



## EFEITO DO CÁDMIO NA MORFOLOGIA DAS ASAS DE *DROSOPHILA MERCATORUM PARAREPLETA*.

M.C. Iurkiu; L.P.B. Machado; R.P. Mateus; M.O. Moura; M. Costa.

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Centro Oeste

---

### INTRODUÇÃO

Estudos demonstram que substâncias químicas, como metais pesados, podem causar perturbações no desenvolvimento dos organismos. Essas perturbações (variações) no meio podem afetar estruturas funcionais causando modificações morfológicas (Hosken *et al.*, 2000). Dentre esses metais o cádmio, pode causar efeitos tóxicos mesmo em concentrações muito pequenas. Apesar de o cádmio não apresentar biomagnificação, ele é um veneno cumulativo, porque não é rapidamente eliminado, permanecendo no organismo por várias décadas. (Baird, 2002). Assim, dado que o cádmio pode ser um estressor que pode afetar vários mecanismos moleculares e reprodutivos é importante quantificar a magnitude e a direção destes efeitos.

Um excelente sistema para se estudar este tipo de interação são os insetos, dado que respondem, de maneira geral, rapidamente as perturbações ambientais. Um marcador morfológico bastante usado em estudos de evolução é a forma da asa. A utilização das asas deve-se, principalmente, a identificação de marcos homólogos representados pela intersecção das veias, por estar contida em duas dimensões (Monteiro & Reis, 1999) e pela plasticidade que apresentam com resposta a variações ambientais. Dessa forma espera-se que perturbações causadas pelo cádmio em processos morfogenéticos, resultem em alterações na forma das asas.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do cádmio na morfologia de *Drosophila mercatorum pararepleta* utilizando como marcador morfológico a forma das asas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo foi analisada a forma das asas de *Drosophila mercatorum pararepleta* da linhagem

D33 cedida pelo Laboratório de Genética Evolutiva da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP/USP).

Para analisar o efeito do cádmio foram montados três cruzamentos parentais, utilizando 5 casais virgens com 7 dias de idade. Como substrato de postura foram utilizados 50 ml de meio de cultura banana/agar com adição de cádmio como sendo os tratamentos experimentais. As doses utilizados foram  $1,96 \times 10^{-6}$  M de nitrato de cádmio (tratamento 1);  $3,92 \times 10^{-6}$  M de nitrato de cádmio (tratamento 2) e controle, que não teve adição de nitrato de cádmio.

Os cruzamentos foram mantidos em uma sala climatizada numa temperatura de  $25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  com fotofase de 12 horas, sendo que a cada 7 dias foram realizados os repiques, que consistiu na passagem dos indivíduos para garrafas com meio de cultura novo, impedindo que houvesse sobreposição de gerações. As análises morfométricas foram concentradas em sub-amostras das gerações F1 e F2, resultantes do delineamento descrito acima.

As asas foram retiradas e montadas em lâminas de microscopia e posteriormente digitalizadas. As análises de morfometria seguiram o protocolo de Klingerberg e McIntyre (1998). Para permitir uma análise comparativa entre os dois lados as asas esquerdas forma refletidas, ficando na mesma posição das asas direitas. Em cada asa foram marcados 12 marcos anatômicos do tipo I nas intersecções das veias, utilizando o programa tps Dig 2 (Rohlf, 2005). Para analisar o efeito do erro no posicionamento dos marcos, todas as asas foram analisadas 3 vezes em 3 dias diferentes. Os marcos anatômicos foram superpostos segundo o método de Procrustes, onde as coordenadas x e y foram transladas, proporcionalizadas e rotacionadas, retirando o efeito de posição, tamanho e sentido (Monteiro & Reis, 1999).

Para determinar se existem diferenças entre as respostas das gerações F1 e F2 em relação à concentração de nitrato de cádmio foi utilizada uma ANOVA de dois fatores onde a variável resposta foi o tamanho do centróide e as variáveis preditoras a geração (F1 ou F2) e a concentração. Posteriormente foram analisados, separadamente, os resultados das análises de variância unifatoriais para cada uma das gerações, tendo como variável resposta o tamanho do centróide.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tamanho geral dos indivíduos, medido pelo tamanho do centróide, foi significativamente diferente entre as gerações (F1 e F2), ( $F_{1,78} = 6951,1$ ,  $P < 0,001$ ), sendo consideradas, nesse caso, como grupos distintos.

A geração F1 apresentou uma diferença no tamanho do centróide significativa entre as concentrações ( $F_{2,34} = 448,8$ ,  $P < 0,001$ ), demonstrando que *D. mercatorum* responde aos diferentes níveis de cádmio. Os resultados demonstraram um aumento no tamanho do centróide em relação à concentração de nitrato de cádmio. Nesse caso, moscas criadas em meio de cultura contendo nitrato de cádmio apresentaram tamanho maior do que aquelas do controle. As moscas do tratamento 2 ( $3,92 \times 10^{-6}$  M), o qual possuía a maior concentração de cádmio, foram as que apresentaram centróides maiores, seguidas pelas moscas do meio de cultura com a concentração 1 e posteriormente as do controle.

A geração F2 também apresentou diferença significativa no tamanho entre as concentrações ( $F_{2,44} = 685,0$ ,  $P < 0,001$ ), com a mesma direção de resposta da geração F1. De uma maneira geral, a geração F2 apresentou a mesma relação entre tamanho e concentração de cádmio que a geração F1, no entanto, a magnitude do efeito foi maior, como indicada na análise de variância. Dessa forma, apesar de F1 e F2 formarem grupos distintos, as duas gerações possuem a mesma direção de resposta em relação às diferentes concentrações de nitrato de cádmio. Mas no entanto, observa-se que o tamanho médio do centróide foi maior em F2, em comparação com F1, isso se deve possivelmente à adaptação ao nitrato de cádmio, sugerindo uma possível adaptação ao meio. Em um trabalho com *Drosophila melanogaster*, Bolnick (2001), observou que ambientes novos selecionam as

populações positivamente. Neste sentido, o cádmio agiu como um meio novo para adaptação.

## CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados obtidos conclui-se que *Drosophila mercatorum pararepleta* responde aos diferentes níveis de cádmio. Deste modo, insetos tratados com doses maiores de cádmio apresentaram maior tamanho de asa, e também a geração F2 apresentou um efeito maior que a geração F1. Esses resultados podem refletir uma possível adaptação ao nitrato de cádmio, sugerindo adaptação ao meio, resultado esse já encontrado em outros trabalhos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baird, C. 2002. Química ambiental. Porto Alegre Bookman, 2ªed. 622 pag.
- Bolnick, D. L. 2001. Intraspecific competition favours niche width expansion in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 410 : 463-466
- Hosken, J. D.; Blanckenhorn, W. U. & Warp, P. I. 2000. Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): Fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress. *J. Evol. Biol.* 13: 919-926.
- Klingerberg, C. P. & McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometric of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution*, 52 (5): 1363-1375.
- Monteiro, L. R. & Reis, S. F. 1999. Princípios de morfometria geométrica. Ribeirão Preto: Holos, 198 pag.
- Rohlf, F. J. 2005. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.05. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.