

## As pulgas de água no ensino experimental das ciências

Hugo Faria



Encontro da Comunidade de Prática dos Professores de Biologia e Geologia (230 e 520).  
Matosinhos 7 de Julho 2017. Escola Básica Professor Óscar Lopes.

*Daphnia magna*, vulgarmente designada por dáfnia é um pequeno crustáceo (2-5 mm), que vive em meios aquáticos de água doce (lagos ou rios com corrente fraca) e que se alimenta de fitoplâncton (ex: microalgas), bactérias e detritos. O tórax e o abdómen estão cobertos por uma carapaça (exoesqueleto) bivalve (2 valvas simétricas) com uma abertura ventral posterior, por onde saem as 10 patas. Apresenta um exoesqueleto transparente, o que permite observar ao microscópio, ou à lupa binocular, o seu interior, como por exemplo o coração a bater, o tubo digestivo, os olhos compostos, os ovos ou os embriões (nas fêmeas). Os movimentos das patas, abundantemente ciliadas, criam uma corrente de água entre as valvas, que permite a oxigenação do fluído circulante e a retenção do alimento, que é encaminhado para a boca. Este crustáceo filtrador tem uma esperança de vida que varia entre um mês e um ano. Como todos os artrópodes, sofre mudas, geralmente 6, até à idade reprodutiva. A dáfnia também se chama pulga de água devido à forma como nada, parece avançar na água com pequenos saltos, movidos por duas grandes antenas ramificadas situadas no cimo da sua cabeça.

O coração da dáfnia é um saco transparente, oval, localizado na região dorso anterior do tórax. Não há vasos sanguíneos e a circulação é lagunar. O líquido circulante é geralmente incolor, mas se a concentração de oxigénio dissolvido na água for baixa, forma-se hemoglobina, o que confere uma cor avermelhada aos indivíduos.

As culturas de dáfnias e de microalgas exigem a utilização de água sem cloro, com um pH de 7 a 8,6, com uma temperatura mínima de 16°C (18 a 25°C), com uma dureza total compreendida entre 160-180mg, com O<sub>2</sub> dissolvido superior a 6mg/L, e com um fotoperíodo mínimo de 14 horas (ótimo 16 horas). A cultura de microalgas deve ser mantida num recipiente com arejamento. Este vai fornecer o CO<sub>2</sub> indispensável à fotossíntese e vai impedir a sedimentação das algas no fundo do recipiente, o que limita fortemente a reprodução das algas.

As microalgas desempenham um papel central na vida na Terra, pois são a base das redes alimentares de muitos ecossistemas aquáticos. A microalga utilizada na alimentação das dáfnias, *Chlorella vulgaris*, é uma clorófita unicelular esférica, típica do fitoplâncton de água doce, de fácil cultura e manutenção em laboratório. As microalgas são cultivadas num regime semi-contínuo, ou seja, o volume da cultura que é retirado durante a fase exponencial é substituído por meio de cultura fresco, prolongando-se assim a fase de crescimento exponencial da cultura.

Sob condições ótimas, ao sétimo dia, a cultura de microalgas deverá atingir a fase exponencial, podendo ser retirados volumes da suspensão (cerca de 50 mL) para alimentar as dáfrias. Na preparação do alimento para as dáfrias, as microalgas devem ser concentradas através de centrifugação ou de decantação. Os volumes retirados são centrifugados durante 1 minuto a 2000 rpm. O sobrenadante é rejeitado, deixando um volume correspondente a aproximadamente 10-20% do inicial (5 a 10 ml). Em alternativa, pode deixar-se sedimentar (cerca de 12h) numa proveta. O alimento (concentrado de algas) pode ser armazenado a 4°C, por 3 dias ou a -20°C por um período máximo de 3 meses. No entanto, este deve estar sempre à temperatura ambiente aquando do fornecimento.

Em condições ambientais favoráveis (alimento abundante, temperatura ótima, ausência de predação e de competição), as populações de dáfrias são constituídas exclusivamente por fêmeas e crescem rapidamente devido a gerações partenogénicas. Os ovos não fecundados (partenogénicos ou ovos de verão), dão origem a fêmeas, geneticamente idênticos às fêmeas progenitoras, morfologicamente iguais aos adultos. Em laboratório, esta espécie tem, normalmente, juvenis de 2 em 2 dias e precisa de 6 a 10 dias para dar origem à primeira ninhada. Geralmente a libertação dos juvenis coincide com a muda da carapaça e a passagem de um novo lote de ovos para a câmara incubadora. Quando as condições ambientais não são favoráveis, apresentam reprodução sexuada.

No fim do Outono, quando as dáfrias se encontram no seu habitat natural podem surgir machos na população, provenientes de ovos partenogénicos que sofreram uma evolução diferente, e fêmeas, que deixam de produzir ovos partenogénicos, passando a produzir óvulos. A passagem da reprodução assexuada para a reprodução sexuada pode ter várias causas: diminuição do fotoperíodo da temperatura e do alimento, alteração da qualidade da água e aumento da densidade populacional. Após fecundação os ovos param o seu desenvolvimento, entrando em diapausa (estado de latência), sendo envolvidos por uma invólucro quitinosa espessa e designando-se por ovos de repouso, efípios ou ovos de inverno. Estes efípios, de cor escura, contêm um ou dois ovos que são libertados com a muda seguinte ou com a morte da fêmea. O estado de latência pode durar vários meses, até as condições ambientais se tornarem favoráveis, sendo, por vezes, necessário passarem por um período de dessecação ou de congelação para eclodirem. A camada quitinosa dos ovos de inverno assegura uma proteção aos ovos que lhes permite resistir não só aos períodos secos ou frios, mas também à passagem pelo tubo digestivo de anfíbios, peixes e aves sem serem digeridos, o que facilita a sua disseminação. A reprodução sexuada das dáfrias conduz a um aumento da diversidade genética das populações, que lhes facilita a adaptação a alterações ambientais e é um eficiente mecanismo de dispersão.

Uma vez que são animais muito sensíveis e porque possuem respostas biológicas fundamentais muito semelhantes às humanas, são utilizados como modelos para testar os efeitos de várias drogas sociais no ritmo cardíaco. São também utilizadas em laboratórios de todo o mundo para avaliar a poluição das águas. É aconselhável manter mais do que uma cultura de dáfrias, pois mesmo sob condições ótimas as

culturas podem colapsar sem razão aparente. Deve ser iniciada uma nova cultura duas semanas antes de usar os organismos em atividades experimentais.

Culturas saudáveis podem ser mantidas com leveduras (ex: *Saccharomyces*), com microalgas unicelulares (ex: *Chlorella*) ou com ambas.

A alimentação das dáfrias deve ser realizada 3 vezes por semana adicionar 1 ml da cultura de *Chlorella*. Às sextas-feiras deve ser adicionados 2 ml de suspensão para compensar a impossibilidade de alimentação durante o fim-de-semana.

Os indivíduos mortos, bem como os detritos acumulados no fundo (excrementos e carapaças), devem ser removidos e, semanalmente, deve fazer-se a renovação de 50% da água. Pelo menos mensalmente devem iniciar-se novas culturas a partir de juvenis da 3ª ninhada (3ª geração).

A dáfria apresenta características que a tornam um excelente modelo biológico. É fácil de cultivar em laboratório, com baixo custo, requer pouco espaço, possui um ciclo de vida curto, apresenta elevada fecundidade e reprodução partenogénica (permite a fácil obtenção de populações homogêneas em termos de tamanho, idade e sexo, o que permite eliminar a variabilidade genética dos ensaios), apresenta uma ampla distribuição geográfica e importância ecológica com significativo relevo nas redes alimentares de água doce e possui uma elevada sensibilidade a uma grande variedade de tóxicos.

A idade ideal das dáfrias para testar os efeitos de algumas drogas sociais no ritmo cardíaco da dáfria é a partir do 4º dia dos juvenis da 3ª geração.

Os jovens portugueses, acompanhando a tendência do mundo ocidental, estão a consumir substâncias psicoativas cada vez mais cedo. Estes consumos ocasionais são muitas vezes encarados pelos jovens como algo normal, que faz parte integrante das suas vivências. O consumo de drogas provoca alterações ao nível do sistema nervoso central, resultando em mudanças fisiológicas e/ou comportamentais. As drogas estimulantes (cafeína, nicotina) caracterizam-se por aumentar o metabolismo corporal e as depressoras (álcool) por diminuir-lo, sendo o ritmo cardíaco um ótimo indicador dessas alterações.

A utilização das dáfrias como modelo biológico permitem testar o efeito de drogas sociais comuns (cafeína, nicotina, álcool) no ritmo cardíaco e contribuir para a prevenção do consumo de substâncias psicoativas (lícitas).

#### Bibliografia:

Projeto Daphnia. 2008. Manual do kit: “Modelo biológico para testar os efeitos das drogas no ritmo cardíaco”. CIIMAR. Laboratorium. Visionarium.

<https://jbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/jbiol212>