

DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS DE TOXICIDADE COM *Biomphalaria glabrata* (MOLLUSCA, GASTROPODA) COMO ORGANISMO-TESTE

[D.C. Elias¹](#); [R.M. Lanzer](#)

Laboratório de Toxicologia e Limnologia, Universidade de Caxias do Sul;

1- dcelias@ucs.br

INTRODUÇÃO

Os moluscos ainda são pouco utilizados em estudos de impactos ambientais, e embora altamente importantes economicamente e ecologicamente, não tem suporte ou diretrizes técnicas que estabeleçam métodos para ensaios com estes organismos (Ducrot *et al.*, 2014). Os gastrópodes apresentam uma relação ecológica com ambientes aquáticos que pode torná-los bons indicadores de qualidade ambiental, como sua mortalidade, reprodução, oviposição e desenvolvimento embrionário. O uso de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) como modelo é sugerido por ser um molusco de fácil cultivo e bastante estudado pela importância como hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, platelminto causador da esquistossomose. O uso como organismo-teste requer que seja estabelecida a sensibilidade deste molusco à uma substância de referência, com propriedades bem definidas, toxicidade e características químicas conhecidas (Tallarico *et al.*, 2014).

OBJETIVO

Esta pesquisa visa propor uma rotina de ensaios para avaliação de toxicidade utilizando *B. glabrata*, buscando nesta etapa estabelecer as concentrações adequadas de sulfato de cobre como substância de referência.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os moluscos são provenientes do Instituto Butantan e são cultivados no Laboratório de Toxicologia e Limnologia da Universidade de Caxias do Sul. Os organismos são mantidos em aquários com água reconstituída (pH: 7,2-7,6; Dureza: 40-60 mg de CaCO_3/L) e alimentados com *Lactuca sativa*. O fotoperíodo é de 12h e a temperatura permanece em torno de 23°C (± 2).

Para os ensaios foram utilizados organismos com 10-13mm de diâmetro, dispostos individualmente em béqueres de 200mL com 10 replicatas. O controle foi mantido em água de cultivo. Para análise das posturas, as paredes dos frascos foram forradas com plástico. Os testes foram realizados paralelamente com laboratórios do Instituto Butantan e da Embrapa Cerrados, sendo as concentrações previamente estabelecidas. O sulfato de cobre utilizado provém de um mesmo lote e foi compartilhado entre o grupo.

Foi realizado um ensaio agudo com 96 horas de duração e leituras a cada 24h. Neste ensaio foi utilizado além do grupo controle as seguintes concentrações de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,0625mg/L, 0,125mg/L, 0,25mg/L, 0,5mg/L, 1mg/L e 2mg/L. Foram conduzidos também dois ensaios crônicos, com duração de 30 dias e grupo controle. Para o primeiro ensaio crônico as concentrações de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foram as seguintes: 0,015mg/L, 0,03mg/L e 0,06mg/L. No segundo ensaio crônico, foram utilizadas as mesmas concentrações do primeiro, com acréscimo da concentração de 0,125mg/L. A alimentação dos organismos, leituras e troca de meio e recipiente foram feitas duas vezes por semana. Foi observada a mortalidade dos organismos, o número de desovas e quantidade de ovos por postura. Os dados obtidos nos diferentes ensaios foram analisados com auxílio do programa estatístico IBM SPSS 22, sendo a normalidade de distribuição dos dados verificada com o Teste de Kolmogorov-Smirnov e as diferenças entre as concentrações e controle foram testadas pela ANOVA e Teste de Tukey HSD.

DISCUSSÃO E RESULTADOS

No ensaio agudo foi observada mortalidade significativa em relação ao controle e inibição total de posturas a partir da concentração de 0,25mg/L.

No primeiro ensaio crônico a mortalidade foi de 20% em todas concentrações utilizadas. No segundo ensaio crônico a mortalidade foi de 90% em 0,125mg/L, o número de posturas e a quantidade de ovos foi significativamente menor em relação ao controle.

CONCLUSÃO

A partir da análise do ensaio agudo, obteve-se consenso das equipes de pesquisa quanto às concentrações, sendo prudente realizar repetições para garantir maior confiabilidade. Os resultados obtidos para os ensaios de toxicidade crônica ainda não permitem estabelecer as concentrações da substância de referência, sugerindo assim a revisão das concentrações propostas a fim de tornar as análises mais precisas e fornecer parâmetros bem estabelecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

TALLARICO, L. D. F *et al.* 2014. Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. *Ecotoxicol Environ Saf*; 110: p.208-15, 2014.

DUCROT, V. *et al.* 2014. Development and validation of an OECD reproductive toxicity test guideline with the pond snail *Lymnaea stagnalis* (Mollusca, Gastropoda). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*; 70: p.605-614, 2014.

AGRADECIMENTOS

(Agradeço aos pesquisadores parceiros: Dr. Eduardo Cyrino de Oliveira Filho e Dra. Lenita de Freitas Tallarico, e à Universidade de Caxias do Sul pelo fomento da bolsa de iniciação científica.)