de Fortaleza (mapa 01):

ESTAÇÃO (N°)	LATITUDE	LONGITUDE
Pacheco (1)	38° 37' 45''	03° 41' 09''
Dois Coqueiros (2)	38° 36' 45''	03° 41' 21''
Barra do Ceará (3)	38° 35' 15''	03° 41' 54''
Praia Formosa (4)	38° 32' 40''	03° 42' 48''
Poço da Draga (5)	38° 31' 02''	03° 43' 06''
Mucuripe (6)	38° 28' 36''	03° 43' 12''
Praia Mansa (7)	38° 28' 34''	03° 42' 12''
Titanzinho (8)	38° 28' 02''	03° 42' 28''
Caça e Pesca (9)	38° 26' 18''	03° 45' 54''
Sabiaguaba (10)	38° 25' 54''	03° 46' 27''

As coletas foram realizadas no período de setembro de 1999 a março de 2000, sempre em amostras de 50 indivíduos adultos do molusco neogastrópode *Thais haemastoma*. Os animais foram

aconicionados em sacos plásticos e conduzidos ao laboratório. Observou-se também em cada ponto a existência de fluxo de barcos.

PROCEDIMENTO DE LABORATÓRIO

Os moluscos foram preliminarmente anestesiados em solução de cloreto de magnésio 3,5% (Huet et al, 1995) preparada a partir da água do mar proveniente da área de coleta, posteriormente as conchas foram medidas da extremidade do canal sifonal anterior até a ponta da espira com auxílio de um paquímetro. Posteriormente as conchas foram removidas para análise das partes moles.

A determinação sexual foi feita com base na presença do receptáculo seminal observado unicamente em fêmeas, na presença de próstata exclusiva de indivíduos do sexo masculino e na coloração das gônadas.

Todos os indivíduos do sexo masculino bem como as fêmeas que apresentaram imposex tiveram seus pênis medidos com uma lâmina milimetrada e observou-se também a formação do vaso deferente nessas fêmeas.

Para quantificação do imposex dois índices foram utilizados: o RPSI (relative penis size index) e o VDSI (vas deferent sequence index), ambos desenvolvidos inicialmente para o neogastrópode *Nucella lapillus* (Gibbs & Bryan, 1986; Gibbs et al, 1987) e utilizados com sucesso para outros neogastrópodes (Minchin et al, 1996; Gooding et al, 1999).

O RPSI é um índice que quantifica o grau de imposex na população e é obtido a partir da equação: $(\text{Média do comprimento do pênis das fêmeas})^3 / (\text{Média do comprimento dos pênis dos machos})^3 \times 100$.

O VDSI quantifica o grau de imposex no animal através da seqüência de formação do pênis e do vaso deferente. O mesmo é composto de seis estágios e leva em consideração apenas as fêmeas: Estágio 0 - indivíduos normais não afetados pela contaminação ou que ainda não iniciaram o processo de formação do vaso deferente Estágio 1 - fêmeas apresentando o início da formação de um vaso deferente na região ventral da papila genital e/ou surgimento de uma pequena papila atrás do tentáculo direito. Estágio 2 - desenvolvimento inicial do pênis, e o vaso deferente começa a progredir na direção em que o pênis está se formando. Estágio 3 - formação de um pequeno pênis e progressão do vaso deferente para base do mesmo. Estágio 4 - fusão do vaso deferente com o pênis agora totalmente formado porém com a vulva ainda aberta. Estágio 5 - proliferação do tecido do vaso deferente causando bloqueio da abertura genital da fêmea e conseqüente falência reprodutiva. Estágio 6 - as fêmeas continuam a produzir ovos que não podem ser eliminados devido ao bloqueio de sua abertura genital, estas cápsulas abortadas acumulam-se no interior da glândula de cápsulas provocando a morte do animal.

RESULTADOS

O imposex foi observado em vários pontos de coleta tendo sido encontrados índices altos em áreas próximas ao porto do Mucuripe.

Na Praia do Pacheco não se observou evidências de imposex nos animais estudados, nem atividade de embarcações. Na amostra coletada na praia de Dois Coqueiros verificou-se índices baixos tendo as fêmeas estudadas apresentado uma pequena papila como início da formação de um pênis o que caracteriza VDSI no estágio I. Na Barra do Ceará os índices foram mais elevados já sendo evidenciados estágios de VDSI entre II e III, foi observado naquela área um estaleiro e uma

fluxo de embarcações alto. Na praia Formosa observou-se animais com grau I de VDSI. No Poço da Draga os índices observados oscilaram entre I e II. As estações da Praia do Mucuripe e da Praia Mansa apresentaram índices muito altos de imposex, sempre acima de IV, tendo os animais da Praia Mansa apresentado grau V exceto por um único animal com estágio IV, nestas estações verificou-se um grande número de embarcações de pesca e turismo atracadas bem como fluxo de grandes navios no porto do Mucuripe. As estações do Titanzinho, do Caça e Pesca e de Sabiaguaba não apresentaram imposex em nenhum, dos animais estudados não tendo sido verificado nessas áreas fluxo de embarcações.

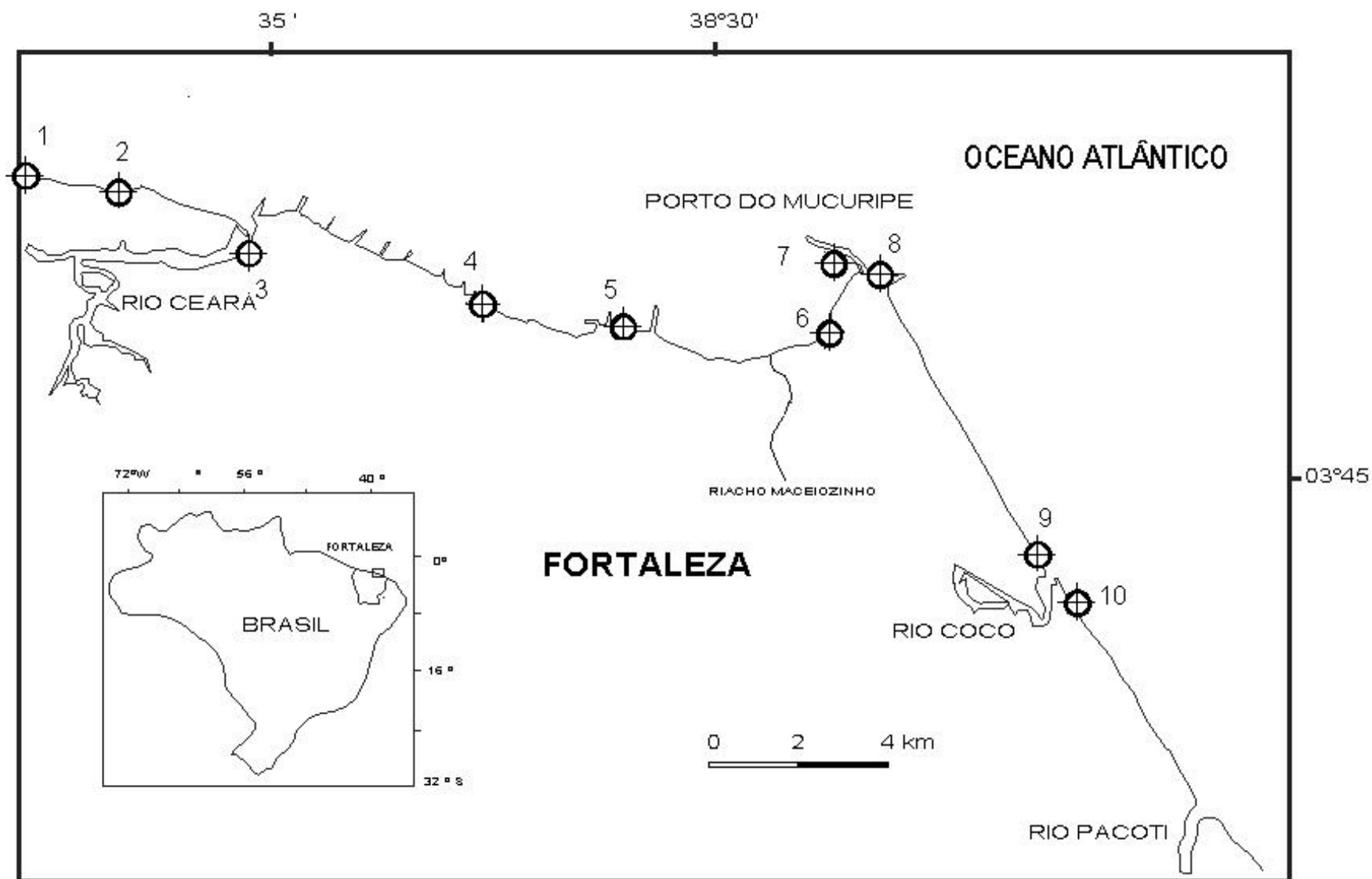
Os valores de RPSI foram elevados nas estações da Praia do Mucuripe (RPSI = 25,7) e da Praia Mansa (RPSI = 61,7), áreas onde foi observado um elevado fluxo de embarcações. Nas praias de Dois Coqueiros, Formosa e Poço da Draga os valores de RPSI não foram avaliados (N.A) uma vez que os pênis apresentados pelas fêmeas coletadas naquelas áreas restringia-se a uma pequena papila impossível de ser medida (tabela 01).

Tabela 01: Resultados do mapeamento de imposex na costa do município de Fortaleza e de parte da região metropolitana

Estação(n°)	$\frac{N^{\circ} er}{N^{\circ} \otimes}$	% imposex	RPSI	VDSI
Praia do Pacheco (1)	27/23	0	0	0
Praia de Dois Coqueiros (2)	20/30	100	NA	I - II
Praia da Barra do Ceará (3)	15/35	100	3.2	III
Praia da Formosa (4)	26/24	100	NA	I
Praia do Poço da Draga (5)	32/18	100	NA	I
Praia do Mucuripe (6)	36/14	100	25.7	IV
Praia Mansa (7)	32/18	100	61.7	V
Praia do Titanzinho (8)	25/25	0	0	0
Praia do Caça e Pesca (9)	22/28	0	0	0
Praia de Sabiaguaba (10)	20/30	0	0	0

N.A.: Não avaliado uma vez que o pênis observado nas fêmeas destas áreas restringia-se apenas a uma pequena papila impossível de ser medida.

MAPA 01: Localização das estações ao longo da costa do município de Fortaleza e de parte da região metropolitana.



DISCUSSÃO

O imposex em neogastrópodes foi intensamente estudado em diversas regiões do mundo já tendo sido observado em áreas temperadas e tropicais. Na América do Sul o primeiro registro foi entre espécies cultivadas de muricídeos no Chile (Gooding et al, 1999). No Brasil e na costa Atlântica da América do Sul existem poucos registros de imposex provavelmente por falta de estudos na área.

Os estudos realizados com *Nucella lapillus* no Sudeste da Inglaterra (Gibbs et al, 1987) desenvolveram praticamente toda a metodologia utilizada no estudo do problema, sobretudo no que diz respeito ao VDSI e ao RPSI. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos, inclusive com outras espécies de neogastrópodes, utilizando esses índices com sucesso (Evans et al, 1995; Solé et al, 1998; Minchin et al, 1996 e Stewart et al, 1992). Para *Thais haemastoma*, a utilização da escala de VDSI proposta por Gibbs & Brayn, 1986 mostrou-se pouco apropriada em virtude da dificuldade de visualização do vaso deferente, isso demonstra a necessidade de se desenvolver uma escala adaptada a esta espécie.

Na Inglaterra algumas populações de *N. lapillus* chegaram a declinar severamente (Bryan et al, 1986) o que segundo os autores aconteceu devido as altas concentrações de TBT na água e nos tecidos dos animais estudados. Outro fator que contribuiu para o declínio dessas populações foi o fato de *N. lapillus* possuir desenvolvimento intracapsular (Feare, 1970 e Bauchet, 1989), isto é, o animal não possui fase larval livre com isto não ocorre nas populações destes recrutamento de larvas de outras populações, estando os animais sujeitos ao efeito da contaminação desde os primeiros estágios de vida.

Em Fortaleza, as populações de *Thais haemastoma* mostraram-se aparentemente estáveis durante a realização do trabalho, uma vez que em todos os pontos de coleta os animais estavam presentes de forma relativamente abundante. Isto sugere que mesmo em áreas onde altos índices de imposex foram observados as populações não declinaram pois *T. haemastoma* possui larvas planctônicas que provavelmente são importadas de populações não afetadas pela contaminação conforme observou Spence(1990).

Os resultados demonstraram uma clara relação entre os índices observados e as áreas onde a atividade de embarcações é alta relacionando o imposex a áreas portuárias, o mesmo foi observado em praticamente todos os trabalhos de mapeamento do imposex no mundo (Minchin et al, 1996 ; Horigushi et al, 1997) A medida que os pontos de coleta eram mais próximos daquelas áreas observou-se um aumento gradual entre os índices encontrados até que nas proximidades do porto do Mucuripe e na Praia Mansa os índices revelaram-se mais elevados o que provavelmente acontece em decorrência dessas áreas apresentarem um grande fluxo de embarcações bem como núcleos de construção naval.

As praias do Titanzinho, do Caça e Pesca e de Sabiaguaba não revelaram imposex nos animais estudados, isto deve-se provavelmente aos padrões de circulação da costa da cidade de Fortaleza que são sempre no sentido Leste – Oeste (Maia, 1998) não existindo também nestas áreas uma circulação significativa de embarcações.

Foram observadas desovas de *T. haemastoma* mesmo em áreas onde os estágios de VDSI foram IV, o que vem a corroborar com os resultados obtidos por Gibbs and Bryan, (1986) que indicam que a falência reprodutiva dos animais só acontece a partir do estágio V quando ocorre o bloqueio da abertura genital da fêmea.

Na praia Mansa a maioria dos animais estudados revelaram estágio de VDSI V, ou seja, pênis e vaso deferente totalmente formados e abertura genital bloqueada não tendo sido

observado desovas no local, isto sugere que as fêmeas daquela população não são mais capazes de se reproduzirem. A falência reprodutiva das fêmeas a partir do nível V foi observada em diversas espécies de neogastrópodes (Fiorini et al, 1991; Oehlmann J. et al, 1996 e Oehlmann S. et al, 1997)

CONCLUSÕES

1- Observou-se pela primeira vez imposex em um molusco neogastrópode na costa do estado do Ceará o que caracteriza uma dos primeiros registros do problema para costa atlântica da América do Sul

2 – *Thais haemastoma* apresenta imposex provavelmente quando submetida a contaminação por compostos organoestânicos tais como o TBT e o TPT.

3 – O imposex em *Thais haemastoma* na costa de Fortaleza está claramente relacionado com áreas onde o fluxo de embarcações é elevado que são fontes em potencial de compostos organoestânicos.

4 – A praia do Mucuripe e a Praia Mansa estão provavelmente contaminadas por compostos organoestânicos

5 – As fêmeas de *T. haemastoma* da Praia Mansa encontram-se provavelmente inaptas para reprodução uma vez que a abertura genital das mesmas encontra-se bloqueada pelo adiantado estágio de VDSI observado.

Agradecimentos: Ao Biólogo Carlos Augusto Oliveira de Meirelles do Laboratório de Malacologia do Departamento de Biologia - UFC, pela participação nas coletas e no processamento de todo material estudado, apoio direto e incentivo durante todas as etapas da realização deste trabalho. Ao Prof. Dr. Luís Parente Maia do Departamento de Geologia - UFC que forneceu material de sua tese de doutorado com informações sobre as correntes costeiras da costa do município de Fortaleza.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauchet, P. A review of poecilogony in gastropods, *Journal Molluscan Study*. v. 55, p. 67 – 78, 1989.
- Bech, M. Imposex and population characteristics of *Thais distinguenda* as na indicator of organotin contamination along the south east coast of phuket island, Thailand. *Phuket Marine Biological Center Special Publication*, v. 18, n. 1, p. 129-138, 1998.
- Bech, M. Increasing levels of tributyltin-induced imposex im muricid gastropod at *Phuket Island, Thailand*. *Applied Organometallic Chemistry*. v. 13, p. 1 – 6, 1999a.
- Bech, M. Sensitivity of different gastropod to tributyltin contamination. *Phuket Marine Biological Center SpeCial Publication*, v. 19, n. 1, p. 1 – 6, 1999b.
- Bryan, G. .M. ; Gibbs, P. E. ; & Humerstone, L. G. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around Southwest England: Evidence for tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association U.K.*, v. 66, p. 611-640, 1986.
- Evans, S. M.; Dawson, M.; Day, J.; Frid, C.L.J.; Gill, M. C.; Pattisina, L. A. & Porter, J. Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambom Island. *Marine Pollution Bulletin*. v. 30, n. 2, p. 109 – 115, 1995.

- Feare, C. J. The reproductive cycle of the dog whelk *Nucella lapillus*. *Proc Malac. Soc. Lond.* v. 39, p. 125 – 137, 1970.
- Fioroni, P., Oehlmann, J. & Stroben, E. The pseudohermaphroditism of prosobanchs; morfological aspects. *Zoological Anz.*v.286, n. ½, p. 1 – 26, 1991.
- Gibbs, P.E. & Bryan, G.M. Reproductive failure in populations of the dog-whelk *Nucella lapillus*, ceased by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association U.K.*, v. 66, p. 767 – 777, 1986.
- Gibbs, P. E. ; Bryan, G. W. ; Pascoe, P. L. & Burt, G. R. The use of dog-whelk *Nucella lapillus*, as na indicator of tributyltin (TBT) contamination. *Journal of the Marine Biological Association. U.K.*, v. 67, p. 507 – 523, 1987.
- Gooding, M. ; Gallardo, C. & Leblanck, G. Imposex in three marine Gastropod species in Chile and potential impact on Muriciculture. *Marine Pollution Bulletin.* v. 38, n. 12, p. 1227 – 1231, 1999.
- Horiguchi, T. ; Shiraishi, H. ; Shimizu, M. ; & Morita, M. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *Journal Marine Biological Association U. K.*, v. 74, p. 651 – 669, 1994.
- Horiguchi, T. ; Shiraishi, H. ; Shimizu, M. ; S. Yamazaki & Morita, M. Imposex in Japanese Gastropods (Neogastropoda and Mesogastropoda): efeccts of Tributyltin and Triphenyltin from antifouling paints. *Marine Pollution Bulletin*, v. 4, n. 12, p. 402 – 405, 1995.
- Horiguchi, T. ; Shiraishi, H. ; Shimizu, M. ; & Morita, M. Effects of triphenyltin chloride and five other organotin compounds on the development of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*. *Environmental Pollution*, v. 95, n. 1, p. 85 – 91, 1997.
- Horiguchi, T. ; Shiraishi, H. ; Shimizu, M. ; & Morita, M. Imposex in sea snails, caused by organotin (tributyltin and triphenyltin) pollution in Japan: a survey. *Appl. Organometal Chem.* V. 11, p. 451 – 455, 1997.
- Horiguchi, T. ; Hyeon-Seo, C.; Shiraishi, H. ; Shibata, Y. ; Soma, M. ; Morita, M. & Shimizu, M. Field studies on imposex and organotin accumulation in the rock shell, *Thais clavigera*, from the Seto Inland Sea and the Sanriku region, Japan. *The Science of the Total Environmental*, v. 214, p. 65 – 70, 1998.
- Huet, M.; Fiorini, P.; Oehlmann, J. & Stroben, E. Comparison of imposex response in three Prosobanch species. *Hydrobiologia.*v. 309, p. 29 – 35, 1995.
- Maia, L. P. Procesos costeros y balance sedimentario a lo largo de Fortaleza (NE-Brasil): Implicaciones para una gestión adecuada de la zona litoral. Tese de doutorado apresentada ao programa de doutorado em Ciências do mar da Universidad de Barcelona, 269 p. Barcelona, 1998.
- Minchin, D.; Oehlmann, J.; Duggan, C.B. Stroben, E.; Keatinge e M. Marune, A. TBT antifouling contamination in Ireland, folloing Legislation in 1987. *Marine Pollution Bulletin.* v. 30, n. 1, p. 633 – 639, 1995.
- Minchin, D. ; Stroben, E.; Oehlmann, J.; Baur, B.; Duggan, C. & Keatinge, M. Biological indicators used to map organotin contamination in Cork Harbour, Ireland. *Marine Pollution Bulletin.*v.32, n.2, p. 188 – 195, 1996.
- Smith. B. S. Sexualityin american mud snail, *Nassarius obsoletus* (Say) *Proc. Malac. Soc. London.* v 39, p. 377 – 378, 1971.
- Spence, S. K.; Hawkins, S. J. & Santos, R. S. The mollusc *Thais haemastoma* – An exhibitor of “imposex” and potencial biological indicator of tributyltin pollution. *Marine Ecology*, v. 11, n. 2, p. 147-156, 1990.

- Solé, M.; Morcillo, Y. & Porte, C. Imposex in the commercial snail *Bolinus brandaris* in the northwestern Mediterranean. *Environmental Pollution*. v. 99, p. 241 – 246, 1998.
- Stewart, C.; Mora, S. J.; Jones, M. R. L. & Miller M. C. Imposex in New Zealand neogastropods. *Marine Pollution Bulletin*. v. 24, n. 4, p. 204 – 209, 1992.
- Swennen, C.; Ruttanadakul, N.; Ardseungnern, S. ; Singh, H. R.; Mesinck, B. P. & Hallers-Tiabbes C. C. Imposex in sublittoral and littoral gastropods from the gulf of Thailand and Strait of Malacca in relation to shipping. *Environmental Technology*. v.18, p. 1245 – 1254, 1997 .
- Oehlmann, J.; Fiorini, p.; Stroben, E. e Markert, B. Tributyltin (TBT) effects on *Ocenebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization, sex change and population decline. *The Science of the Total Environmental*. v. 188, p. 205 – 223, 1996.
- Oehlmann, S. U.; Oehlmann, J.; Fiorini, P. e Bauer, B. Imposex and reproductive failure in *Hidrobia ulvae* (Gastropoda: Prosobranchia). *Marine Biology*. v. 128, p. 257 – 266, 1997.