

CULTIVO DO MICROCRUSTÁCEO *DAPHNIA MAGNA*: DESAFIOS E EMPREGABILIDADE PARA ESTUDOS AMBIENTAIS

Bruna Ester Grumicker Pereira

Universidade Federal da Fronteira Sul

brunaestergp@hotmail.com

Eixo 03: Engenharias

RESUMO

A *Daphnia magna* é um microcrustáceo de água doce frequentemente utilizado em ensaios ambientais para determinação de toxicidade especialmente em ambientes aquáticos, isso porque, é um microcrustáceo de água doce, com alta capacidade reprodutiva e de fácil cultivo. A utilização de microcrustáceos é compreendida dentro da ecotoxicologia como forma de demonstrar os efeitos da contaminação ambiental em vários níveis tróficos. O objetivo do presente relato é demonstrar a metodologia utilizada para o cultivo do microcrustáceo *Daphnia magna* para fins de análises ambientais. Para tanto, utilizou-se a norma técnica ABNT NBR 12.713/2016 como norteadora tanto do cultivo como das análises posteriormente realizadas, tendo como resultado um cultivo saudável, o que infere-se através de teste de sensibilidade com substância de referência, onde foi possível a realização de teste de toxicidade aguda em amostras de água de abastecimento público.

Palavras-chave: *Daphnia magna*. Ecotoxicologia. ABNT NBR 12.713/2016.

INTRODUÇÃO

Com um quadro de contaminação ambiental evidente e se agravando a cada dia, existe uma preocupação com o aumento dos casos de poluição no ambiente, bem como com os reflexos desse fato para sua qualidade. Para identificar o nível de poluição no ambiente, se utilizam os conceitos de toxicologia, que consistem no estudo dos efeitos deletérios causados por determinadas substâncias em organismos vivos (BAIRD; CANN, 2011).

A necessidade de quantificar os efeitos da poluição nos organismos vivos gerou a integração da ecologia com a toxicologia (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013) de forma que, de acordo com Dörr et al. (2014) essa interação ficou denominada ecotoxicologia e abrange a caracterização, a compreensão e o prognóstico dos efeitos deletérios de substâncias

químicas de origem antropogênica no ambiente, bem como a avaliação de medidas necessárias para prever, conter ou tratar os danos causados.

Dentre os diversos ecossistemas, o ecossistema aquático é um dos que acaba se constituindo em refúgio temporário ou constante de uma enorme variedade e quantidade de contaminantes, sejam estes lançados no ar, sobre o solo ou diretamente nos corpos d'água. Assim, com intuito de obter conhecimentos sobre os efeitos que os agentes químicos causam para a biota aquática, são utilizados testes de toxicidade com organismos de água doce ou salgada, em condições laboratoriais ou de campo. Estes testes possibilitam estabelecer os limites permissíveis para várias substâncias químicas, e também, servem para avaliar o impacto que a mistura de contaminantes gera sobre os organismos aquáticos dos corpos hídricos receptores (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Os testes de toxicidade se baseiam na observação do efeito potencial direto dos contaminantes nos componentes individuais do ecossistema, de maneira controlada e reprodutível. Notoriamente utilizam uma grande variedade de espécies, como por exemplo: organismos aquáticos (microcrustáceos, invertebrados, peixes e girinos), organismos terrestres (abelhas, minhocas), dentre outros. As espécies são selecionadas com base na facilidade de cultivo bem como levando em conta sua relevância ecológica (DI GIULIO; NEWMAN, 2012). Dentre os objetivos de aplicação do teste de toxicidade, um dos principais consiste em munir-se de dados científicos que possam ser aplicados para avaliação do risco de substâncias químicas ao ecossistema e à dinâmica populacional (DÖRR et al., 2014).

Neste sentido, a *Daphnia magna* merece destaque nos estudos acerca da toxicidade em água visto que são organismos aquáticos cujo habitat natural é semelhante às condições naturais encontradas na água, além do que, o breve tempo de exposição e os pequenos volumes de amostras utilizadas são aspectos importantes na utilização deste microcrustáceo (ABNT, 2016).

EM QUE CONSISTE A PRÁTICA RELATADA

A prática consiste no cultivo do microcrustáceo *Daphnia magna* que se deu em função da necessidade de averiguar a toxicidade aguda da água de abastecimento público de uma comunidade rural que havia sido previamente determinada com multirresíduos de agrotóxicos.

Além do cultivo da *Daphnia magna*, de forma adjacente, cultivou-se também a alga *Desmodesmus subspicatus* que foi utilizada na alimentação dos microcrustáceos para que não houvesse o risco de contaminação do cultivo por meio alimentar.

CONTEXTO EM QUE OCORRE A AÇÃO

Essa pesquisa foi desenvolvida como parte do trabalho de conclusão do curso de bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul no *campus* de Cerro Largo/RS durante o ano de 2019.

PARTICIPANTES/INTEGRANTES DA AÇÃO RELATADA

O desenvolvimento da pesquisa ocorreu nas dependências do Laboratório de Águas e Ecotoxicologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo/RS por um grupo de pesquisa que realizou o monitoramento da água de abastecimento de algumas comunidades rurais e também de alguns municípios do norte do estado do Rio Grande do Sul, no qual, a autora estava inserida e prestava colaboração voluntária.

METODOLOGIA

O cultivo do microcrustáceo ocorreu nas dependências dos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo e começou com um lote de *Daphnias magna* proveniente do laboratório de toxicologia (Labtox) da Universidade Federal de Santa Catarina, as quais foram gentilmente doadas.

As *Daphnias magna* foram cultivadas em béqueres de vidro devidamente higienizados com álcool 70%, água da torneira e água destilada, não ultrapassando 25 organismos por litro de meio de cultivo. O meio de cultivo sintético (M4) foi produzido em laboratório seguindo as recomendações técnicas da ABNT NBR N° 12.713/2016.

A manutenção do cultivo foi realizada três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira) e consistia na troca total do meio de cultivo por um novo, neste momento disponibilizava-se alimento nos béqueres na proporção de 1,5 mL de suspensão algácea por litro de meio de cultivo. A verificação do pH e da dureza do meio M4 ocorreram de forma constantes, visto que, a faixa de pH e dureza indicadas de acordo com a ABNT NBR N° 12.713/2016, é de 7,6 a 8,0 e 175 a 225 mg CaCO₃ L⁻¹ respectivamente. As *Daphnias magna* foram mantidas em uma câmara de germinação com temperatura controlada de 20°C ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz por dia. Na Figura 1 podem ser observados exemplares de *Daphnia magna* em diferentes faixas etárias.

Figura 1 - *Daphnia magna* em diferentes estágios de vida.¹



Fonte: Autora, 2019.

Todos os procedimentos ambientalmente adequados de cultura da *Daphnia magna* são validados através do teste de sensibilidade que indica se o cultivo está saudável refletindo assim na confiabilidade dos resultados do teste de toxicidade (KNIE; LOPES, 2004). Para testar a sensibilidade das *Daphnia magna*, utilizou-se uma solução de dicromato de potássio, a fim de verificar a real faixa de concentração que gerava toxicidade. Para isso, prepararam-se diluições de 0,55; 0,70; 0,85; 1,00; 1,15; 1,30; 1,45; 1,60; 1,75 mg L⁻¹ em balões volumétricos de 50 mL. Sequencialmente, 10 organismos neonatos foram expostos em béqueres de 50 mL com 25 mL de solução, em duplicata, totalizando 20 organismos por concentração.

O controle do teste de sensibilidade foi realizado com água de diluição nos mesmos moldes do teste com concentrações, em duplicata. O preparo da água de diluição foi realizado conforme recomendação da ABNT NBR N° 12.713/2016. As diluições foram preparadas a partir de uma solução mãe com concentração de 10 mg L⁻¹. Após 24 horas de exposição em ambiente com temperatura controlada de 20°C ± 1°C e luminosidade natural, foi analisado o

¹ Nota: (A) *Daphnia magna* neonato. (B) *Daphnia magna* adulta em fase gestacional. (C) *Daphnia magna* adulta ao final da fase gestacional. (D) *Daphnia magna* adulta ao final da fase gestacional despreendendo neonatos.

número de organismos em letalidade ou que não apresentaram mobilidade e comparado ao resultado recomendado pela norma técnica ABNT NBR N° 12.713/2016. Em relação ao teste de sensibilidade utilizando o dicromato de potássio, de acordo com Knie e Lopes (2004), os valores limites de sensibilidade para *Daphnia magna* devem estar em uma faixa de 0,6 e 1,7 mg L⁻¹ de imobilidade em um teste de 24 horas onde, nesta faixa de concentração espera-se uma mortalidade igual ou inferior a 10% em relação ao número de organismos expostos para considerar o lote saudável. O cultivo da alga *Desmodesmus subspicatus* ocorreu conforme recomendações da ABNT NBR 12.713/2016, de forma que as algas serviram como alimento para os microcrustáceos.

RESULTADOS ALCANÇADOS

Com o cultivo da *Daphnia magna* foi possível a aplicabilidade dos microcrustáceos nos testes de toxicidade aguda em água de abastecimento público e com isso inferir a referida toxicidade da amostra. Da mesma forma que foi possível observar o ciclo de vida da *Daphnia magna* e também como as condições ambientais influenciam no bom desenvolvimento do cultivo.

O QUE SE APRENDEU COM A EXPERIÊNCIA

O desenvolvimento da pesquisa ocorreu desde março de 2019 até dezembro do mesmo ano. Neste sentido, estendeu-se por todas as estações do referido ano com as suas mais diversas amplitudes térmicas. O controle das condições ambientais é muito relevante no cultivo de microcrustáceos sendo imprescindível o controle da temperatura, do fotoperíodo e da alimentação dos lotes de cultivo.

Neste sentido, os lotes de cultivo eram mantidos em câmara de germinação com temperatura e fotoperíodos controlados, em sala previamente climatizada antes da manipulação dos indivíduos de *Daphnia magna* e mesmo assim, observou-se intercorrências da temperatura no cultivo de forma que, no auge inverno, com a temperatura ambiente variando entre 10°C e 15°C o cultivo apresentou diminuição reprodutiva sendo possível apenas realizar as análises toxicológicas mais próximo ao verão onde a temperatura ambiente média ficava na faixa de 20°C e 25°C que é próximo à faixa de temperatura ótima para o cultivo dos microcrustáceos. Dessa forma, observou-se que o bom desenvolvimento do cultivo tem relação direta com as ótimas condições ambientais.

REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda: Método de ensaio com Daphnia spp** (Crustacea, Cladocera). 4. ed. Rio de Janeiro, 2016.

BAIRD, Colin; CANN, Michael. **Química Ambiental**. Tradução de Marco Tadeu Grassi et al. 4. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

DI GIULIO, Richard T.; NEWMAN, Michael C. Ecotoxicologia. In: KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em toxicologia: de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. cap. 29, p. 391 – 399.

DÖRR, Fabiane et al. Toxicologia ambiental. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. (Ed.). **Fundamentos de toxicologia ambiental**. 4. ed. São Paulo: Atheneu editora, 2014. cap. 2, p. 135 – 223.

KNIE, Joachim L. W.; LOPES, Ester W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA / GTZ, 2004.

SISINNO, Cristina Lucia Silveira; OLIVEIRA-FILHO, Eduardo Cyrino. **Princípios de toxicologia ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.