

Estudo da ecotoxicidade aguda do resveratrol em *Daphnia similis* irradiadas e não irradiadas

Matheus Beani Ormenio, Sizue Ota Rogero e José Roberto Rogero
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

O resveratrol é sintetizado por uma grande variedade de plantas em resposta à radiação ultravioleta (UV) ou à ação de certos patógenos^[1]. É um composto com capacidade de proteger as células dos radicais livres. Esses radicais livres, considerados produtos tóxicos, são responsáveis pelo processo natural de envelhecimento celular. É conhecido que o resveratrol apresenta um efeito radiomodificador, além do potencial antioxidante, antiinflamatório, contra doenças cardiovasculares. O crescente aumento do uso do resveratrol em função das atividades biológicas tem levado à preocupação sobre a toxicidade em várias espécies de interesse biológico. Na área ecotoxicológica são realizados ensaios de ecotoxicidade aguda em organismos aquáticos que avaliam efeitos letais de determinadas substâncias e ou amostras ambientais. Estes ensaios são importantes para fornecer informações fundamentais e rápidas para o desenvolvimento e adoção de critérios para a melhoria da qualidade ambiental^[2]. Os Cladoceras são largamente utilizados como organismos-teste, devido sua extrema sensibilidade aos tóxicos no ambiente e por apresentarem fácil manejo em laboratório. Neste estudo foi utilizada a *Daphnia similis* para verificar o efeito tóxico do resveratrol e obter a DL50 da radiação gama(γ) nestes organismos.

OBJETIVO

Avaliar a ecotoxicidade aguda do resveratrol e obtenção da DL50 da radiação γ em *Daphnia similis*. Posteriormente será

realizado estudo do efeito do resveratrol em organismos irradiados, baseados nos resultados da EC50 e DL50 obtidos neste trabalho.

METODOLOGIA

O ensaio de ecotoxicidade aguda utilizado foi adaptado seguindo a norma NBR^[3], em *D. similis* e resveratrol como organismo e substância testes. A água deionizada reconstituída com dureza de 40 a 48 mg L⁻¹ CaCO₃ e pH de 7,0 a 7,6 foi usada como de cultivo e diluição (meio MS). Primeiramente 10 neonatas com idade de 6 a 24 h foram colocadas em béqueres contendo 20 mL de cada diluição do resveratrol (0; 5; 10; 15; 20 e 30 μ M), sendo 2 réplicas por diluição. Como controle as neonatas foram colocadas em meio MS. Esses béqueres foram mantidos em incubadora em 22 \pm 2°C, foto período de 12 horas luz. Após 24 h 5 neonatas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de meio MS, sendo 4 réplicas para cada diluição utilizada de resveratrol. Os tubos foram mantidos por 48 h em incubadora, nas mesmas condições, sem alimentação. O efeito final avaliado foi o de imobilidade dos organismos e com esses resultados foi calculada a CE50 (concentração efetiva que causa imobilidade a 50% dos organismos) do resveratrol em *D. similis* utilizando o programa estatístico Trimmed Spearman-Kärber.

No ensaio de DL50 da radiação gama em *D. similis* 10 neonatas com idade de 6 a 24 h foram colocadas em béqueres contendo 20 mL de meio MS, sendo 2 réplicas para

cada dose de radiação, mantidos em incubadora por 24 h, após este período foram colocados em tubos Falcon contendo 10 mL de meio MS e 5 organismos, sendo 4 réplicas para cada dose de radiação onde foram expostas em fonte de ^{60}Co (Gamma-Cell 200) nas doses de 0; 200; 400; 600; 800 e 1.000 Gy. Após a irradiação os organismos foram mantidos por 48 h em incubadora. O efeito final avaliado foi à imobilidade dos organismos e com os resultados obtidos foi calculada a DL50 da radiação gama, utilizando o mesmo programa estatístico do ensaio anterior.

Na Fig. 1 estão apresentados os resultados, em gráfico, do ensaio de ecotoxicidade aguda do resveratrol e a CE50 obtida foi de 6,04 μM .

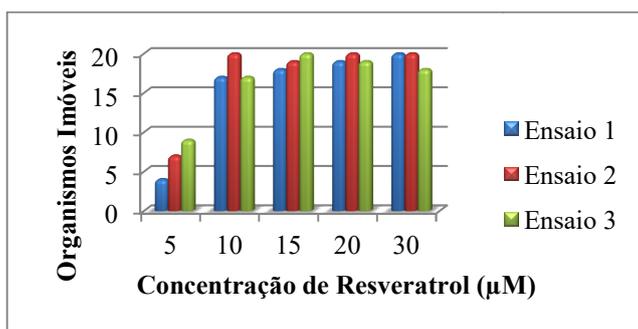


FIGURA 1. Ensaio de ecotoxicidade aguda do resveratrol em *D. similis*.

Os resultados do ensaio para determinação da DL50 da radiação gama em *D. similis* estão apresentados no gráfico da Fig. 2. A DL50 obtida foi de 585,43 Gy.

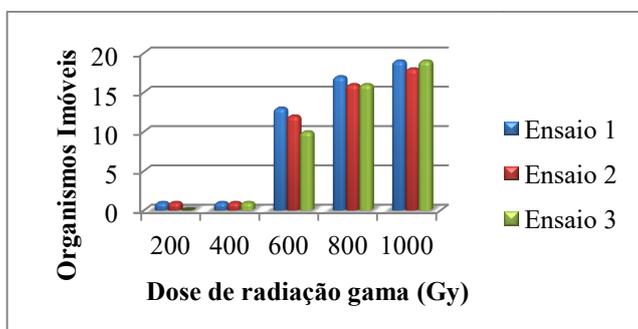


FIGURA 2. Ensaio de DL50 da radiação gama em *D. similis*.

CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos de CE50 do resveratrol (6,04 μM) e da DL50 da radiação gama em *D. similis* (585,43 Gy) o estudo será continuado para avaliar o efeito radiomodificador do resveratrol, irradiando os organismos após a incubação prévia dos mesmos em resveratrol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]Van Etten, H.D.; Mansfield, J.W.; Bailey, J.A.; Farmer, E.E. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus "phytoanticipins". *Plant Cell*, v. 6, p. 1191-1192, 1994.

[2]Fonseca, A.L. A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) e *Poecillia reticulata* (Pisces, Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. 1991. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo (EESC/USP), São Carlos.

[3]Associação brasileira de normas técnicas. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera,). Norma ABNT NBR – 12713, 2009.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.