

## Avaliação dos efeitos da toxicidade em planárias límnicas expostas a cádmio e cromo

### *Evaluation of the toxicity in limnic planarians exposed to cadmium and chromium*

Bárbara Rosa Penha<sup>1,2,3</sup>, Regiane Daniele Silva e Carvalho<sup>1,2</sup>, Flávia Villaça Morais<sup>2</sup>, Karla Andressa Ruiz Lopes<sup>1,2</sup>, Nádya Maria Rodrigues de Campos Velho<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Planárias, Centro de Estudos da Natureza, Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP, São José dos Campos, SP.

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D - Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP, São José dos Campos, SP.

<sup>3</sup> Autor para correspondência (*Author for correspondence*): barbararosa\_sjc@hotmail.com

#### Resumo

A poluição por metais pesados no meio ambiente significa um grave problema devido à toxicidade e biomagnificação. A sensibilidade das planárias às alterações ambientais e a ampla distribuição na natureza faz com que sejam consideradas organismos-teste para estudos de toxicidade e biomonitoramento. Foram selecionados 60 espécimes de *Girardia tigrina*, provenientes da coleta de macrófitas *Pistia stratiotes* em um trecho urbano do Rio Paraíba do Sul, no município de Jacareí-SP, e 120 espécimes de *Girardia* sp. provenientes da coleta no Ranário Toca do Lobo, no município de São José dos Campos-SP. Os exemplares de cada espécie foram divididos em dois grupos experimentais e um controle, constituídos cada por 20 indivíduos. As soluções-teste utilizadas foram: sulfato de cádmio ( $\text{CdSO}_4$ ) e trióxido de cromo ( $\text{CrO}_3$ ), para *Girardia tigrina* utilizou-se a concentração de  $1 \times 10^{-6}$  mmol/L de cada composto e concentrações de  $1 \times 10^{-6}$  mmol/L e  $4 \times 10^{-6}$  mmol/L de cada composto para *Girardia* sp. Os espécimes foram observados a cada 4 horas por 12 horas consecutivas e posteriormente em intervalos de 24 horas até 96 horas. O presente estudo mostrou a toxicidade do  $\text{CdSO}_4$  ( $1 \times 10^{-6}$  mmol/L) para *Girardia tigrina* afetando mais da metade (65%) dos seus exemplares no decorrer das 96 horas de exposição, enquanto que para *Girardia* sp. nestas mesmas condições não foi observado letalidade. Na concentração de  $4 \times 10^{-6}$  mmol/L para *Girardia* sp. em 72 horas o  $\text{CdSO}_4$  causou óbito em 55% dos espécimes expostos. O  $\text{CrO}_3$  nas concentrações utilizadas não causou letalidade em nenhuma das espécies.

**Palavras-chave:** bioindicador; Platyhelminthes; toxicologia; metais pesados.

#### Abstract

The pollution by heavy metals in the environment means a serious problem due to the toxicity and biomagnification. The sensitivity of planarians to environmental changes and wide distribution in nature causes them to be considered test organisms for toxicity studies and biomonitoring. Were selected 60 specimens of *Girardia tigrina*, from the collection of macrophytes *Pistia stratiotes* on a stretch urban of the Paraíba do Sul River, at the city of Jacareí-SP, and 120 specimens of *Girardia* sp. from the collection at the Ranário Toca do Lobo, in São José dos Campos-SP. The specimens of each type were divided into two experimental groups and one control group, each consisting of 20 individuals. The test solutions used were: cadmium sulfate ( $\text{CdSO}_4$ ) and chromium trioxide ( $\text{CrO}_3$ ), to *Girardia tigrina* was used the concentration  $1 \times 10^{-6}$  mmol/L of each compound and concentrations of  $1 \times 10^{-6}$  mmol/L and  $4 \times 10^{-6}$  mmol/L of each compound to *Girardia* sp. The specimens were observed every 4 hours for 12 consecutive hours and then at 24 hour intervals until 96 hours. The present study demonstrated the toxicity of  $\text{CdSO}_4$  ( $1 \times 10^{-6}$  mmol/L) for *Girardia tigrina* affecting more than half (65%) of its specimens in the course of 96 hours, whereas for *Girardia* sp. under these conditions was not observed lethality, only one case of deterioration in the anterior region. At a concentration of  $4 \times 10^{-6}$  mmol/L *Girardia* sp. in 72 hours the  $\text{CdSO}_4$  caused death in 55% of the specimens exposed. The  $\text{CrO}_3$  at the concentrations used no caused mortality in either species.

**Keywords:** bioindicator; Platyhelminthes; toxicology; heavy metals.

## INTRODUÇÃO

O meio aquático tem sido utilizado para lançamento de efluentes, industriais e domésticos. Para o monitoramento da qualidade dos corpos hídricos, análises químicas e físicas são consideradas insuficientes para predizer a possível toxicidade, e o uso de ensaios ecotoxicológicos permite a comprovação de que determinado composto ou suas misturas

apresentam algum efeito sobre os organismos aquáticos (Barros et al., 2006).

No sentido ecotoxicológico, a bioindicação, pode ser definida como o uso de seres vivos para verificação e avaliação dos efeitos da poluição ambiental, seja do ar, da água ou do solo (Klumpp, 2001). Segundo Lima (2001), organismos ou comunidades ao responderem a alterações ambientais modificando suas funções vitais ou suas composições químicas,

fornecem informações sobre a situação ambiental e podem ser definidos como bioindicadores. Quando expostos a determinados poluentes os organismos podem apresentar alterações a nível bioquímico, fisiológico, morfológico ou comportamental (Magalhães & Ferrão-Filho, 2008).

O efeito que um poluente provoca encontra-se no final de uma cadeia de eventos que inicia com a emissão do poluente pela fonte emissora, seguida pela dispersão no meio ambiente provocada pela ação de fatores climáticos como o vento e a precipitação, que determinam as concentrações ambientais, e finaliza, com os efeitos do poluente sobre seres humanos, animais e plantas (Klumpp, 2001).

A poluição por metais pesados no meio ambiente apresenta um grave problema devido à alta toxicidade e capacidade de bioacumulação nos organismos (Guecheva, 2002). Metais como cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), mercúrio (Hg), zinco (Zn) podem ser citados como os mais estudados, devido aos efeitos à saúde humana (Muñoz, 2002). O ambiente aquático merece atenção em relação aos possíveis efeitos causados por metais pesados sobre os organismos aquáticos e o risco para a saúde humana associada ao uso destas águas (Guecheva, 2002).

O cádmio (Cd) pode acumular-se nas plantas, em animais, e, dessa forma, atingir o homem e, à semelhança do que acontece na cadeia alimentar, acumular-se no organismo por longo tempo (Cardoso & Chasin, 2001). A toxicidade do cromo (Cr) não é tanto pelo fato de ser um metal pesado, mas por causa do seu alto poder oxidante, com isso além do homem, plantas e animais aquáticos e terrestres quando expostos a este metal podem apresentar alterações nos processos metabólicos (Silva & Pedrozo, 2001). A presença dos metais cádmio e cromo ao longo do tempo representam uma ameaça para os ambientes aquáticos.

Para realização dos ensaios ecotoxicológicos deve-se preferencialmente utilizar

organismos-teste cultivados em laboratório, com isso podem-se conhecer informações importantes para a utilização dos organismos evitando resultados falsos. A utilização de organismos estressados, mal-nutridos ou debilitados pode indicar uma falsa toxicidade das amostras ensaiadas (Arenzon et al., 2011).

Planárias são metazoários bilateralmente simétricos pertencentes ao filo Platyhelminthes (Reddien & Alvarado, 2004). São organismos potencialmente úteis na ecotoxicidade e genotoxicidade do meio ambiente, como bioindicadores da qualidade da água e como agente de controle biológico. Estão presentes na fauna aquática de ambientes paludícolas lênticos (lagos e lagoas), córregos, águas paradas, pantanosas e às vezes poluídas e são suscetíveis a mudanças ambientais (Prá et al., 2005; Calevro et al., 1998).

Dentre os invertebrados bentônicos aquáticos, as planárias permitem a avaliação do efeito dos poluentes através de análises de diferentes bioensaios, os quais detectam efeito em distintos níveis de organização biológica, tais como molecular, celular, morfológico, fisiológico ou comportamental (Guecheva et al., 2001). Ao atuar em um nível molecular, os xenobióticos podem modificar a estrutura, bem como a atividade de biomoléculas, incluindo o material genético (Prá et al., 2005).

Devido à capacidade de regeneração e à presença de uma grande população de células-tronco proliferativas inclusive nos organismos adultos, faz com que o uso destes organismos para avaliação dos riscos biológicos dos poluentes se mostre promissor (Guecheva et al., 2003; Prá et al., 2005).

Vários estudos vêm sendo realizados com diferentes espécies de planárias (*Girardia tigrina*, *Girardia shubarti*, *Dugesia japonica*, *Dugesia etrusca* e *Schmidtea mediterranea*) confirmando a sua importância como bioindicador e a sua utilização em diferentes bioensaios (Wu et al., 2012; Barros et al., 2006; Prá et al., 2005; Guecheva, 2002; Guecheva et al., 2001; Calevro et al., 1998; Safadi, 1993).

Estudos com diversos modelos animais, entre eles as planárias, podem contribuir com informações importantes sobre as respostas dos organismos aos compostos lançados nos recursos hídricos, auxiliando na decisão e implantação de medidas que visem melhorar a conservação do meio ambiente.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade de *Girardia tigrina* (Girard, 1850) e *Girardia* sp. expostas aos metais sulfato de cádmio (CdSO<sub>4</sub>) e trióxido de cromo (CrO<sub>3</sub>).

## MATERIAL E MÉTODOS

A espécie *Girardia tigrina* é proveniente da coleta de macrófitas (*Pistia stratiotes*) realizada em um trecho urbano do Rio Paraíba do Sul, no município de Jacareí-SP. Suas coordenadas geográficas são: 23°18'10''sul 45°17'31'' oeste. A espécie *Girardia* sp. é proveniente da coleta no Ranário Toca do Lobo, no município de São José dos Campos, SP. Após a coleta os espécimes foram transportados ao Laboratório de Planárias (LAPLA) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP - São José dos Campos, SP) para triagem e acondicionamento.

Os animais coletados foram acondicionados em recipientes plásticos e cultivados no laboratório com água de poço proveniente do Parque da Cidade Roberto Burle Marx (São José dos Campos, SP), por um período superior a um ano, para posterior realização dos experimentos. A alimentação foi realizada semanalmente com fígado bovino, e a troca da água dos recipientes após cada alimentação.

Foram selecionados 60 espécimes de *Girardia tigrina* e 120 espécimes de *Girardia* sp. adultos, com aproximadamente 10 mm. Realizou-se uma avaliação morfológica, selecionando-se os animais que apresentavam morfologia perfeita, utilizando-se um estereomicroscópio Leica Zoom 2000. Durante o ensaio os exemplares foram mantidos sob iluminação natural, com temperatura oscilando entre 18°C a 24°C ±1°C, e com supressão de alimentação.

As soluções-teste utilizadas foram o sulfato de cádmio (CdSO<sub>4</sub>) e trióxido de cromo (CrO<sub>3</sub>). Para *Girardia tigrina* utilizou-se a concentração de 1x10<sup>-6</sup> mmol/L para cada composto. Para *Girardia* sp. utilizou-se as concentrações de 1x10<sup>-6</sup> mmol/L e 4x10<sup>-6</sup> mmol/L para cada composto. A concentração 4x10<sup>-6</sup> mmol/L foi utilizada, pois valores inferiores a este não apresentaram resultados significativos para a espécie *Girardia* sp.

Os indivíduos selecionados de *Girardia tigrina* e de *Girardia* sp. foram distribuídos em três grupos, a saber:

Grupo CdSO<sub>4</sub> = 20 espécimes de cada espécie por concentração.

Grupo CrO<sub>3</sub> = 20 espécimes de cada espécie por concentração.

Grupo Controle = 20 espécimes acondicionados em água de manutenção por espécie.

Os exemplares foram acondicionados individualmente em recipientes plásticos, contendo 30 ml de solução-teste e as observações realizadas a cada 4 horas por 12 horas consecutivas e posteriormente em intervalos de 24 horas até completar 96 horas.

Para fotodocumentação utilizou-se uma câmera digital da marca Sony, modelo Cyber-Shot DSC-W620 de 14.1 mega pixels, acoplada a um estereomicroscópio Leica Zoom 2000, com aumento de 10x15.

Para realização da análise estatística utilizou-se Análise de Variância (ANOVA) com teste *a posteriori* de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes ecotoxicológicos são baseados nas respostas apresentadas por organismos vivos. A qualidade dos organismos utilizados é fundamental para a confiabilidade dos resultados, por isso os organismos-teste utilizados devem de preferência, ser cultivados em laboratório, para que se possam ter informações importantes destes e evitar resultados não confiáveis (Arenzon et al., 2011). De acordo com Massaro (2006) o estabelecimento de um

cultivo é fundamental para qualquer organismo-teste, uma vez que é necessário um estoque de organismos para realização dos testes de toxicidade. Os exemplares utilizados no presente estudo foram provenientes do cultivo no Laboratório de Planárias (LAPLA) da Universidade do Vale do Paraíba, por um período superior a um ano.

Para Magalhães & Ferrão-Filho (2008) normalmente o efeito observado nos testes agudos de curta duração (0 a 96 horas) é a letalidade ou outra manifestação do organismo que a anteceda, como o estado de imobilidade em invertebrados. No caso de

letalidade os efeitos são considerados agudos quando ocorre a morte de 50% dos organismos-teste depois de um determinado tempo de exposição. Neste estudo o CdSO<sub>4</sub> na concentração 1x10<sup>-6</sup> mmol/L foi letal para 13 espécimes (65%) de *Girardia tigrina* no final de 96 horas de exposição enquanto que para *Girardia* sp. nesta mesma concentração não ocasionou letalidade, mas apenas deterioração de um espécime. O CrO<sub>3</sub> não apresentou letalidade para nenhuma espécie, apenas uma deterioração para um exemplar de *Girardia tigrina* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Aspectos morfológicos observados em *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. em 96 horas de exposição, para os compostos CdSO<sub>4</sub> e CrO<sub>3</sub> na concentração 1x10<sup>-6</sup> mmol/L (20 espécimes por grupo de cada espécie).

**Table 1.** Morphological aspects observed in *Girardia tigrina* and *Girardia* sp. from 96 hours of exposure to CdSO<sub>4</sub> and CrO<sub>3</sub> chemical solutions with concentration 1x10<sup>-6</sup> mmol/L (20 specimens by each chemical group, for each *Girardia* specie).

Aspectos e concentrações (1x10 <sup>-6</sup> mmol/L)	<i>Girardia tigrina</i>			<i>Girardia</i> sp.		
	CdSO <sub>4</sub>	CrO <sub>3</sub>	Controle	CdSO <sub>4</sub>	CrO <sub>3</sub>	Controle
Integridade	6	19	20	19	20	20
Desintegração/Morte	13	0	0	0	0	0
Deterioração	1	1	0	1	0	0
Mobilidade	7	20	20	20	20	20

Na concentração 4x10<sup>-6</sup> mmol/L o CdSO<sub>4</sub> foi letal para 17 espécimes (85%) de *Girardia* sp. no final de 96 horas, enquanto que o CrO<sub>3</sub> não ocasionou letalidade apenas deterioração para

dois espécimes (Tabela 2). Em 72 horas de exposição o CdSO<sub>4</sub> foi letal para 55% dos espécimes expostos.

**Tabela 2.** Aspectos morfológicos observados em *Girardia* sp. em 96 horas de exposição, para os compostos CdSO<sub>4</sub> e CrO<sub>3</sub> na concentração 4x10<sup>-6</sup> mmol/L.

**Table 2.** Morphological aspects observed in *Girardia* sp. from 96 hours of exposure to CdSO<sub>4</sub> and CrO<sub>3</sub> chemical solutions with concentration 4x10<sup>-6</sup> mmol/L.

Aspectos e concentrações (4x10 <sup>-6</sup> mmol/L)	CdSO <sub>4</sub>	CrO <sub>3</sub>	Controle
Integridade	2	18	20
Desintegração/Morte	17	0	0
Deterioração	1	2	0
Mobilidade	3	20	20

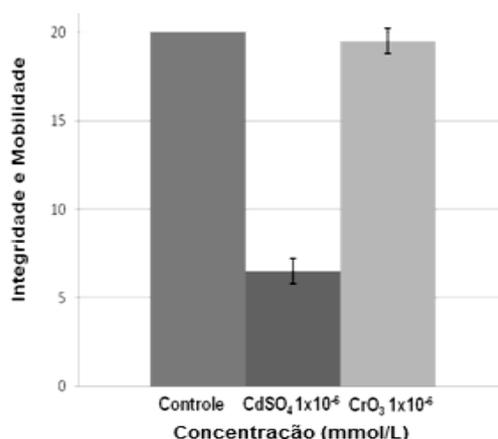
A partir de 24 horas de exposição os exemplares das duas espécies em estudo independente da concentração apresentaram baixa mobilidade para o cádmio e cromo se comparados ao controle.

Segundo Santos et al. (2012) o mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) são metais potencialmente tóxicos, sendo considerados os mais perigosos poluentes aquáticos, corroborando com os resultados do presente estudo, que mostrou uma alta toxicidade do CdSO<sub>4</sub> na concentração de 1x10<sup>-6</sup> mmol/L para *Girardia tigrina* e 4x10<sup>-6</sup> mmol/L para *Girardia* sp. afetando mais da metade dos exemplares nas respectivas concentrações.

Wu et al. (2012) investigaram a bioacumulação de metais em *Dugesia japonica* após a exposição aguda a CdSO<sub>4</sub> e para concentrações acima de 1,5 mg Cd/L foi observado óbito. No presente estudo *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. apresentaram-se mais sensíveis ao CdSO<sub>4</sub> quando comparadas a *Dugesia japonica*, onde a concentração 1x10<sup>-6</sup> mmol/L (0,0002 mg Cd/L) para *Girardia tigrina* em 96h, e a concentração de 4x10<sup>-6</sup> mmol/L (0,00083 mg Cd/L) para *Girardia* sp. em 72h, foi suficiente para ocorrer óbito.

De acordo com Calevro et al. (1998) a concentração 1,5 mM de Cr<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> foi suficiente para causar letalidade em *Dugesia etrusca* no primeiro dia de tratamento. Para CdCl<sub>2</sub> concentrações superiores a 1,8 μM foram letais para esta espécie. O Cd<sup>+2</sup> foi significativamente mais tóxico do que o Cr<sup>+3</sup> para *Dugesia etrusca*. Estudo realizado por Safadi (1993) indicou a seguinte ordem decrescente de toxicidade para *Girardia tigrina*: Hg<sup>+2</sup> > Cu<sup>+2</sup> > Cd<sup>+2</sup> > Cr<sup>+6</sup> > Zn<sup>+2</sup>, o que confirma os resultados do presente estudo onde o cádmio apresentou um grau de toxicidade superior ao do cromo.

Para a espécie *Girardia tigrina* a análise comparativa dos aspectos morfológicos (integridade/mobilidade) do grupo experimental CdSO<sub>4</sub> e CrO<sub>3</sub> na concentração 1x10<sup>-6</sup> mmol/L, e controle, indicou que o grupo CrO<sub>3</sub> e controle não diferem estatisticamente entre si, já a média do tratamento (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub> mostrou-se inferior aos demais grupos, existindo diferença entre os grupos CrO<sub>3</sub> e controle em relação ao CdSO<sub>4</sub>. Foi aplicado o teste *a posteriori* de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Houve diferença significativa sendo o valor de p<0.05 (ANOVA, F(2,3) = 351,5, p < 0.001) (Figura 1).



**Figura 1.** Comparação (média e erro padrão) dos aspectos morfológicos (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub>, CrO<sub>3</sub> e controle de *Girardia tigrina* no final das 96 horas de observação.

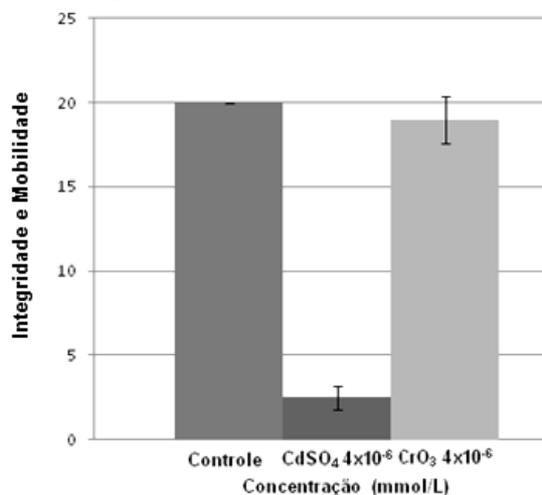
**Figure 1.** Comparison (mean and standard error) of morphological aspects (integrity / mobility) of CdSO<sub>4</sub>, CrO<sub>3</sub> and control *Girardia tigrina* after 96 hours of observation.

A análise comparativa dos aspectos morfológicos (integridade/mobilidade) do grupo experimental CdSO<sub>4</sub> e CrO<sub>3</sub> na

concentração 4x10<sup>-6</sup> mmol/L, e controle de *Girardia* sp. indicou que o grupo CrO<sub>3</sub> e controle não diferem estatisticamente entre si,

já a média do tratamento (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub> mostrou-se inferior aos demais grupos, existindo diferença entre os grupos CrO<sub>3</sub> e controle em relação ao CdSO<sub>4</sub>. Foi aplicado o

teste a *posteriori* de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Houve diferença significativa sendo o valor de  $p < 0.05$  (ANOVA,  $F(2,3) = 231,8$ ,  $p < 0.001$ ) (Figura 2).

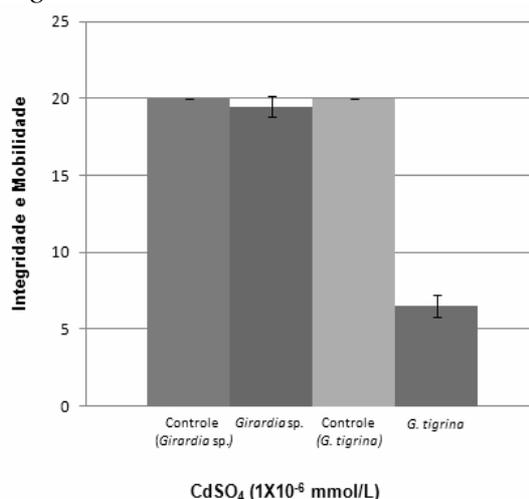


**Figura 2.** Comparação (média e erro padrão) dos aspectos morfológicos (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub>, CrO<sub>3</sub> e controle de *Girardia* sp. no final das 96 horas de observação

**Figure 2.** Comparison (mean and standard error) of morphological aspects. (integrity / mobility) of CdSO<sub>4</sub>, CrO<sub>3</sub> and control *Girardia* sp. after 96 hours of observation.

Entre *Girardia tigrina*, *Girardia* sp. e controle a análise comparativa do grupo CdSO<sub>4</sub> (1x10<sup>6</sup> mmol/L) indicou que o grupo controle de *Girardia* sp., grupo controle de *Girardia tigrina* e grupo CdSO<sub>4</sub> de *Girardia* sp. não diferem estatisticamente entre si, já a média do tratamento (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub> de *Girardia tigrina* mostrou-

se inferior aos demais grupos, existindo diferença entre os grupos CdSO<sub>4</sub> de *Girardia* sp. e controles em relação a este grupo. Foi aplicado o teste a *posteriori* de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Houve diferença significativa sendo o valor de  $p < 0.05$  (ANOVA,  $F(3,4) = 356$ ,  $p < 0.001$ ) (Figura 3).



**Figura 3.** Comparação (média e erro padrão) dos aspectos morfológicos (integridade/mobilidade) do grupo CdSO<sub>4</sub> e controle de *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. no final das 96 horas de observação.

**Figure 3.** Comparison (mean and standard error) of morphological aspects. (integrity / mobility) of CdSO<sub>4</sub> and control *Girardia tigrina* and *Girardia* sp. after 96 hours of observation.

Além dos efeitos letais, os metais podem exercer efeitos tóxicos subletais sobre as planárias como a degeneração do corpo, redução da mobilidade, perda de coordenação dos movimentos de locomoção e fortes contrações do corpo (Safadi, 1993), o que também foi observado por Calevro et al. (1998) onde antes da morte as planárias *Dugesia etrusca* expostas ao  $\text{CdCl}_2$ , mostraram uma variedade de respostas tóxicas subletais, como alterações na superfície do corpo e ulcerações. Conforme Zhang et al. (2010) os efeitos comportamentais parecem ser uma resposta ao estresse causado nos

organismos e a intensidade dos sintomas está diretamente relacionada à concentração de Cd na água e na duração da exposição. Confirmando os nossos resultados onde os exemplares de *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. expostos a este metal apresentaram deterioração na região posterior (Figura 4a), superfície ventral voltada para cima durante a maior parte do tempo (Figura 4b), perda da faringe (Figura 4c, 4g), deterioração na região anterior (Figura 4e), deterioração na região anterior e posterior (Figura 4f) e movimentos de contorção antes da morte (óbitos - Figura 4d, 4h).



**Figura 4.** Espécimes de *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. expostos a  $\text{CdSO}_4$  na concentração  $1 \times 10^{-6}$  mmol/L e  $4 \times 10^{-6}$  mmol/L respectivamente durante 96 horas de exposição. *Girardia tigrina*: a – deterioração na região posterior; b – espécime com a região voltada para cima; c – perda da faringe; d – óbito. *Girardia* sp.: e – deterioração na região anterior; f – deterioração na região anterior e posterior; g – perda da faringe; h – óbito.

**Figure 4.** Specimens of *Girardia tigrina* and *Girardia* sp. exposed the  $\text{CdSO}_4$  in concentration  $1 \times 10^{-6}$  mmol /L and  $4 \times 10^{-6}$  mmol /L respectively for 96 hours. *Girardia tigrina*: a - deterioration in the posterior region; b - specimen with the region facing upward; c - loss of the pharynx; d - death. *Girardia* sp: e - deterioration in the anterior region; f - deterioration in the anterior and posterior regions; g - loss of the pharynx; h - death.

A utilização de planárias da espécie *Girardia tigrina* em testes de toxicidade de efluente da Refinaria de Petróleo de Paulínia, indicou que não houve diferença detectável na maioria das amostras, em relação à diminuição ou modificação da locomoção dos animais observados (Barros et al., 2006). No presente estudo a partir de 24 horas de exposição os exemplares de *Girardia tigrina* e *Girardia* sp. expostos ao  $\text{CrO}_3$  e  $\text{CdSO}_4$  independente da concentração apresentaram diminuição da locomoção, se comparados ao controle.

Várias outras espécies de invertebrados e vertebrados vêm sendo utilizadas como organismo teste para ensaios ecotoxicológicos agudos no Brasil, como *Daphnia similis*, *Daphnia magna*, *Pimephales promelas* e *Danio rei* (Arenzon et al., 2011). O presente estudo mostrou a importância das planárias como organismos-teste para ensaios agudos na avaliação de poluentes.

## CONCLUSÃO

As duas espécies em estudo apresentaram efeitos subletais (morfológicos e comportamentais) antes da morte, como a deterioração do corpo (região pré e pós faríngeal e farínge), diminuição da mobilidade e contrações do corpo.

Houve diferença significativa entre os metais  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{CdSO}_4$  e controle para as duas espécies onde o  $\text{CdSO}_4$  foi significativamente mais tóxico do que o  $\text{CrO}_3$ . O  $\text{CrO}_3$  na concentração utilizada não causou letalidade em nenhuma das espécies.

A espécie *Girardia tigrina* mostrou ser mais sensível ao  $\text{CdSO}_4$  do que a *Girardia* sp.

Os resultados obtidos mostraram que as planárias são consideradas organismos importantes para avaliação da toxicidade, servindo como bioindicadores para testes ambientais.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Milton Beltrame Jr. responsável pelo Laboratório de Síntese Orgânica - Instituto de Desenvolvimento e Pesquisa (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), pelo fornecimento dos metais utilizados neste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ARENZON, A.; NETO, T. J. P.; GERBER, W. 2011. **Manual de toxicidade em influentes industriais**. Porto Alegre: CEP SENAI.
- BARROS, G. S.; ANGELIS, D. F.; FURLAN, L. T.; CORREA JUNIOR, B. 2006. Utilização de planárias da espécie *Dugesia (Girardia) tigrina* em testes de toxicidade de efluente de refinaria de retróleo. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, 1(1):67-70.
- CALEVRO, F.; FILIPI, C.; DERI, P.; ALBERTOSI, C.; BATISTONE, R. 1998. Toxic effects of aluminium, chromium and cadmium in intact and regenerating freshwater planarians. **Chemosphere**, 37(4):651-659.
- CARDOSO, L. M. N.; CHASIN, A. A. M. 2001. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Salvador: CRA - Centro de Recursos Ambientais.
- GUECHEVA, T. N. 2002. **Avaliação do Potencial Tóxico e Genotóxico do Sulfato de Cobre em Planária: Utilidade deste Organismo para Biomonitoramento Ambiental**. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- GUECHEVA, T.; ERDTMANN, B.; BENFATO, M. S.; HENRIQUES, J. A. 2003. Stress protein response and catalase activity in freshwater planarian *Dugesia (Girardia) schubarti* exposed to copper. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 56(3):351-357.
- GUECHEVA, T.; HENRIQUES, J. A.; ERDTMANN, B. 2001. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian in vivo, studied with the single-cell gel test (comet assay). **Mutation Research**, 497(2):19-27.
- KLUMPP, A. 2001. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. In: MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARELLA, W. **Indicadores Ambientais: conceitos e aplicações**. São Paulo: EDUC/COMPED/INEP. 77- 94.
- LIMA, J. S. 2001. Processos biológicos e o biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos. In: MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARELLA, W. **Indicadores Ambientais: conceitos e aplicações**. São Paulo: EDUC/COMPED/INEP.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, 12(3): 355-381.
- MASSARO, F. C. 2006. **Estudos ecotoxicológicos com Hydra viridissima (Cnidaria: Hydrozoa)**. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- MUÑOZ, S. I. S. 2002. **Impacto ambiental na área do aterro sanitário e incinerador de resíduos sólidos de Ribeirão Preto, SP: avaliação dos níveis de metais pesados**. Tese (Doutorado em Enfermagem em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- PRÁ, D.; LAU, A. H.; KNAKIEVICZ, T.; CARNEIRO, F. R.; ERDTMANN, B. 2005. Environmental genotoxicity assessment of an urban stream using freshwater planarians. **Mutation Research**, 585(2):79-85.
- REDDIEN, P. W.; ALVARADO, A. S. 2004. Fundamentals of planarian regeneration. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 20:725-757.
- SAFADI, R. S. 1993. **Emprego de planárias de água doce Girardia tigrina (Girard, 1850) (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola) na avaliação de toxicidade de compostos metálicos. Proposta metodológica**. 208 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, A.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. 2012. Poluição Aquática. Org. ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Meio Ambiente e Sustentabilidade**. Porto Alegre: Bookman.

SILVA, C. S.; PEDROZO, M. F. M. 2001. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: CRA - Centro de Recursos Ambientais.

WU, J. P.; CHEN, H. C.; LI, M. H. 2012. Bioaccumulation and toxicodynamics of cadmium to freshwater planarian and the protective effect of N-Acetylcysteine. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 63(2):220-229.

ZHANG, X.; ZHAO, B.; PANG, Q.; YI, H.; XUE, M.; ZHANG, B. 2010. Toxicity and behavioral effects of cadmium in planarian (*Dugesia japonica* Ichikawa et Kawakatsu). **Fresenius Environmental Bulletin**, 19(12):2895-2900

Recebido em 9 de abril de 2014. Aprovado em 12 de setembro de 2014.