

ENSAIO PRELIMINAR UTILIZANDO CULTURAS DE *DAPHNIA SIMILIS*, PARA A DETERMINAÇÃO DA CONSTANTE DE REPRODUÇÃO, SEGUNDO A EQUAÇÃO DE MALTHUS

Roberta Vendramini do Nascimento*, Laís Donini Abujamara*,
Laura Fernandes de Barros Marangoni*, Aldo Ramos Santos**,
Fernando Sanzi Cortez**, Augusto César**

* Acadêmicas da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Santa Cecília
(UNISANTA), ** Professores orientadores

RESUMO. O gênero *Daphnia* é o grupo mais antigo utilizado em testes de toxicidade. Para uma boa reprodução é necessário o fornecimento de alimentação adequada, uma vez que diferentes condições de cultivo podem influenciar na produtividade e sensibilidade de *Daphnia similis*. As equações diferenciais podem ser modelos de situações reais, sendo uma ferramenta crucial que visa dar informações sobre a taxa de variação da população em relação ao tempo, dentro de certos limites pré-estabelecidos. Este estudo tem como objetivo a determinação das condições ótimas de fertilidade de *D. similis*, utilizando a equação da variação populacional de Malthus adaptada para invertebrados, afim de calcular a constante de reprodução dos organismos. Foram realizadas quatro culturas, que receberam diferentes dietas, utilizando a alga *Pseudokirchneriella subcaptata* e combinações com ração fermentada para peixes. Os meios de cultivo utilizados foram água natural do Parque Estadual da Serra do Mar e água reconstituída. Durante o período de 33 dias, foi observado o número médio de neonatas produzidas por cultura. A partir desses dados, calculou-se a constante de reprodução (k) de cada cultivo. Os resultados obtidos nos cultivos que receberam a dieta com alga e ração apresentaram as maiores constantes de reprodução, enquanto as culturas que receberam somente alga tiveram suas taxas de fertilidade prejudicadas; demonstrando que a combinação de alga e ração na dieta dos organismos é a melhor opção para um bom desempenho reprodutivo dos organismos. Ambos os meios de cultivos se mostraram adequados para a manutenção das culturas em laboratório.

Palavras-chave. *D. similis*; Equação de Malthus; Constante de Reprodução.

Introdução

As equações diferenciais podem ser modelos de situações reais, relacionando funções (relações entre variáveis) e suas derivadas. Para isso, é necessário encontrar uma função que satisfaça a equação sob determinadas condições (1). Historicamente, o primeiro e talvez mais importante ramo da

ecologia matemática é a investigação da dinâmica populacional, ou seja, como populações crescem e decrescem (2). Equações diferenciais de primeira ordem tem sido uma ferramenta crucial neste estudo, que visa dar informações sobre a taxa de variação de população em relação ao tempo, dentro de certos limites pré-estabelecidos (1). O modelo de crescimento exponencial de Malthus estabelece que a taxa de variação da população em relação ao tempo é proporcional à população presente; podendo ser realístico para crescimento de algumas populações durante um intervalo de tempo relativamente curto. Esta teoria partiu da observação do comportamento demográfico da população humana em uma região limitada (1). No entanto, muitos estudos têm sido desenvolvidos com base na teoria de Malthus, visando avaliar a dinâmica populacional de diferentes espécies. O gênero *Daphnia* é o grupo mais antigo utilizado em testes de toxicidade. Dentre esse grupo, a espécie *Daphnia similis* teve sua biologia amplamente estudada e vem sendo utilizada para testes toxicológicos (3). São microcrustáceos de água doce, bastante sensíveis a poluentes e facilmente cultivados em laboratório (4). A reprodução é partenogenética, dando origem a populações constituídas inteiramente por fêmeas, até que ocorra um estresse ambiental, como superpopulação, falta de alimento ou mudanças de temperatura (4). Sob essas condições podem surgir machos na cultura, dando origem a efípios, que são altamente resistentes a condições desfavoráveis. Para obter uma boa reprodução das culturas é necessário o fornecimento de alimentação adequada, uma vez que diferentes condições de cultivo podem influenciar na produtividade e sensibilidade dos organismos. O uso de várias fontes de alimentos e diversos meios de cultura influenciam a variabilidade interlaboratorial de resultados dos ensaios de toxicidade (5). Tendo em vista a otimização das culturas do laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília, o presente estudo tem como objetivo a realização de ensaios em laboratório para determinar, através de diferentes meios de cultivo e dieta, as condições ótimas de fertilidade de *D. similis*, considerando a extrema importância destes organismos na realização de ensaios toxicológicos. A teoria da variação populacional de Malthus foi adaptada para populações de invertebrados, numa tentativa de acompanhar a constante de reprodução das culturas ao longo do tempo.

Materiais e Métodos

Os indivíduos da espécie *D. similis* utilizados neste experimento foram obtidos a partir de cultivos mantidos no laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília acreditado pelo ISO 17025. A manutenção e o acompanhamento dos parâmetros físico-químicos desses cultivos foram realizados conforme ABNT 12713 (6). Os organismos foram mantidos em cristalizadores com 1,6 litros de água contendo 40 indivíduos cada. Foram utilizadas águas de fonte natural (Parque Estadual da Serra do Mar, SP) e reconstituída, contemplando as condições estabelecidas pela norma. Todos os cultivos foram alimentados com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e ração fermentada para peixes. Para a avaliação da influência do tipo de dieta e meio de cultivo sobre a reprodução de *D. similis*; foram realizados cultivos em paralelo que receberam tratamentos diferentes, identificados como: cultivo A (água natural com ração), cultivo B (água natural sem ração), cultivo C (água sintética com ração) e cultivo D (água sintética sem ração). A manutenção das culturas foi realizada três vezes por semana, sendo que o meio de cultivo foi trocado uma vez por semana e filtrado nas demais. A cada manutenção as neonatas foram contadas e depois descartadas. A fertilidade foi estimada a partir da equação de Malthus adaptada para invertebrados, conforme a Equação 1:

Equação 1:
$$\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = \int_{t_0}^t k \cdot dt$$

Rearranjando a Equação 1, obtém-se a Equação 2:

Equação 2:
$$kn = \frac{\ln P_n - \ln P_0}{t}$$

Sendo que,
 kn= constante da reprodução; Pn= população final; P0n= população inicial; t= tempo

Resultados

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos ao longo de 33 dias, observando-se a taxa de fertilidade conforme as variáveis estabelecidas (dieta e meio de cultivo). Pode-se observar que houve uma diferença na constante de reprodução das culturas, sendo que as maiores constantes foram obtidas nos cultivos A e C, que receberam a dieta de alga e ração, enquanto B e C apresentaram os menores valores.

Tabela 1

Tempo (dias)	A k (dias ⁻¹)	B k (dias ⁻¹)	C k (dias ⁻¹)	D k (dias ⁻¹)
7	0,28	0,21	0,27	0,18
3*	1,01	0,62	1,01	0,52
2	1,21	0,54	1,36	0,41
2	0,48	0,85	0,76	0,41
3*	0,96	0,68	0,94	0,77
2	1,61	1,13	1,59	1,07
2	0,82	0,71	1,06	0,68
3*	1,10	0,92	1,13	0,80
2	1,29	0,91	1,31	0,82
2	0,70	0,81	0,82	0,81
3*	0,91	0,85	0,89	0,64
2	1,68	1,50	1,45	1,07
Média	1,04	1,00		0,81
	0,68			

*troca de água

Discussão

Segundo Colle & Rossi (1), a utilização do método de equações diferenciais para cálculo da taxa de variação da população relacionada com o tempo pode ser muito prática. Como pode ser observado na Tabela 1, obtida através da equação de Malthus adaptada para invertebrados, houve diferença na taxa de fertilidade entre as culturas e os organismos começaram a se reproduzir a partir do sétimo dia. A Tabela 1 também mostra que não houve decaimento da constante de reprodução depois que os organismos completaram 25 dias (tempo determinado pela ABNT 12713 como idade de descarte das culturas), indicando que as culturas continuam viáveis em relação à reprodução após esse período. Segundo ABNT 12713 (6), a troca de água deve ser realizada no mínimo uma vez por semana. A taxa de natalidade aumentou em aproximadamente 90% das vezes em que a troca de água foi feita, passando a diminuir a partir do quinto dia em todas as culturas; sugerindo que a troca de água duas vezes por semana é mais apropriada para manter-se uma taxa de reprodução satisfatória. *D. similis*, quando alimentadas com ração e alga, obtiveram as melhores respostas quanto à fertilidade em ambos os meios de cultivo. As culturas alimentadas apenas com *P. subcaptata* tiveram seu desempenho reprodutivo prejudicado em comparação com as culturas que receberam ração. É comum observar indivíduos adultos não reprodutivos sob uma dieta insuficiente (3). As culturas A e C apresentaram taxas de natalidade muito próximas. Tendo em vista que ambas receberam a mesma dieta, pode-se afirmar que o meio de cultivo não exerceu influência significativa nos organismos. Analisando os cultivos B e D, é possível observar que a ausência de ração na dieta influi diretamente na fertilidade dos organismos, prejudicando a taxa de natalidade. Novamente, pode-se constatar que os meios de cultivo utilizados no experimento não interferiram no aspecto reprodutivo das culturas. Os resultados obtidos foram compatíveis aos apresentados por (3), que afirma que a maior taxa de reprodução de seu experimento ocorreu nos cultivos que receberam a dieta com combinação de alga e ração. O uso de *P. subcaptata* como única fonte de alimento para dafinídeos em cultivos de laboratório pode não ser adequado, uma vez que por estar sujeita a uma rápida sedimentação suas células podem ficar indisponíveis para os organismos na coluna d'água (3). Segundo Beatrice (5), as dietas e meios de cultivo responsáveis pelo desempenho reprodutivo insatisfatório dos organismos foram também responsáveis por maior sensibilidade ao Dicromato de Potássio. Foi observado que o estado nutricional de *Daphnia sp* influenciou na sensibilidade dos organismos a substâncias químicas, especialmente no teste crônico onde o crescimento e a reprodução foram avaliados (3).

Conclusão

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir que as culturas que receberam uma alimentação composta por alga e ração apresentaram uma constante de crescimento maior do que as alimentadas somente com alga; demonstrando que, para se obter um melhor desempenho reprodutivo, a combinação desses componentes é a mais recomendada. Os valores da constante de reprodução (k) obtidos através da equação de Malthus demonstraram que, a troca de água duas vezes por semana é ideal para garantir uma reprodutibilidade constante e que a idade de 33 dias não interferiu na viabilidade reprodutiva das culturas, sugerindo a discussão do prazo de 25 dias estabelecido pela ABNT. Os meios de cultivo utilizados no experimento se mostraram adequados para as culturas de *D. similis*, e não se pôde observar relevância na variação dos mesmos para os organismos. Tendo em vista que esse é um ensaio preliminar, há uma necessidade de se utilizar mais réplicas, a fim de que os dados possam ser mais

preciosos e confiáveis. Sugere-se também que em trabalhos futuros seja abordada a sensibilidade dos organismos, a qual pode ser influenciada pela quantidade e qualidade de alimentação, e que a idade dos cultivos seja prolongada até que se identifique o momento em que a constante reprodutiva decai.

Referências Bibliográficas

COLLE, C. L & ROSSI, F. L, 2005. Aplicação de Equações Diferenciais na Teoria de Malthus. UCS, Caxias do Sul.

NUNES, R. R., 2006. Dinâmica de Populações: Um Breve Histórico. UFG, Minas Gerais.

BEATRICI, A. C., 2001. Avaliação da fertilidade de *Daphnia similis* (CRUSTACEA, CLADOCERA) submetida a três diferentes dietas. Dissertação de Bacharelado, UFRGS, Porto Alegre/RS.

ZAGGATO, P. A. & BERTOLETTI, E. , 2006. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações, Ed. Rima, São Carlos/SP, pg. 167-168.

BEATRICI, A. C., ARENZON, A., COIMBRA, N. J. & RAYA-RODRIGUEZ M. T., 2006. Fertilidade e Sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* Submetidas a Diferentes Cultivos. JBSE, Volume 1, nº 2, pg. 123-126.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 12713, 2004. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea).