



# TESTES DE FUGA LABORATORIAIS COM *PROISOTOMA MINUTA* (COLEMBOLLA) EM SOLOS CONTAMINADOS COM METAIS E COMPARAÇÃO COM A SENSIBILIDADE DE *FOLSOMIA CANDIDA* (COLEMBOLLA)

L. P. Santana<sup>1</sup>

J. C. Niemeyer<sup>1,2</sup>; J. P. Sousa<sup>2</sup>; E. M. da Silva<sup>1</sup>

1 - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Bahia, Brasil. psluiza@yahoo.com.br

2 - Universidade de Coimbra, IMAR-Centro Interdisciplinar de Coimbra, Departamento de Zoologia, Coimbra, Portugal

## INTRODUÇÃO

A ecotoxicologia resulta da integração da química, da ecologia e da toxicologia, por conseguinte o seu objeto de estudo está intimamente relacionado com as comunidades biológicas locais. No Brasil não só existem poucos estudos ecotoxicológicos com organismos terrestres, bem como muitas das metodologias e espécies propostas pelas normas internacionais geralmente foram desenvolvidas para ambientes de clima temperado.

Os colêmbolos, p.ex. a espécie *Folsomia candida*, estão entre os invertebrados do solo comumente usados na avaliação ecotoxicológica de solos contaminados, principalmente pelo papel funcional que os mesmos desempenham no solo. Levando - se em conta este fato, supõe - se que outras espécies tropicais precisam ter seu potencial estudado.

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi verificar a adequabilidade da espécie de colêmbolos *Proisotoma minuta*, em testes de fuga que possam servir como ferramenta de varredura em estudos de análise de risco ecológico em ambientes tropicais. Além disso, foram realizados cinco ensaios preliminares para comparar a sensibilidade desta população com *Folsomia candida* em solos provindos de uma área contaminada por metais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1-Culturas de colêmbolos

Os cultivos de *P. minuta* e *F. candida* seguiram a mesma metodologia de cultivo e obtenção de juvenis de idade sincronizada, que é a proposta pela Norma ISO/DIS 17512 - 2 (ISO, 2007). Porém, cultivo de *F. candida* foi oriundo do Laboratório de Solos da Universidade de Coimbra, Portugal, e foi mantido a  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , enquanto que os cultivos de

*P. minuta* originaram - se de organismos coletados no campus universitário de Ondina, UFBA, Bahia, Brasil, e foram mantidos à temperatura ambiente ( $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e reproduzidos em laboratório por um mínimo de seis meses antes do início dos ensaios.

Os colêmbolos foram cultivados em caixas plásticas contendo uma mistura de gesso e carvão ativado na proporção 10:1, e adicionando - se água destilada, com alimento administrado bisemanalmente, constando de fermento biológico. A umidade das caixas de cultivo foi mantida borrifando - se água destilada duas vezes por semana.

Para obter organismos sincronizados para os testes, ovos foram isolados dos cultivos com o auxílio de um pincel umedecido com água destilada, e transferidos para a parte superior de uma pedra (pequena parte do substrato de gesso e carvão), sendo esta colocada junto com os ovos em uma nova caixa. Foram realizadas observações diárias para verificar se algum organismo nasceu. Dois dias depois que se observou o primeiro nascimento, a pedra com o restante dos ovos foi retirada e adicionou - se alimento (fermento biológico). Assim, 10 dias após retirar - se a pedra, realizou - se o ensaio com juvenis sincronizados (10 a 12 dias de idade).

### 2 - Testes de fuga

Os testes de fuga foram realizados de acordo com o proposto pela Norma ISO/DIS 17512 - 2 (ISO, 2007) para *F. candida*, porém com a temperatura de incubação modificada para  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Os solos foram coletados na área de uma siderúrgica desativada (Plumbum, Santo Amaro, BA, Brasil), os quais estão altamente contaminados por metais, especialmente Pb, Cd, Cu e Zn, e tem sido alvo de vários estudos de risco à saúde humana e ambiental. Atualmente, esta área é objeto de uma análise de risco ecológico que tem como objetivo não só avaliar o impacto da contaminação presente para os organismos do solo, como sugerir um esquema de análise de risco que possa ser utilizado na avaliação de outras áreas

com o mesmo tipo de contaminação em ambientes tropicais (Niemeyer *et al.*, 2007).

Solo superficial com até 15 cm de profundidade foi utilizado nos ensaios. Os solos testados foram coletados a 0, 20, 50, 150 e 400 m do centro das operações da siderúrgica. Um sítio a 3000 m foi escolhido para a coleta do solo de referência. Após a coleta, os solos foram secos à sombra por uma semana e em seguida peneirados a 5 mm.

Imediatamente antes da montagem dos ensaios, os solos foram umedecidos até 50% da capacidade de retenção de água.

Para realizar os ensaios, recipientes plásticos cilíndricos (O: 7 cm; h: 6 cm) foram divididos em duas seções iguais com uma divisória plástica. Uma seção recebeu solo de referência (não contaminado) e a outra recebeu o solo a ser testado. Após a adição do solo, a divisória foi cuidadosamente removida e vinte colêmbolos foram adicionados em cada réplica, com o auxílio de um aparato de sucção (pipeta Pasteur de vidro/mangueira plástica e tecido). Os recipientes permaneceram fechados durante o ensaio. Foram utilizadas cinco réplicas para cada combinação de solos, além de uma réplica extra sem organismos para a determinação de pH e umidade ao final do ensaio.

Após 48 h de exposição, a divisória plástica foi novamente inserida nas caixas para separar o solo de referência e o solo contaminado. Um dos solos foi transferido para um novo recipiente com o auxílio de uma espátula, enquanto o outro permaneceu no recipiente original. Adicionou-se água em ambas as seções e utilizou-se uma espátula para mexer cuidadosamente, favorecendo assim que os colêmbolos subissem à superfície da água, quando era realizada a contagem dos organismos que apareceram em cada solo.

Os testes foram realizados em laboratório, a  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  para *F.candida* e a  $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$  para *P.minuta*.

### 3-Estatística

Os resultados dos testes de fuga foram analisados usando-se o teste de Fisher (Zar, 1996) para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre o número de colêmbolos no solo de referência e o número de colêmbolos que optaram pelo solo contaminado.

Para analisar se os resultados indicam perda da função de habitat do solo para os organismos em estudo, utilizou-se a fórmula  $A = ((C - T)/N) \cdot 100$ , onde A é a porcentagem de fuga, C é o número de organismos no solo de referência, T é o número de organismos no solo contaminado, e N é o número total de organismos.

## RESULTADOS

Contaminantes podem causar mudanças comportamentais nos organismos, o que pode levá-los a deixarem o local contaminado o que implica na perda destes organismos para o ambiente em questão. Este fato pode afetar outras populações presentes em razão de desequilíbrio em teias alimentares ou alterações nas funções do ecossistema, como a ciclagem de nutrientes.

Organismos de *Proisotoma minuta* reproduziram-se em laboratório e mostraram-se adequados para uso em testes laboratoriais, fornecendo grande quantidade de juvenis para

ensaios e apresentando reprodução mais rápida do que *F.candida*.

Nos testes de fuga laboratoriais com *P. minuta*, alcançou-se os critérios de validade propostos pela norma ISO/DIS 17512 - 2 (ISO, 2007), havendo mortalidade  $< 20\%$ .

Em relação à resposta dos colêmbolos testados, das cinco comparações realizadas (solo de referência X solo teste), em quatro delas houve diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre o número de colêmbolos *F. candida* no solo de referência e no solo teste, indicando fuga dos colêmbolos do solo contaminado. Já para *P. minuta*, essas diferenças só foram encontradas para dois solos.

Segundo a Norma ISO/DIS 17512 - 2 (ISO, 2007), se o percentual de fuga for  $> 70\%$ , então há perda da função de habitat para os colêmbolos. Nos testes realizados no presente estudo, não houve perda da função de habitat para nenhuma das espécies testadas. Porém, como os testes de fuga tem uma função de varredura da contaminação em estudos de análise de risco ecológico, não podemos descartar possíveis efeitos crônicos dos solos analisados para as espécies em questão.

Os testes de fuga podem tanto nos dar uma idéia do risco ecológico local para a espécie testada, quanto indicar o potencial da espécie em recolonizar um local contaminado. A partir deste trabalho preliminar, poderia-se dizer que *P. minuta* é menos sensível que *F. candida* em relação aos solos contaminados por metais. Essas diferenças podem estar relacionadas à sensibilidade de cada espécie em relação aos metais ou em relação às propriedades dos solos testados. Os resultados podem indicar um maior potencial de *P. minuta* em recolonizar áreas impactadas, o que precisa ser investigado em estudos adicionais.

## CONCLUSÃO

Organismos de *Proisotoma minuta* reproduziram-se em laboratório e mostraram-se adequados para uso em testes de fuga laboratoriais, segundo os critérios de validade para o ensaio.

A partir destas primeiras comparações, pôde-se observar que a sensibilidade de *F. candida* e *P. minuta* parece ser diferente em solos contaminados por metais. Essas diferenças podem estar relacionadas à sensibilidade de cada espécie em relação aos metais ou em relação às propriedades dos solos testados. Nos ensaios realizados, *P. minuta* mostrou-se menos sensível aos solos contaminados por metais nos testes de fuga.

Outros estudos a respeito da sensibilidade dos organismos às substâncias de referência e às diferentes propriedades do solo devem ser realizados para demonstrar a faixa de sensibilidade para cada metal e corroborar o uso desta espécie nas análises de risco em ambientes tropicais.

## REFERÊNCIAS

ISO - International Organization for Standardization. *Soil quality-Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals-Part 2: tests with collembolans (Folsomia candida)*. ISO Draft 17512 - 2. Geneva, 2007.

Niemeyer, J.C.; Da Silva, E.M.; Sousa, J.P. Desenvolvimento de um esquema para avaliação de risco ecológico em ambientes tropicais: estudo de caso da contaminação por metais em Santo Amaro da Purificação, Bahia, Brasil.

*Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology* 2 (3): 263 - 267, 2007.

Zar, J.H. *Biostatistical analysis*. Hall International, London, 1996.