



## **PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DO BIOMARCADOR TBARS EM MACROINVERTEBRADOS BIOINDICADORES.**

Maicon O. de Paula ;

Wanessa Deliberalli Jaquilini Piassão Rozane M. Restello Luiz U. Hepp Albanin A. Mielniczki-Pereira

### **INTRODUÇÃO**

Os ecossistemas aquáticos vêm sofrendo fortes alterações em função de múltiplos impactos ambientais decorrentes de atividades antrópicas. Para conciliar as atividades humanas, urbanas ou rurais, com a manutenção da qualidade hídrica, é importante monitorar a qualidade das águas em regiões cultivadas bem como em regiões que recebem resíduos de origem industrial ou doméstica (SMITH e LAMP, 2008). O uso de macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores é uma maneira eficiente de avaliar e monitorar os impactos antropogênicos em riachos. Além de estudo das alterações no nível de comunidades, os organismos bioindicadores também podem ser avaliados por meio de alterações bioquímicas, celulares e/ ou moleculares, chamadas de biomarcadores (BUSS *et al.*, 2008). A medida do biomarcador TBARS (substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico) indica o nível de peroxidação lipídica (membranas danificadas) em amostras biológicas e pode refletir a exposição a poluentes diversos, como metais ou agrotóxicos.

### **OBJETIVOS**

Padronizar o método de dosagem do biomarcador TBARS em macroinvertebrados bentônicos, visando utilizar este método em futuros trabalhos de monitoramento da qualidade de água de riachos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Organismos das taxa Aegla (Anomura, Crustacea), Smicridae (Trichoptera, Insecta) e Gripopterygidae (Plecoptera) foram coletados entre agosto e dezembro de 2012, com um coletor surber (malha de 250  $\mu$ m e área de 0,09 m<sup>2</sup>), em três riachos da região do Alto Uruguai do RS. Após a coleta, os mesmos foram transportados vivos até o laboratório de Biomonitoramento da URI – Erechim, triados e identificados até o nível taxonômico de gênero. Em seguida, foram utilizados para o preparo do extrato biológico, determinação de proteínas totais e medida de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por BERTHOLDO-VARGAS *et al.* (2009). A medida de TBARS baseia-se na análise colorimétrica da presença de malondialdeído (532 nm) que é um dos produtos finais da peroxidação de lipídios por espécies reativas de oxigênio.

### **RESULTADOS**

Em todos os macroinvertebrados avaliados, foi possível medir a peroxidação lipídica pela reação de TBARS. Em Aegla, o nível de peroxidação foi muito menor do que em Gripopterygidae e Smicridea (respectivamente  $0,32 \pm 0,027$ ;  $3,29 \pm 0,45$ ;  $5,18 \pm 1,3$  nmol/mg de proteína,). Foi observado que existe uma relação inversa entre a concentração de proteínas e os valores de TBARS, ou seja, quanto menor a quantidade de proteínas usada nas reações maior o valor de TBARS medido. Por outro lado, valores de proteína abaixo de 140  $\mu$ g resultam em leitura negativa de TBARS. Desta forma, a concentração de proteína a ser usada ficou estabelecida entre 200 a 300  $\mu$ g,

pois as concentrações maiores ou menores dificultam as análises.

## DISCUSSÃO

Existem poucos trabalhos de biomonitoramento que façam medidas de estresse oxidativo (catalase, TBARS, entre outros) em macroinvertebrados bentônicos. Na literatura foram encontrados apenas alguns estudos realizados na Europa (BERRA *et al.*, 2004; BARATA *et al.*, 2005). Entretanto, o uso de biomarcadores bioquímicos é de extrema importância uma vez que sua análise pode antecipar mudanças nos altos níveis de organização biológica, isto é, população, comunidade ou ecossistema. Desta forma, os biomarcadores podem ser usados de forma preditiva, permitindo que sejam tomadas ações de biorremediação antes que ocorram danos ambientais irreversíveis com consequências ecológicas severas (CAJARAVILLE *et al.*, 2000). As diferenças nos níveis de TBARS entre os três organismos avaliados neste trabalho podem indicar que existem variações intrínsecas na peroxidação lipídica em cada taxa e/ou que o ambiente de onde foram coletados os Gripopterygidae e Smicridea encontra-se mais favorável à geração de estresse oxidativo, em relação ao ambiente de coleta de Aegla.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram que a análise de TBARS em macroinvertebrados bioindicadores da qualidade de água é uma metodologia viável, a qual pode ser futuramente aplicada em estudos de monitoramento ambiental.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARATA, C.; LEKUMBERRI, I.; VILA-ESCAL, M.; PRAT, N.; PORT, C. 2005. Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities susceptibility to oxidative stress in the tricoptera larva *Hydropsyche exocellata* from the Llobregat river basin (NE Spain). *Aquatic Toxicology*, 74: 3-19.
- BERRA, E.; FORCELLA, M.; GIACCHINI, R.; MARZIALI, L.; ROSSARO, B.; PARENTI, P. 2004. Evaluation of enzyme biomarkers in freshwater invertebrates from Taro and Ticino river, Italy. *International Journal of Limnology*, 40: 169-180.
- BERTHOLDO-VARGAS, L.R.; MARTINS, J.N.; BORDIN, D.; SALVADOR, M.; SCHAFFER, A.L.; DE BARROS, N.M.; BARBIERI, L.; STIRPE, F.; CARLINI, C.R. 2009. Type 1 ribosome- inactivating proteins-Entomotoxic, oxidative and genotoxic action on *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*, 55: 51-58.
- BUSS, D.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAPTISTA, D.F. 2008. Monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos continentais. *Oecologia Brasiliensis*, 12: 339-345.
- CAJARAVILLE, M.P.; BEBIANNO, M.J.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C. & VIARENGO, A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*, 20: 295-311.
- SMITH, R.F.; LAMP, W.O. 2008. Comparison of insect communities between adjacent headwater and main-stem stream in urban and rural watersheds. *Journal of the North American Benthological*, 27: 161-175.

## Agradecimento

Ao CNPq – Edital MCT/CNPq nº 14/2011 - Processo 477274/2011-0 pelo apoio recebido.