

EFEITOS TÓXICOS E INGESTÃO DO MICROPLÁSTICO POLIETILENO NO MICROCRUSTÁCEO *Daphnia magna* EM TESTE ECOTOXICOLÓGICO DE CURTA DURAÇÃO

CASTRO, G. B.; BERNEGOSSI, A. C.; CORBI, J. J.

Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). Departamento de Hidráulica e Saneamento. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento (PPGSHS). Av. Trabalhador São Carlense, 400 – Centro. CEP 13566-590 - São Paulo, Brasil.

E-mail: gleysonborges@usp.br

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, estudos tem revelado a poluição hídrica por microplásticos (polietileno) (partículas de origem primária ou secundária com tamanho inferior a 5mm) em águas doces. O polietileno é um dos polímeros mais produzidos no mundo e, ensaios laboratoriais e de campo, tem sugerido sua toxicidade para espécies de invertebrados e peixes (Eerkes-Medrano e Thompson, 2018). Neste cenário, ensaios de toxicidade têm sido executados e adaptados, com o objetivo de elucidar os efeitos de curto a longo prazo para a biota aquática, que poderiam não ser observados apenas por protocolos tradicionais, em face a heterogeneidade da constituição química destas micropartículas poliméricas em corpos hídricos (Wagner *et al* . 2014).

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo investigar os efeitos de toxicidade do microplástico polietileno na mobilidade e crescimento de *Daphnia magna* e verificar a possível ingestão das micropartículas em bioensaios de curta duração (96h) com e sem alimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo de *D. magna* foi realizado no Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos (LEAA, EESC-USP), em béqueres de 2 L que continham 40 dafnídeos mantidos em incubadora BOD, modelo SL-224, à 20 ± 2 °C e 16h luz/8h escuro. O meio de cultivo foi preparado conforme ABNT NBR 12.713 (ABNT, 2016), e a troca do meio realizada três vezes por semana. A cada troca, a espécie foi alimentada com 3×10^{-5} células.mL⁻¹ de *Raphidocelis subcapitata*, cultivada em meio oligo. Para observação da sensibilidade dos organismos, foram conduzidos testes com sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) como substância de referência ABNT NBR 12713 (ABNT, 2016).

O microplástico utilizado é do tipo polietileno em pó, de peso molecular ultra-alto, cor branca, tamanho informado entre 40-48 µm, densidade 0,94 g/mL, e foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich®. Uma amostra foi submetida ao microscópio óptico modelo Nikon ECLIPSE E200, acoplado a uma câmera modelo 3.0 Mega CMOS e a partir de fotografias e o uso do programa ImageJ foram observados o tamanho, forma e distribuição das micropartículas. As concentrações de microplásticos testadas foram de 20; 40; 80; 160 e 320 mg MP.L⁻¹. As massas de microplásticos (2; 4; 8; 16 e 32 mg) foram pesadas diretamente em uma balança analítica com resolução 0,00001g, alocadas em béqueres de 100 mL, que foram preenchidos com 100 mL de água reconstituída, preparada conforme ABNT NBR 12.713 (ABNT, 2016). Cada mistura (microplástico e água reconstituída) seguiu para um tratamento ultrassônico por 15 min para melhor dispersão dos microplásticos. Logo após, 10 dafnídeos (com menos de 24h de vida) foram transferidos do cultivo e liberadas abaixo da superfície da água de cada béquer. No ensaio com alimentação, a espécie recebeu 3×10^{-5} .mL⁻¹ células de *Raphidocelis subcapitata* e 1 mL.L⁻¹ de solução fermentada na incubação e após transcorridas 48h (renovação da solução-teste). O ensaio sem alimentação não recebeu estas suplementações, e assim, a solução-teste foi mantida do início ao fim do ensaio.

Os testes foram realizados em triplicata, havendo uma quarta réplica para retirada diária dos organismos para a análise da ingestão. Os testes tiveram duração total de 96 horas, e foram mantidos nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo do cultivo. No período de 24, 48, 72 e 96 h foi verificada a mobilidade dos organismos em cada réplica e a ingestão de microplásticos a partir da retirada de organismos da quarta réplica, que foram submetidos à análise microscópica. Após o encerramento dos ensaios, os organismos vivos foram fotografados e medidos com auxílio do software ImageJ, para obtenção do seu comprimento final (do topo da cabeça à base da espinha apical).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A observação dos microplásticos em microscópio confirmou seu tamanho micrométrico (40-48µm) e foi verificado que as partículas possuem distribuição e forma heterogênea. A utilização de microplásticos com formas irregulares aproximam as condições de exposição dos bioensaios às condições reais observadas no ambiente aquático, tendo em vista que micropartículas de polietileno estão submetidas a forças naturais gradativas de desgaste da sua superfície, sejam por processos bióticos e/ou abióticos (Lambert e Wagner, 2017). Quanto à mobilidade dos dafnídeos, não foi observada imobilidade em todas as concentrações testadas e controle durante as 96 horas de exposição com alimentação. No ensaio conduzido sem alimentação, observou-se que a concentração de 160 mg.MP.L⁻¹ provocou imobilidade em 3,3% dos organismos nas primeiras 24 h, e 10% a partir de 48 h, que se manteve até às 96 h finais.

O comprimento médio dos dafnídios expostos ao teste sem alimentação variou entre 1,16 mm para o controle (desvio-padrão 0,034) e 1,19 mm para as concentrações de 20 e 320 mg MP.L⁻¹ (desvios-padrão: 0,044 e 0,033, respectivamente). No teste com alimentação, o comprimento médio dos organismos variou entre 1,88 mm para a concentração de 320 mg MP.L⁻¹ (desvio-padrão: 0,247) e 1,94 mm para as concentrações de 40 e 160 mg MP.L⁻¹ (desvios-padrão: 0,219 e 0,242, respectivamente). Não foram observadas diferenças no comprimento de dafnídios entre as concentrações e controle (p-valor igual a 0,2582 no teste de Kruskal-Wallis) para o teste com alimentação. Todavia, no ensaio sem alimentação, a concentração de 20 mg MP.L⁻¹ se mostrou estatisticamente diferente do controle (p-valor igual a 0,018 no teste de Tukey).

A análise microscópica da ingestão diária de microplásticos por *D. magna* evidenciou que as micropartículas são ingeridas pela espécie logo nas primeiras 24h de incubação, seja no teste conduzido com ou sem alimentação. O preenchimento de microplásticos no tubo digestivo dos organismos aumentou conforme o acréscimo das concentrações-teste. Apesar da captura e armazenamento, não foram observadas alterações morfológicas ou deformidades em estruturas corporais como garras e antenas.

CONCLUSÃO

O microplástico não apresentou efeito de toxicidade na mobilidade dos organismos, porém, para o crescimento, foi observada diferenças no teste sem alimentação. Além disso, a ingestão do microplástico foi registrada nos dois cenários de exposição. O teste de curta duração prolongado para 96 h possibilitou observar a presença de efeitos tóxicos de microplásticos à *D. magna*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

EERKES-MEDRANO, D.; THOMPSON, R. Occurrence, Fate, and Effect of Microplastics in Freshwater Systems. **Microplastic Contamination in Aquatic Environments**, [s.l.], p. 95-132, 2018.

LAMBERT, S; WAGNER, M. Microplastics Are Contaminants of Emerging Concern in Freshwater Environments: An Overview. **The Handbook of Environmental Chemistry**, [s.l.], p.1-23, 20 jul. 2017.

WAGNER, M.; SCHERER, C.; ALVAREZ-MUÑOZ, D. Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. **Environmental Sciences Europe**, v. 26 (1). 2014.

AGÊNCIAS FINANCIADORAS: CAPES e CNPq.