ISSN:2594-6153

Avaliação das respostas preliminares de *Daphnia similis* após exposição prolongada a alimento contaminado com diferentes concentrações de microplásticos (MPs)

Yuuri Gabriel de Souza Santos, Paloma Kachel Gusso-Choueri

Universidade Santa Cecília (UNISANTA), Santos-SP, Brasil

Email: oalexyuuri@gmail.com

Resumo: Microplasticos (partículas plásticas < 5 mm de diâmetro) são praticamente ubíquos no ambiente aquático. O objetivo do presente estudo foi avaliar as respostas preliminares de *Daphnia similis* após a ingestão da alga *Raphidocelis subcapitata* contaminada com microplástico (5 mgL^{-1}, 50 mgL^{-1} e 500 mgL^{-1}) durante 21 dias. Os indivíduos do tratamento com 5 mgL^{-1} apresentaram as menores taxas de sobrevivência, mas produziram uma maior quantidade de neonatos por fêmea. As fêmeas tratamentos com 5 e 50 mgL^{-1} apresentaram um menor tamanho corporal em comparação com os demais tratamentos. Os resultados preliminares obtidos nesse estudo evidenciam a necessidade de novas pesquisas que visem a compreensão dos efeitos da exposição crônica a MPs em organismos de água doce.

Palavras-chave: Água doce; Cladóceros; Exposição crônica; Transferência trófica; Partículas plásticas.

Evaluation of the preliminary responses of *Daphnia similis* after prolonged exposure to contaminated food with different concentrations of microplastics (MPs)

Abstract: Microplastics (plastic particles < 5 mm in diameter) are ubiquitous in aquatic environments. This study aimed to evaluate the preliminary responses of *Daphnia similis* following the ingestion of *Raphidocelis subcapitata* algae contaminated with microplastics (5 mgL^{-1}, 50 mgL^{-1}, and 500 mgL^{-1}) over a 21-day period. Individuals exposed to the 5 $mg \cdot L^{-1}$ microplastic treatment exhibited lower survival rates but produced a higher number of neonates per female. Adults exposed to the 5 and 50 $mg \cdot L^{-1}$ treatments were smaller in size compared to those in the other treatments. These preliminary findings underscore the need for further research to better understand the chronic effects of microplastic exposure on freshwater organisms.

Key-words: Freshwater, Cladocerans, Prolonged Exposure, Trophic Transference; Plastic particles.

Introdução

Os microplásticos podem ser definidos como partículas plásticas menores que 5 mm de diâmetro [1], que apresentam fontes como tecidos sintéticos, produtos cosméticos, pneus, além de polímeros maiores que sofreram um processo de fragmentação [2]. São praticamente ubíquos no meio ambiente [3, 4], sendo amplamente encontrados em lagos, ambiente costeiro e oceano aberto [5, 6]. Apesar do maior foco de trabalhos no ambiente marinho, estudos recentes

mostram que os MPs também são comuns em sistemas de água doce [6], principalmente devido à proximidade com áreas densamente povoadas [7]. Ademais, os estudos voltados à contaminação por MPs em águas continentais têm se restringido à avaliação de efeitos agudos de toxicidade em organismos [8]

A ingestão de MPs por organismos aquáticos já foi relatada em diversos estudos [9, 10, 11] e os efeitos são adversos: perda de reserva energética, redução da captura de alimento, queda na fecundidade e na taxa de sobrevivência [12], além de imobilização, prejuízos na fotossíntese, obstrução de apêndices alimentares e bloqueio do canal alimentar [9, 10, 13]. A presença de aditivos químicos tóxicos na superfície dos MPs também pode prejudicar os organismos, gerando alterações gerando alterações endócrinas, neurotoxicidade e problemas reprodutivos e de desenvolvimento [9, 14, 15].

As *daphnias* (ordem Cladocera, gênero *Daphnia*) são organismos-teste bem descritos, sendo amplamente utilizados em estudos ecotoxicológicos de diversos contaminantes [11, 16]. Na água doce, os cladóceros são consumidores primários do fitoplâncton e são considerados fonte crucial de alimento para grandes consumidores [16]. Assim, os efeitos gerados por contaminantes podem se estender a outros níveis tróficos através deles, gradualmente se manifestando nos diferentes organismos e populações [13].

Objetivo

O objetivo do presente estudo é avaliar as respostas preliminares de *Daphnia similis* após a ingestão da alga *Raphidocelis subcapitata* contaminada com três concentrações de microplástico (5 mgL^{-1}, 50 mgL^{-1} e 500 mgL^{-1}).

Materiais e métodos

A metodologia aplicada para a realização dos ensaios foi baseada na NBR 12648 [17] e na NBR 12713 [18], sobre ensaios de toxicidade crônica com algas verdes e ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia*, respectivamente. Um pré-cultivo de *R. subcapitata* foi produzido e foi realizada um contagem inicial e final de células algáceas. A alga foi exposta a três concentrações de MPs (5 mgL^{-1}, 50 mgL^{-1} e 500 mgL^{-1}), durante 72h, sob condições controladas de temperatura, luminosidade e agitação. Ao final da exposição, foi feita a contagem do número de células de todos os recipientes. Os tratamentos foram levados a

centrífuga por 20 minutos e diluídos com até 100 mL de água reconstituída. Foi realizada uma contagem do número de células algáceas de cada alimento preparado.

Foram produzidos quatro cultivos de *D. similis* (n= 20 organismos) em recipientes com 750 mL de água reconstituída. Cada recipiente foi alimentado com um tipo de tratamento durante 21 dias para avaliar os seguintes parâmetros de vida: tamanho dos indivíduos (inicial e final), mortalidade e quantidade de neonatos gerados por fêmea de *D. similis*. Também foram produzidos cultivos com 1 indivíduo em tubos de ensaio com 10 mL de água reconstituída, para avaliação dos parâmetros individuais. Os cultivos foram mantidos em câmara com temperatura de 20±1°C e as trocas de água e alimentação ocorreram a cada 48h.

Resultados

A maior taxa de mortalidade pôde ser observada nos organismos expostos ao alimento com 5 mgL^{-1} MPs. Os adultos dos tratamentos com 5 e 50 mgL^{-1} MPs apresentaram um menor tamanho corporal ao final do experimento em comparação com os tratamentos controle e 500 mgL^{-1} MPs. Além disso, as fêmeas expostas ao alimento com 5 mgL^{-1} MPs também apresentaram um número total de neonatos gerados superior ao dos demais tratamentos.

Discussão

Diferentemente dos resultados obtidos por Ogonowski et al. [10] e Liu et al. [16], os dados do presente estudo indicaram um aumento na mortalidade dos organismos expostos à menor concentração de alimento com microplásticos (5 mgL^{-1}), em comparação com os tratamentos com concentrações mais elevadas (50 e 500 mgL^{-1}). Esse resultado pode ser atribuído ao fato de que, em baixas concentrações, a exposição prolongada e contínua aos MPs pode potencializar seus efeitos tóxicos nos organismos [16]. A exposição a contaminantes e outros estressores ambientais demanda uma grande quantidade de energia dos organismos e isso pode gerar uma redução da energia gasta para o crescimento dos indivíduos [16, 19], o que pode estar diretamente relacionado ao tamanho reduzido observado nas fêmeas de *D. similis* dos tratamentos com 5 e 50 mgL^{-1} MPs.

Sob situações de stress, os dafinídeos podem aumentar a produção de neonatos por ninhada, o que pode explicar a maior produção de neonatos observado nas fêmeas expostas à concentração de 5 mgL^{-1} MPs [16]. Todavia, estudos prévios indicam que a qualidade da prole

gerada por fêmeas expostas a MPs tende a ser inferior, apresentando indivíduos com baixo estado nutricional e maior suscetibilidade à mortalidade [10, 19]. Isso se deve ao fato de que o suprimento energético da prole está relacionado às condições nutricionais da fêmea, as quais podem ser comprometidas pela exposição ao contaminante [19].

Conclusão

Os resultados preliminares do presente estudo evidenciam a necessidade de novas pesquisas sobre os efeitos da exposição crônica a MPs em organismos de ambientes dulcícolas, principalmente de níveis tróficos inferiores, uma vez que os efeitos gerados por contaminantes podem se estender aos níveis tróficos superiores por meio da transferência trófica.

Agradecimentos

Os autores Yuuri Gabriel de Souza Santos e Paloma Kachel Gusso-Choueri agradecem o apoio dado pela Agência de Fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) durante o desenvolvimento desse estudo.

Referências

1. Eriksen, M., Lebreton, L., Carson, H., Thiel, M., Moore, C., Borerro, J., . . . Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. PloS One.
2. Weis, J. S. (2020). Aquatic Microplastic Research - A Critique and Suggestion for the Future. Water, 10.
3. Hurley, R., Woodward, J.C., Rothwell, J.J., 2018. Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding. Nat. Geosci. 11, 251e257.
4. Yao Xiao, Xiaofeng Jiang, Yuanchen Liao, Weigao Zhao, Peng Zhao, Mei Li, Adverse physiological and molecular level effects of polystyrene microplastics on freshwater microalgae, Chemosphere, Volume 255, 2020, 126914, ISSN 0045-6535.
5. Anita Jemec, Petra Horvat, Urban Kunej, Marjan Bele, Andrej Kržan, Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*, Environmental Pollution, Volume 219, 2016, Pages 201-209, ISSN 0269-7491.
6. Sinja Rist, Anders Baun, Nanna B. Hartmann, Ingestion of micro- and nanoplastics in *Daphnia magna* – Quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction, Environmental Pollution, Volume 228, 2017, Pages 398-407, ISSN 0269-7491.
7. Jordi Colomer, Mara F. Müller, Aina Barcelona, Teresa Serra, Mediated food and hydrodynamics on the ingestion of microplastics by *Daphnia magna*, Environmental Pollution, Volume 251, 2019, Pages 434-441, ISSN 0269-7491
8. Dahee An, Joorim Na, Jinyoung Song, Jinho Jung, Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna*, Chemosphere, Volume 271, 2021, 129591, ISSN 0045-6535.

9. Matthew Cole, Pennie Lindeque, Elaine Fileman, Claudia Halsband, Rhys Goodhead, Julian Moger, and Tamara S. Galloway, Microplastic Ingestion by Zooplankton, Environmental Science & Technology 2013 47 (12), 6646-6655.
10. Ogonowski, Martin; Schür, Christoph; Jarsén, Åsa; Gorokhova, Elena (2017). Data from: The effects of natural and anthropogenic microparticles on individual fitness in *Daphnia magna*.
11. Annika Batel, Flora Borchert, Hannes Reinwald, Lothar Erdinger, Thomas Braunbeck, Microplastic accumulation patterns and transfer of benzo[a]pyrene to adult zebrafish (*Danio rerio*) gills and zebrafish embryos, Environmental Pollution, Volume 235, 2018, Pages 918-930, ISSN 0269-7491.
12. Matthew Cole, Pennie Lindeque, Elaine Fileman, Claudia Halsband, and Tamara S. Galloway, The Impact of Polystyrene Microplastics on Feeding, Function and Fecundity in the Marine Copepod *Calanus helgolandicus*, *Environmental Science & Technology* 2015 *49* (2), 1130-1137.
13. Benjamin Trotter, Magdalena V. Wilde, Julian Brehm, Evdokia Dafni, Arlinda Aliu, Georg J. Arnold, Thomas Fröhlich, Christian Laforsch, Long-term exposure of *Daphnia magna* to polystyrene microplastic (PS-MP) leads to alterations of the proteome, morphology and life-history, Science of The Total Environment, Volume 795, 2021, 148822, ISSN 0048-9697.
14. Xavier Cousin, Annika Batel, Arno Bringer, Sebastian Hess, Marie-Laure Bégout, Thomas Braunbeck, Microplastics and sorbed contaminants – Trophic exposure in fish sensitive early life stages, Marine Environmental Research, Volume 161, 2020, 105126, ISSN0141-1136.
15. Campanale C, Massarelli C, Savino I, Locaputo V, Uricchio VF. A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. Int J Environ Res Public Health. 2020 Feb 13;17(4):1212.
16. Zhiquan Liu, Mingqi Cai, Donglei Wu, Ping Yu, Yang Jiao, Qichen Jiang, Yunlong Zhao, Effects of nanoplastics at predicted environmental concentration on *Daphnia pulex* after exposure through multiple generations, Environmental Pollution, Volume 256, 2020, 113506, ISSN 0269-7491.
17. ABNT. (2018). ABNT NBR 12648. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - método de ensaio com algas (Chlorophyceae)*.
18. ABNT. (2016). ABNT NBR 12713. *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera).*
19. Qi Liu, Leihong Liu, Jing Huang, Lei Gu, Yunfei Sun, Lu Zhang, Kai Lyu, Zhou Yang, The response of life history defense of cladocerans under predation risk varies with the size and concentration of microplastics, Journal of Hazardous Materials, Volume 427, 2022, 127913, ISSN 0304-3894