

CICLO DE VIDA E AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *HYDRA VIRIDISSIMA* VISANDO SUA UTILIZAÇÃO COMO ORGANISMO-TESTE EM ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS

Massaro, F. C.¹; Rocha, O.¹

fe_massaro@yahoo.com.br

¹Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos

1. Introdução

Os estudos ecotoxicológicos são instrumentos fundamentais para monitorar e prevenir os crescentes níveis de poluição, constituindo uma base de apoio essencial a uma política correta de gestão de recursos ambientais. O estudo da sensibilidade de certas espécies a determinados tipos de poluição pode fornecer informações relevantes para os programas de biomonitoramento. Estas informações podem ser complementadas por meio da realização de testes de toxicidade. Atualmente, existem métodos padronizados de testes de toxicidade para inúmeras espécies marinhas e de água doce, como por exemplo, peixes, invertebrados e algas.

No Brasil, os organismos-teste utilizados são geralmente espécies exóticas, que, segundo Cairns (1993), são freqüentemente utilizadas para determinar a toxicidade de efluentes em ambientes aquáticos nos quais não possuem nenhuma relevância ecológica ou mesmo ocorrência. Dessa forma, são relevantes os estudos ecotoxicológicos baseados em espécies locais ou autóctones que sejam representativas de nossos ecossistemas, valendo-se da sua importância ecológica como ferramenta mais realista para definir critérios de qualidade de água e lançamentos de efluentes em corpos de água locais ou regionais.

As hidras são os principais representantes de água doce do filo Cnidaria, e quando são expostas a substâncias tóxicas, elas podem manifestar mudanças na sua estrutura corporal. Estes organismos inicialmente reagem ao fator estressante pela contração dos tentáculos. As mudanças morfológicas são graduais e podem ser classificadas em: tentáculos com bulbos e tentáculos encurtados, como sendo expressões de sub-letalidade, e estado de tulipa e desintegração dos organismos como sendo expressões de letalidade (Trottier et al., 1997).

2. Objetivos

Conhecer aspectos relevantes do ciclo de vida da espécie nativa *Hydra viridissima* em condições laboratoriais, determinando-se o crescimento populacional e individual da espécie; e avaliar a sensibilidade desta espécie à substância tóxica de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), por meio de testes de toxicidade.

3. Materiais e Métodos

As hidras foram coletadas nos tanques de cultivo da Reserva Experimental do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, localizada no campus da Universidade Federal de São Carlos. O cultivo das hidras foi realizado em recipientes circulares de vidro com diâmetro de 20 cm, onde os organismos foram mantidos a uma temperatura constante de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas luz/ 8 horas escuro. Como meio de cultivo utilizou-se uma água reconstituída, a qual foi preparada de acordo com o procedimento descrito na norma da CETESB-L5.018 (1991). As hidras foram alimentadas com neonatas do Cladocera *Ceriodaphnia silvestrii*, fornecidas três vezes por semana. Os indivíduos foram observados, contados e medidos sob estereomicroscópio, com retículo micrométrico. Considerou-se o tempo de geração da espécie como sendo o intervalo de tempo desde que o broto se separa do hidróide mãe, até a produção e separação de um novo broto.

Foram realizados testes de toxicidade agudos, preliminares, com *Hydra viridissima*, testando-se o efeito de cinco concentrações (0,625, 1,25, 2,5, 5,0 e 10,0 mg/L) da substância de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), e um controle negativo, com o objetivo de se estabelecer o intervalo conveniente de concentrações para a determinação da CL_{50} (concentração letal para 50% dos organismos). Posteriormente, foram realizados 20 testes definitivos de toxicidade aguda. Os testes foram realizados em placas de cultivo celular com 12 orifícios e foram feitas quatro repetições, tanto para o controle negativo como para cada diluição do tóxico de referência, com quatro organismos cada. A duração dos testes de toxicidade aguda com as hidras foi de 96 horas e diariamente os organismos foram observados sob microscópio óptico, anotando-se o número de organismos que apresentavam modificações morfológicas e de que tipo.

Com estes dados, a CL_{50-96h} foi calculada para cada teste definitivo de toxicidade aguda utilizando-se o programa estatístico "Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays" (Hamilton et al., 1977). Foi estabelecida a faixa de sensibilidade para esta espécie, tendo sido utilizado, para tanto, o seguinte modelo desenvolvido pela USEPA (1985): a concentração do limite superior é igual à média das CL_{50-96h} mais dois desvios padrão, e a concentração do limite inferior é igual à média das CL_{50-96h} menos dois desvios padrão, sendo que a tendência central é igual à média.

4. Resultados

O crescimento populacional foi determinado a partir de uma população inicial de oito indivíduos de *Hydra viridissima*, os quais apresentaram uma taxa elevada de crescimento que pode ser descrita pelo modelo exponencial: $y = 6,5416e^{0,1628x}$, com um coeficiente de correlação $r = 0,97$ para a curva ajustada. O tempo de duplicação da população foi de 4,25 dias. Os brotos apresentaram comprimento e diâmetro médios iniciais de $0,28 \pm 0,11$ mm e $0,12 \pm 0,02$ mm, respectivamente. Após um tempo médio de $1,6 \pm 0,5$ dia, os brotos atingiram comprimento médio de $0,52 \pm 0,2$ mm e diâmetro médio de $0,10 \pm 0,02$ mm, e se destacaram do hidróide mãe. Logo após terem se soltado do hidróide mãe, as hidras apresentaram comprimento e diâmetro médios iniciais de $1,3 \pm 0,46$ mm e $0,10 \pm 0,02$ mm, respectivamente; e após um tempo médio de $5 \pm 1,77$ dias, elas atingiram comprimento médio de $2,11 \pm 0,42$ mm e diâmetro médio de $0,11 \pm 0,01$ mm, e começaram a se reproduzir. O tempo de geração médio desta espécie em condições laboratoriais foi de $6,6 \pm 1,5$ dias.

Quanto aos estudos ecotoxicológicos, a espécie sofreu alterações morfológicas nas concentrações de 2,5, 5,0 e 10,0 mg/L de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), sendo que na concentração de 2,5 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ as hidras apresentavam tentáculos com bulbos e poucas apresentavam tentáculos curtos (expressões de subletalidade). Já nas concentrações de 5,0 e 10,0 mg/L todas se desintegraram (expressão de letalidade). Com os resultados dos testes de toxicidade preliminares estabeleceram-se as concentrações de dicromato de potássio a serem utilizadas para os testes de toxicidade definitivos: 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 e 5,0 mg/L. Assim, estabeleceu-se que a faixa de sensibilidade de *Hydra viridissima* ao dicromato de potássio situa-se entre 2,8 mg/L e 4,3 mg/L, com valor médio de 3,55 mg/L.

5. Discussão e Conclusão

Levando-se em consideração a faixa de sensibilidade estabelecida para a espécie *Hydra viridissima* ao dicromato de potássio (2,8 a 4,3 mg/L), com valor médio de 3,55 mg/L, e aquela estabelecida para a espécie canadense, já padronizada pela USEPA, *Hydra attenuata* (5,22 a 7,26 mg/L) cujo valor médio da CL_{50-96h} é de 6,25 mg/L (Aguilar et al., 2002), observa-se que esta espécie nativa é mais sensível ao dicromato de potássio do que a espécie canadense, a qual já é utilizada como organismo-teste em testes ecotoxicológicos, inclusive no Brasil. Além disso, a espécie nativa apresenta maior sensibilidade ao dicromato de potássio do que *Chironomus xanthus* (Diptera, CL_{50} 7,12 mg/L), *Chironomus tentans* (Diptera, CL_{50} 61,00 mg/L), *Tanytarsus dissimilis* (Diptera, CL_{50} 57,30 mg/L) e *Physa heterostropha* (Gastropoda, CL_{50} 16,80 mg/L), espécies padronizadas que também são muito utilizadas na realização de testes de toxicidade (USEPA, 1984). Assim, observou-se que esta espécie de hidra é de fácil cultivo em laboratório, tem elevada taxa de crescimento populacional, curto tempo de geração e é sensível ao metal cromo, características primordiais para seu uso em bioensaios. Conclui-se, portanto, que a espécie *Hydra viridissima* é um potencial organismo-teste, e testes de sensibilidade para diferentes substâncias tóxicas deverão ser futuramente realizados para verificar o seu desempenho quando exposta a diferentes tipos de compostos tóxicos, assim como a amostras ambientais contaminadas.

6. Referências Bibliográficas

- AGUILAR, J. F. et al. *Estratégias para avaliação da toxicidade da água de abastecimento público do município de Piracicaba através de bioensaios*. Anais 32 ASSEMAE, Rio de Janeiro, Hotel Glória, 2002. pp. 38-42.
- CAIRNS, J. Jr. Environmental science and resource management in the 21st century: scientific perspective. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.12, p.1321-1329, 1993.
- CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. *Água – Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea)*. São Paulo: CETESB, 1991. (Norma técnica L5 018).
- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C., THURFTON, R. B. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Tech.*, v.11, p.714-719, 1977.
- TROTTIER, S. et al. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environm. Toxicol. Water. Qual.*, v.12, p.265-271, 1997.
- USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Ambient aquatic life water quality criteria for chromium*. Cincinnati, Ohio, 1984. 107p.
- USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA/600/4 – 85/014. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. Cincinnati, Ohio, 1985. 162p.