

Inibição da atividade da quitobiase do copépode *Acartia tonsa*

Anderson Abel de S. Machado¹; Tatiana Ramos Ávila²; Adalto Bianchini³

¹Acadêmico do Curso de Oceanologia - FURG; ²Doutoranda em Oceanografia Biológica - FURG; ³Instituto de Ciências Biológicas-FURG.

Introdução

A quitina é um polissacarídeo que compõe o exoesqueleto dos artrópodes e enzimas que a degradam são produzidas por insetos e crustáceos e utilizadas no processo de muda durante o crescimento (Chang, 1993). A quitobiase é uma destas enzimas (Richards *et al.*, 2008) e sua concentração nos organismos e meio ambiente aquático pode ser então utilizada para estimar o tempo de desenvolvimento e/ou a produção secundária (Sastri & Dower, 2006). Além disso, pode ser considerada como um potencial biomarcador de poluição em sistemas aquáticos (Zou *et al.*, 1999; Richards *et al.*, 2008). Porém, para estas aplicações, é necessário conhecer como as propriedades cinéticas da enzima de espécies de importância ecológica ou econômica, como os crustáceos zooplancônicos, são influenciadas pelos poluentes. Estudos com efeitos de poluentes persistentes como metais, que são bioacumulados e biomagnificados, são desconhecidos. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar o efeito de metais sobre a cinética da atividade da quitobiase no copépode *Acartia tonsa*.

Metodologia

Exemplares de *A. tonsa* foram coletados no estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande, RS), com auxílio de redes cilindro-cônicas (malha 200 µm) e mantidos em laboratório a 20°C, fotoperíodo 12h C:12h E, sendo alimentados com as microalgas *Thalassiosira weissfloggi* e *Isocrysis galbana*, cultivadas em laboratório. Para extração da enzima, os copépodes foram macerados em água do mar artificial e centrifugados. O sobrenadante foi filtrado (0,2 µm) e utilizado nos ensaios. O substrato MUFNAG foi dissolvido em DMSO e exposto à quitobiase presente no sobrenadante da amostra. O produto da atividade enzimática é fluorescente (MUF), tendo sido medido por espectrofluorimetria, sendo para tal, realizadas curvas de calibração nas condições de teste. Testou-se um grupo controle (livre de metal) e os efeitos da Ag e do Cd (até 1 µM), do Al, Cu, Pb e Zn (até 10 µM) e do Fe (até 100 µM). Os resultados foram expressos em percentagem de fluorescência em relação ao grupo controle (100%) e os dados foram submetidos à análise de variância seguida do teste *a posteriori* de Kruskal-Wallis ($\alpha=0.05$).

Resultados e Discussão

Concentrações acima de 0,001 µM de Ag, 1 µM de Fe ou Zn e 0,1 µM de Cu, inibem significativamente a atividade da quitobiase (Fig. 1). Durante a calibração foi constatado que o Cd e Pb *per se* geram fluorescência, a qual deve ser atribuída à interação do metal com o substrato (MUFNAG). Para o Al, não foi observada interferência no método (Fig. 2).

Atividade da Quitobiase e Metais

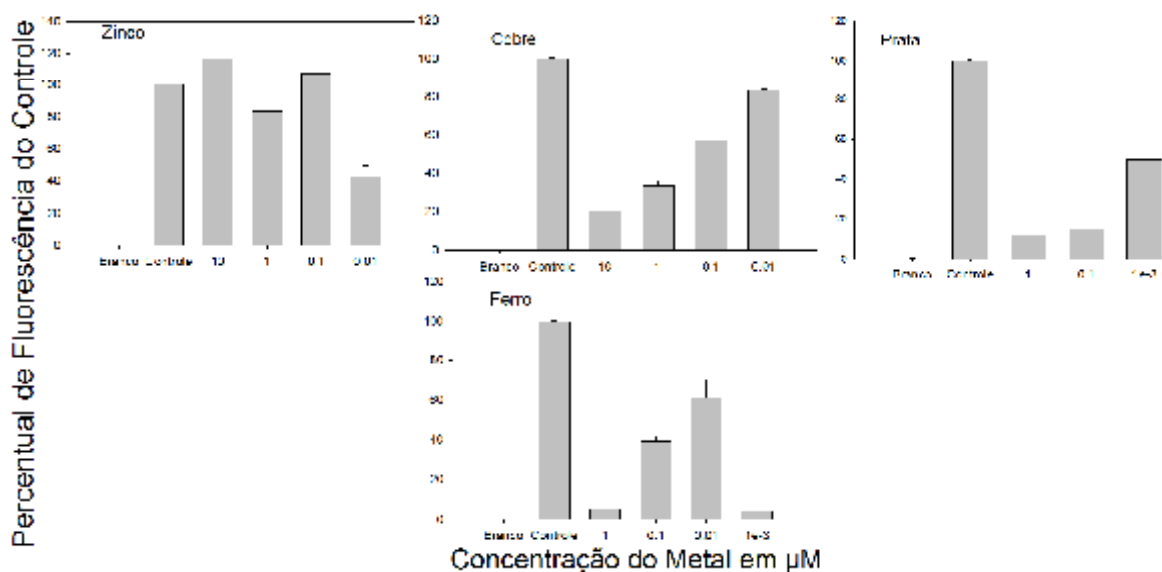


Figura 1. Efeitos do zinco, cobre, prata e ferro na atividade *in vitro* da quitobiase do copépode *Acartia tonsa*.

Estes resultados sugerem que a quitobiase de *A. tonsa* pode ser inibida *in vivo* em ambientes poluídos por metais. Esta constatação possui implicações ecológicas, tais como: distúrbios no crescimento, aumentando a idade de primeira maturação, maiores taxas de mortalidade e maior custo energético para o crescimento. Estes efeitos implicam em uma redução da produtividade secundária local. Por sua vez, desequilíbrios no crescimento causam rearranjos na trama trófica, já que durante as distintas fases do crescimento, os copépodes predam e são predados por indivíduos de diferentes espécies.

Atividade da Quitobiase e Metais

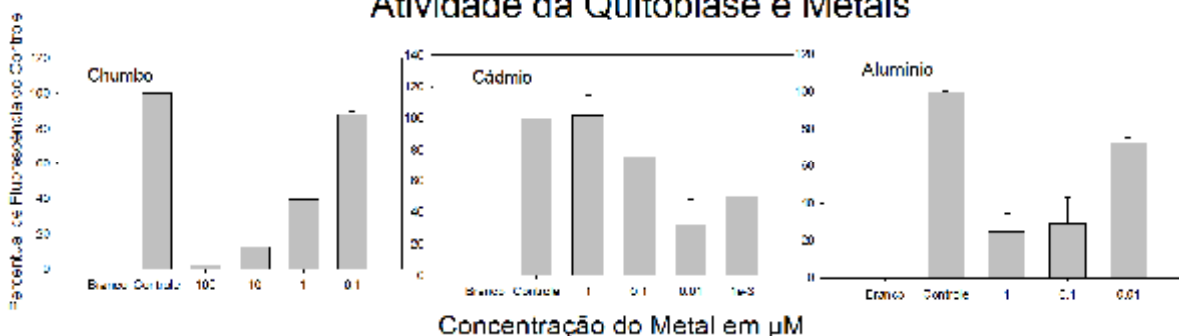


Figura 2. Efeitos do chumbo, cádmio e alumínio na atividade *in vitro* da quitobiase do copépode *Acartia tonsa*.

Conclusões

A metodologia utilizada para estimar a produção secundária a partir da atividade da quitobiase deve ser calibrada para ambientes poluídos por metais, já que estes elementos são capazes de inibir a atividade enzimática. Os resultados

apresentados também sugerem que a inibição enzimática observada pode ser uma potencial ferramenta a ser aplicada como biomarcador de poluição por metais em ambientes aquáticos.

Agradecimentos

Ao CNPq pela Bolsa de Iniciação Científica. Ao CNPq, International Copper Association (ICA, EUA), CAPES e FAPERGS pelo financiamento ao projeto.

Referências

CHANG, E.S. 1993. Comparative Endocrinology of molting and reproduction: insects and crustaceans. *Annu Rev Entomol* 38: 161-80.

RICHARDS, S.M. *et al.*, 2008. Zooplankton chitobiase activity as an endpoint of pharmaceutical effect. *Arch Environ Contam Toxicol*. 54: 637-644.

ZOU, E. *et al.*, 1999. Effects of estrogenic agents on chitobiase activity in the epidermis and hepatopancreas of the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Ecotox Environ Saf* 42: 185-190.

SASTRI, A.R.; DOWER, J.F. 2006. Field validation of an instantaneous estimate of in situ development and growth for marine copepod communities. *Can J Fish Aquat Sci* 63: 2639-2647.