

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DE METAIS POLUENTES AMBIENTAIS EM *Daphnia magna*

Gabriela Zimmermann Prado RODRIGUES¹, Ana Leticia Hilario GARCIA², Mariana FINKLER¹, Günther GEHLEN¹

¹ Universidade Feevale; ² Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).
gabizpr@gmail.com; analeticiagarcia@terra.com.br; gunhterg@feevale.br

Resumo

Os metais pesados estão entre os principais poluentes aquáticos, e acabam prejudicando a biota de uma maneira geral. Manganês, alumínio, ferro e chumbo, por exemplo, estão entre os poluentes metálicos frequentemente relatados por autores nos mais variados corpos hídricos. Para elucidar o risco que estas substâncias causam para o ecossistema, testes ecotoxicológicos são cruciais. Portanto, objetivou-se no presente estudo avaliar a toxicidade aguda e crônica de diferentes metais em *Daphnia magna*. Através da concentração efetiva para 10% dos organismos, obtida pelo experimento agudo (96 horas), realizou-se a experimentação crônica (21 dias), que resultou em alterações no desempenho reprodutivo dos organismos expostos ao alumínio e manganês, além disso, organismos expostos ao alumínio e ao ferro apresentaram uma redução do comprimento corporal. Os resultados alertam para a toxicidade causada por metais, mesmo em concentrações relativamente baixas e de ocorrência ambiental, ressaltando a importância do monitoramento destas e outras substâncias nos corpos hídricos.

INTRODUÇÃO

A poluição hídrica derivada de ações antrópicas errôneas favorece a presença de metais e outros contaminantes na água (KASSIM et al., 2011). Depois de lançados, os metais podem depositar-se nos sedimentos ou ficarem livres na coluna d'água (SIMPSON e SPADARO, 2016), prejudicando a qualidade do solo e da água. Além disso, as tecnologias atuais para tratamento de água não são suficientes para a remoção destes compostos, causando preocupação também à saúde pública (RODRIGUES et al., 2018).

Sabendo que medir apenas as concentrações totais de metais em água ou sedimento são maneiras insuficientes para avaliar com precisão o impacto dos mesmos (de MIGUEL et al., 2005; WU et al., 2016), avaliar organismos de diferentes níveis tróficos pode ser o melhor caminho para o entendimento do risco biológico destas substâncias. A *Daphnia magna*, por exemplo, é um zooplâncton de água doce que desempenha papel fundamental na cadeia alimentar, transferindo biomassa e macronutrientes como os lipídeos, dos produtores primários para os níveis tróficos superiores (FERAIN et al., 2018).

Objetivou-se no presente estudo avaliar a toxicidade causada por manganês, alumínio, ferro e chumbo em *Daphnia magna*, por meio de exposições aguda e crônica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os metais investigados quanto à toxicidade aguda e crônica foram alumínio, chumbo, ferro e manganês, que possuem ocorrência ambiental mundial (DESHOMMES et al., 2016; MARSIDI et al., 2016). Os reagentes químicos utilizados para as exposições foram cloreto de Alumínio (LabSynth® P.A 100%), acetato de chumbo (LabSynth®), cloreto férrico (LabSynth® P.A) e cloreto de manganês (LabSynth®, pureza 98%).

Os organismos utilizados são originários de clones de *Daphnia magna* cultivados em laboratório. A água de cultivo utilizada é proveniente de osmose reversa e posteriormente reconstituída com sais, conforme recomendado pela NBR 12.713 (ABNT, 2016), com pH e dureza ajustados entre 7,0 a 8,0 e 175 a 225 mg L⁻¹ CaCO₃ respectivamente, e aeração prévia

de no mínimo 12 horas. Os clones utilizados como matrizes foram mantidos em lotes de até 25 adultos por litro, em recipiente de 1000 mL, com luminosidade difusa (fotoperíodo de 16 h de luz) e temperatura de 18°C a 22°C em incubadora DBO modificada. Como alimento foi utilizado a alga verde *Desmodesmus subspicatus* Chodat, 1942, fornecendo a quantia de aproximadamente 10^6 células mL⁻¹ por organismo adulto, a cada 48 horas. Para os ensaios de toxicidade aguda e crônica foram utilizados neonatos com idade entre 2 e 26 horas, obtidos de fêmeas com idade entre 10 dias e 60 dias.

Ensaio de toxicidade aguda e crônica

No ensaio agudo, neonatos de *Daphnia magna* foram expostos (n=20 por grupo, sendo 04 replicatas com 05 organismos em 50 mL) às diluições preparadas com diferentes concentrações dos metais a serem testados durante 48 horas. Durante este período os organismos foram mantidos em 18°C a 22° C, sem alimentação ou iluminação. Ao término da exposição foi observado o número de organismos imóveis, visando calcular a concentração efetiva para 10% dos organismos (CE₁₀), ou seja, concentração responsável pelo efeito agudo de 10% dos animais. Tal concentração foi utilizada como concentração máxima no experimento crônico, visando manter um número adequado de organismos ao longo dos 21 dias de exposição.

No ensaio crônico, a partir da CE₁₀ de cada metal, foram estabelecidas concentrações inferiores para a realização do ensaio crônico. Realizou-se a exposição de 10 neonatos, fêmeas, por concentração durante 21 dias, sendo que neste ensaio, cada neonato foi mantido isolado em Beckers de 10 mL. A renovação das diluições dos experimentos crônicos realizados ocorreu a cada 48 horas. Durante o experimento, cada indivíduo foi observado diariamente, sendo registrada a data da primeira eclosão e o número diário de neonatos gerados por fêmea. Ao término do experimento, foram capturadas, por meio de microscopia óptica (aumento de 40x) (Olympus IX73) imagens de cada fêmea, a fim de verificar o comprimento, com auxílio do software ImgeJ.

Análise de dados

A partir dos resultados obtidos após as leituras de mortalidade e imobilidade no ensaio agudo, a CE₁₀ foi calculada com auxílio do software ICPIN pelo método de interpolação linear. No ensaio crônico, os dados obtidos por meio do registro de neonatos gerados por fêmea e comprimento corporal, foram testados quanto à normalidade dos dados e posteriormente submetidos à testes paramétricos e não paramétricos quando pertinente, com auxílio do software GraphPad Prism 6.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ensaio de toxicidade aguda

Ao realizarmos o experimento agudo com o alumínio, as concentrações utilizadas não causaram nenhum tipo de letalidade ou imobilidade aos organismos durante as 48 horas do ensaio (realizado em duplicata), possibilitando a utilização das mesmas concentrações para o experimento crônico. Em contrapartida, os demais ensaios agudos nos permitiram estabelecer a CE₁₀ para manganês, ferro e chumbo, conforme pode ser observado na tabela 1.

Metal	Concentração utilizada (mg L ⁻¹)	Legislação (mg L ⁻¹)*	CE ₁₀
Experimento agudo			
Manganês	0,50 / 1,5 / 3,0 / 9,0 / 15,0	0,1	3,86
Alumínio	0,02 / 0,05 / 0,10 / 0,10 / 0,15 / 0,20	0,1	-

Ferro	0,05 / 0,15 / 0,30 / 0,50 / 0,8	0,3	0,27
Chumbo	0,01 / 0,08 / 0,10 / 0,15 / 0,20	0,01	0,053
Experimento Crônico			
Manganês	0,25 / 0,5 / 1,0 / 2,0 / 4,0	0,1	-
Alumínio	0,02 / 0,05 / 0,10 / 0,10 / 0,15 / 0,20	0,1	-
Ferro	0,01 / 0,03 / 0,065 / 0,13 / 0,27	0,3	-
Chumbo	0,01 / 0,02 / 0,03 / 0,04 / 0,05	0,01	-

Tabela 1: Concentrações utilizadas para cada metal em ambas as exposições (aguda e crônica) com seu respectivo valor previsto na legislação e CE₁₀ obtida por meio da exposição aguda.

* Resolução nº 357, refere-se à águas doces de classe I, estabelecida pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), em 2005.

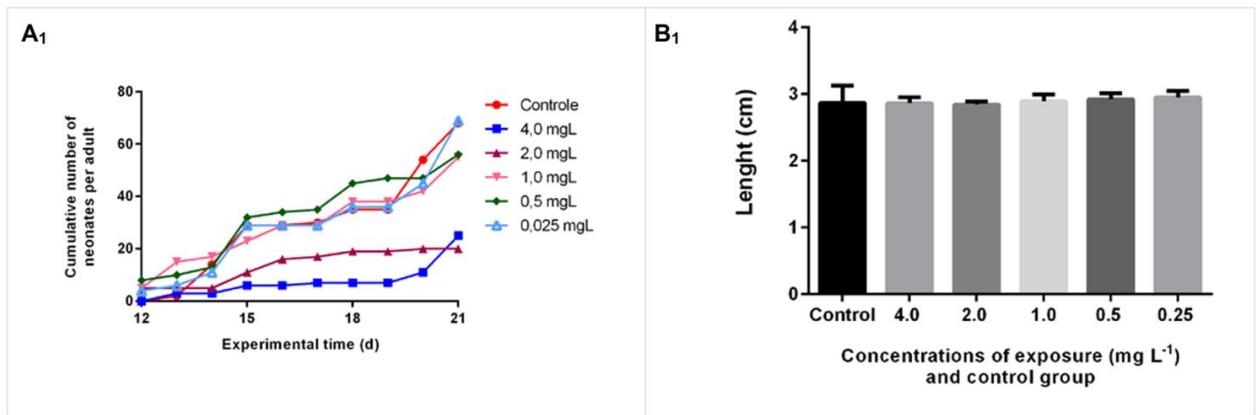
Ensaio de toxicidade crônica

A figura 1 (A₁ – A₄) detalha o número cumulativo de descendentes produzidos nas diferentes concentrações de cada experimento crônico. Os microcrustáceos expostos a 4,0 mg L⁻¹ de manganês e 0,05 mg L⁻¹ de alumínio apresentaram uma redução significativa no número cumulativo de neonatos gerados em relação ao grupo controle (p= 0,02 e p= 0,005 respectivamente). Organismos expostos ao ferro e chumbo não apresentaram alterações significativas em relação ao controle (p= 0,27 e p= 0,28). Durante a experimentação crônica com o alumínio, ocorreu a letalidade de 100% dos organismos expostos às mais elevadas concentrações após 72 horas (0,15 e 0,20 mg L⁻¹) e 06 dias (0,1 mg L⁻¹), restando assim, somente os organismos expostos a 0,05 e 0,025 mg L⁻¹. Em relação ao comprimento (Fig. 1: B₁ – B₄), observou-se que os organismos expostos a 0,05 mg L⁻¹ de alumínio e 0,27 mg L⁻¹ de ferro apresentaram uma redução significativa do comprimento corporal em relação aos organismos do grupo controle (p= 0,0002 e p= 0,0003 respectivamente).

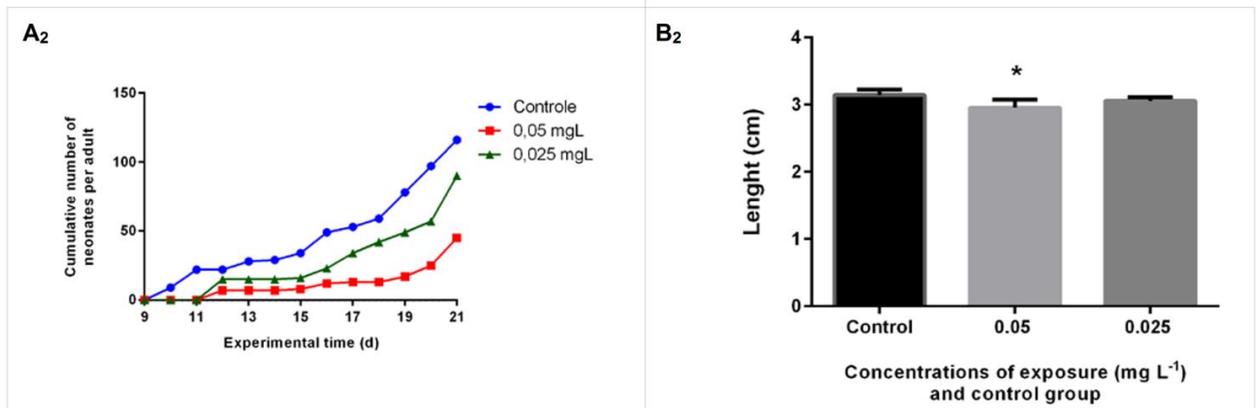
CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados alertam para a toxicidade causada por metais, mesmo em concentrações relativamente baixas e de ocorrência ambiental, ressaltando a importância do monitoramento destas e outras substâncias nos corpos hídricos. A toxicidade dos mesmos metais será testada também em *Danio rerio*, visando abranger diferentes níveis tróficos.

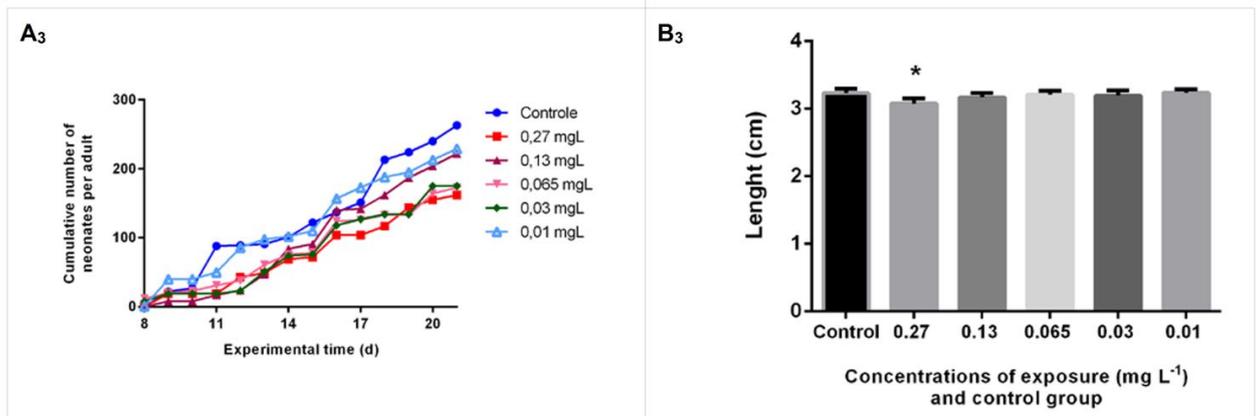
Mn



Al



Fe



Pb

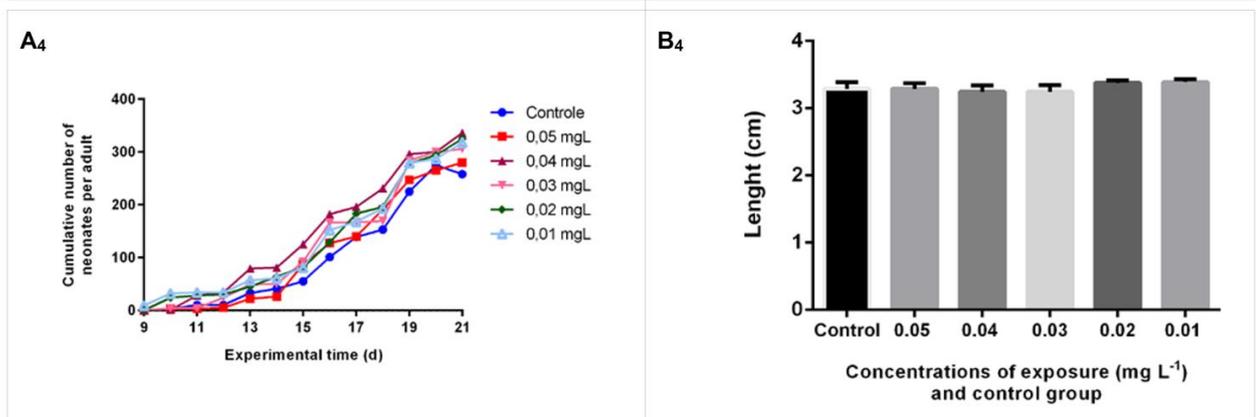


Figura 1A: Número cumulativo de neonatos gerados pelas fêmeas durante o experimento crônico de 21 dias. Figura 1B: Comprimento aferido ao término dos 21 dias de exposição aos diferentes metais (asteriscos indicam diferença significativa em relação ao controle).

AGRADECIMENTOS: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida à autora e à Universidade Feevale pela infraestrutura oferecida.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 357/2005. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.* Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459> Acesso em: 15/04/2019.

DE MIGUEL, E. et al. *Science of Total Environment*, v. 340, 2005.

DESHOMMES, E. et al. *Water Research*, v. 99, 2016.

FERAIN, A. et al. *Chemosphere*, v. 205, 2018.

KASSIM, A. et al. *Materials Science and Engineering*, v. 17, n. 1, 2011.

MARSIDI, N. et al. *Journal of Water Process Engineering*, v. 23, 2018.

NBR Nº 12.713/2016. *Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera).* Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/joaquimgoncalvesmachadoneto/nbr12713-2016-toxic-aguda-daphnia.pdf> Acesso em: 20/04/2019.

RODRIGUES, G. et al. *Olhar dos sistemas biológicos sobre as tecnologias disponíveis para tratamento de água e efluentes.* 2018.

SIMPSON, S.L et al. *Environmental, Science & Technology*, v. 50, n. 7, 2016.

WU, Q. et al. *Marine Pollution Bulletin*, v, 104, p. 153-161, 2016.