

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

# BIOLOGIA

### DESENVOLVIMENTO DE EISENIA ANDREI E ESTUDO DA DESPIGMENTAÇÃO POR MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

<sup>1</sup> Roberta Valoura Reimão (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Patrícia Christina Genázio Pereira (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Patrícia Carvalho Rastoldo (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Paulo Felipe da Conceição (Estágio-voluntário); <sup>1</sup> Sidney Fernandes Sales Junior (Estágio-voluntário); <sup>2</sup> Thelma Pavessi (Tecnologista/FIOCRUZ); <sup>1</sup> Fábio Veríssimo Correia (orientador).

1- Departamento de Ciências Naturais; Instituto de Biociências; Centro de Ciências Biológicas e da saúde; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

2- Centro De Estudos e Saúde Do Trabalhador e Ecologia Humana.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CAPES, CNPq.

Palavras-chave: Eisenia andrei; contaminante; toxicidade.

### INTRODUÇÃO

As minhocas são membros importantes da fauna do solo, contendo inúmeras características que as tornam apropriadas para serem usadas em avaliações de riscos potenciais de solos contaminados. Elas acumulam e são afetadas por uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. A espécie *Eisenia andrei* foi utilizada, por ser facilmente criada, possuir reconhecimento internacional em experimentos de laboratório, foi aprovada para uso em testes de toxicidade pela União Europeia (EU) e pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), e tem sido utilizada pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) como teste de varredura de vários locais contaminados por resíduos. Os métodos espectroscópicos baseiam-se na absorção e ou emissão de radiação eletromagnética por muitas moléculas. A espectrofotometria baseia-se na absorção da radiação nos comprimentos de onda entre ultravioleta e infravermelho. Em função do exposto, foram escolhidas duas abordagens neste trabalho: (1) Avaliação do desenvolvimento e da reprodução de minhocas em diferentes substratos e diferentes densidades, e (2) Caracterização da despigmentação dos organismos expostos a contaminantes através da técnica espectrofotométrica.

### OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo a avaliação do desenvolvimento e reprodução da *Eisenia andrei* em diferentes substratos e a caracterização da despigmentação de organismos expostos a diferentes contaminantes.

### METODOLOGIA

Teste de desenvolvimento e reprodução

O estudo foi realizado no laboratório de Toxicologia (FIOCRUZ). Os substratos utilizados foram (1) solo Argissolo típico de regiões tropicais, comumente utilizado nos ensaios ecotoxicológicos e (2) esterco bovino, substrato natural de criação dos organismos em laboratório. Frascos de erlenmeyers foram devidamente pesados e acrescidos com 130 g de esterco e 150 g de solo separadamente. Em seguida, um conjunto de 3 replicas foram adicionados a seguinte quantidade de minhocas: 3, 6, 9, 12 e 15 minhocas / frasco, totalizando 15 erlenmeyers por tratamento. Após 30 dias, com constante manutenção da umidade a 30% da capacidade de campo e foto período (8h luz-16h escuro), os recipientes foram abertos e contados o número de indivíduos vivos, biomassa (g) das minhocas, e contagem do número de filhotes e casulos.

Espectrofotometria de pigmentos da epiderme de minhoca

Durante ensaios de toxicidade realizados anteriormente, foi observada a despigmentação de alguns organismos. Em função disso, baseado no estudo de Dales, R.P. (1962), intitulado "Pigments in the skins of the Polychaetes Arenicola, Abarenicola, Dodecaceria, and Halla", avaliamos a despigmentação das minhocas por espectrofotometria com diferentes soluções e gradientes de concentração. As minhocas foram expostas a 20 mg.mL<sup>-1</sup> dos seguintes contaminantes: Dicromato de potássio, 2,4D e Cloroacetamida. Após 7 dias as minhocas foram trituradas em 3000 µl de LBSS (Lumbricus Balanced Salt Solution) e analisadas por espectrofotometria (Jasco, V-530), no comprimento de onda 200-900 nm, em diferentes diluições (1:5, 1:10, 1:15 e 1:20, lisado:LBSS).

### RESULTADOS

Teste de desenvolvimento e reprodução

No teste de desenvolvimento e reprodução em esterco, o frasco com 3 minhocas apresentou ganho de biomassa após 30 dias (Gráfico 1). Comportamento evidenciado no gráfico 2, com a diferença da biomassa final pela biomassa inicial. No frasco com 6 organismos a média de peso foi mantida, e nos frascos com densidade de 9, 12 e 15 minhocas foi observada uma redução da biomassa significativa e decrescente em função do número de indivíduos. No solo natural, foi observada a redução na biomassa dos indivíduos após 30 dias de experimento em todos os frascos. A redução foi significativamente dependente e decrescente em função do aumento do número de indivíduos nos frascos.

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

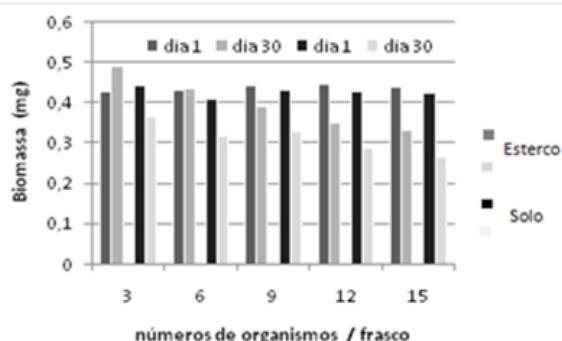


Gráfico 1: Valores referentes a biomassa inicial e após 30 dias de cada triplicata contendo seu respectivo número de organismos em esterco e solo natural.

Nos frascos com 3 organismos, a diferença entre o peso final e inicial para o esterco foi o oposto do solo. Nos conjuntos com 6 organismos, não foi observado diferença entre o peso final e inicial no esterco. No entanto, nos frascos com 9, 12 e 15 organismos em ambos os substratos foi observado a redução de biomassa, sempre mais acentuada nos organismos acondicionados no solo.

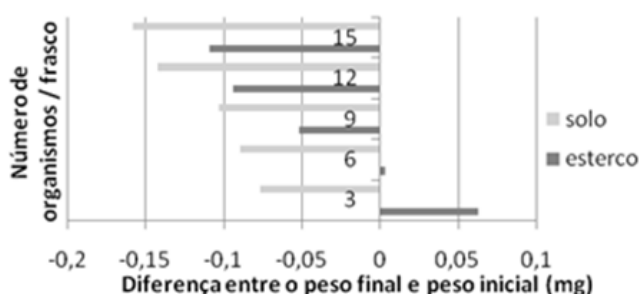


Gráfico 2: Diferença entre o peso inicial e o peso final de cada triplicata contendo seu respectivo número de organismos em esterco e solo natural.

A tabela 1 apresenta o número de ovos e filhotes após 30 dias de incubação nos dois substratos. As minhocas incubadas no solo apresentaram maior potencial reprodutivo quando comparadas com as incubadas no esterco. Esperava-se a maior reprodução no esterco, por se tratar de um substrato natural dos organismos. A hipótese deste comportamento pode estar associada ao stress na qual os organismos são submetidos. De acordo com observações anteriores, organismos expostos a situações adversas apresentaram como mecanismo de sobrevivência o aumento da reprodução e até autofecundação (dados não publicados). Também foi observado uma redução no número de ovos e filhotes em função do aumento da densidade de organismos em cada frasco. As minhocas incubadas no esterco apresentaram ganho e perda de biomassa, no entanto, baixa produção de ovos e filhotes.

Tabela 1. Valores referentes a quantidade de ovos e filhotes em relação ao número de indivíduos após 30 dias de incubação.

Esterco após 30 dias de incubação			Solo natural após 30 dias de incubação		
nº de indivíduos	ovos	filhotes	nº de indivíduos	ovos	filhotes
3	9	0	3	6	3
6	6	0	6	8	11
9	0	0	9	10	19
12	0	0	12	3	4
15	0	0	15	3	6

#### Espectrofotometria de pigmentos da epiderme de minhoca

As minhocas controle (sem exposição) e analisadas com LBSS apresentaram 3 picos em que se mostraram mais constantes e presentes, 414, 538 e 572. O pico 414 apresentou absorvância em torno de 0,8. Já os picos 538 e 572 apresentaram absorvância em torno de 0,2.

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

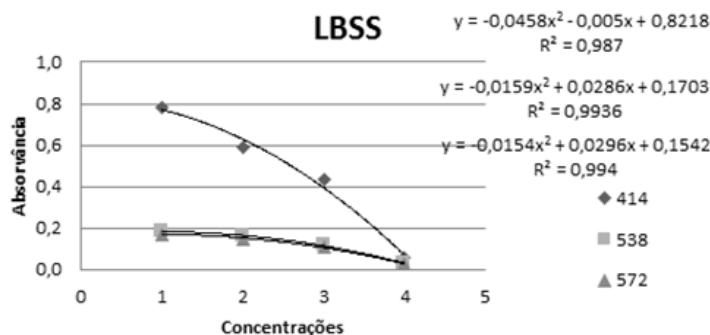


Gráfico 3: Gráfico representando picos de absorvância da amostra analisada com LBSS em diferentes diluições.

Minhocas expostas ao contaminante Dicromato de potássio apresentaram 3 picos que se mostraram mais constantes e presentes, 356, 414 e 538. O pico 356 apresentou absorvância em torno de 0,3. O pico 414 a absorvância ficou em torno de 0,45. O pico 538 apresentou absorvância em torno de 0,15.

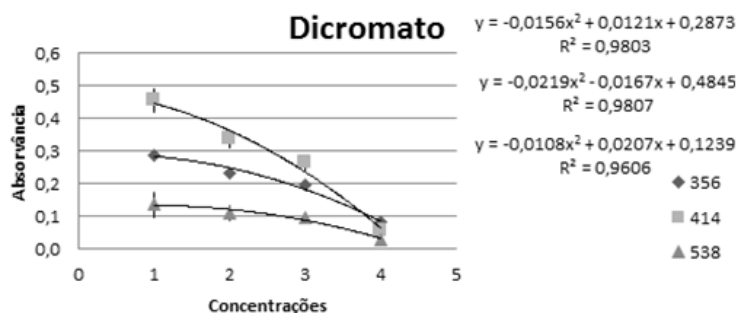


Gráfico 4: Gráfico representando picos de absorvância da amostra analisada com LBSS em diferentes diluições.

Minhocas expostas ao contaminante 2,4D apresentaram os mesmos picos que o contaminante Dicromato de potássio. O pico 356 apresentou absorvância em torno de 0,28. O pico 414 a absorvância ficou em torno de 0,4. O pico 538 apresentou absorvância em torno de 0,1.

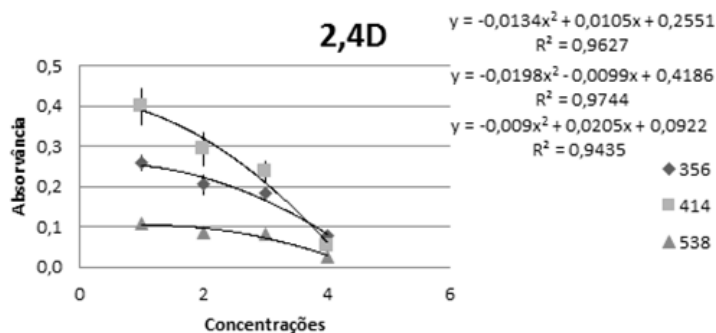


Gráfico 5: Gráfico representando picos de absorvância da amostra analisada com LBSS em diferentes diluições.

Minhocas expostas a Cloroacetamida apresentaram os mesmos picos que o contaminante Dicromato de Potássio e 2,4D. O pico 356 apresentou absorvância em torno de 0,3. O pico 414 a absorvância ficou em torno de 0,47. O pico 538 apresentou absorvância em torno de 0,12.

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

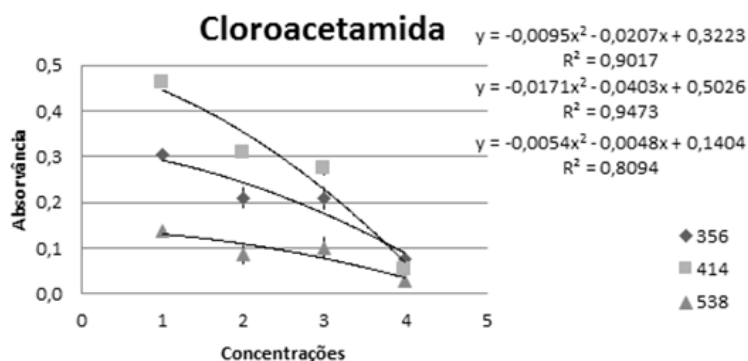


Gráfico 6: Gráfico representando picos de absorvância da amostra analisada com LBSS em diferentes diluições.

#### CONCLUSÃO

A reprodução foi influenciada pela densidade de indivíduos no substrato. A produção de ovos e filhotes foi maior para os organismos cultivados no solo natural. A biomassa reduziu em função da densidade e do tempo de exposição. A exposição ao contaminante apresentou leve deslocamento ou alteração nos picos de absorvância.

#### REFERÊNCIAS

- DALES, R.P. Pigments in the skins of the Polychaetes Arenicola, Abarenicola, Dodecaceria, and Halla. V.8, Bedford College, University of London, 1962.
- OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 208: Terrestrial Plants, Growth Test. OECD Guidelines for testing of chemical. OECD Paris, 1984.
- OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals nº207, 1984.