



CAPTAR
ciência e ambiente para todos

volume 2 • número 2 • p 55-66

Factores condicionantes da reprodução em *Daphnia magna*

Daphnia magna (pulga-da-água) é um animal aquático (consumidor primário) cuja estratégia reprodutiva pode alternar entre assexuada (partenogénese) e sexuada. Na partenogénese ocorre o crescimento e desenvolvimento de um embrião sem fertilização, levando ao aumento rápido da população. Na fase sexuada originam-se ovos de resistência (*ephippium*) que são capazes de sobreviver às condições desfavoráveis, prosseguindo o seu desenvolvimento quando esta situação se altera. Ao longo do ano lectivo (2009/2010) desenvolveu-se um projecto, no âmbito da área curricular não disciplinar de Área de Projecto do 12º ano, com o objectivo de compreender e divulgar as estratégias de reprodução de *Daphnia magna* e os factores condicionantes. Assim, foram testados dois factores passíveis de condicionar a reprodução: temperatura e densidade populacional. Na actividade experimental desenvolvida verificou-se a ocorrência de reprodução por partenogénese e o crescimento rápido em larga escala às condições ambientais (temperatura de 20-25° C, 15 indivíduos em 400 mL de ASTM). Observou-se que a temperaturas mais altas os organismos não sobreviviam mais de 24 horas. Já a temperaturas muito baixas, o desenvolvimento foi de tal modo lento que ao fim de 21 dias os animais permaneciam de tamanho reduzido e sem sinais de reprodução. Em condições de elevada densidade populacional constatou-se mais uma vez o crescimento lento da população. No entanto, foi possível observar reprodução, com o nascimento de machos na primeira ninhada. Tal significa que a variável em estudo é um factor condicionante capaz de provocar uma alteração na estratégia reprodutiva, iniciando uma fase sexuada. Por fim, em condições de baixa densidade populacional observou-se novamente um crescimento reduzido nos organismos, hipoteticamente causado pela acumulação de alimento não filtrado.

Palavras-chave

Daphnia magna

dáfnia

partenogénese

factores condicionantes

reprodução

Ana Paula Inácio*

Diogo Martins*

Luís Silva*

Rafael Cardoso*

Vanessa Fonseca*

Colégio de S. Gonçalo, Murtas – Madalena,
Amarante.

* heterogamicfleas@hotmail.com

 **INTRODUÇÃO**

Daphnia magna é um organismo aquático largamente utilizado como modelo em testes laboratoriais. Esta função tem-lhe sido atribuída por várias razões. Por um lado é um organismo muito sensível a variações ambientais diversas, quer naturais (tais como variações de temperatura, de concentração em sais do meio, de densidade populacional, de pressão predatória), quer resultantes da actividade humana (tais como contaminação dos sistemas aquáticos com químicos de origem diversa) (e.g. Castro et al. 2009, Lopes et al. 2009, Pereira e Gonçalves 2009). Por outro lado, os dafnídeos ocupam uma posição ecológica importante nas teias tróficas aquáticas, pelo que as alterações que ocorrerem nas suas populações podem ter consequências importantes ao nível de todo o ecossistema aquático. São animais que vivem na coluna de água (pertencendo ao grupo do zooplâncton), alimentando-se por filtração de microalgas (produtores primários), e por sua vez constituem uma fonte de alimento relevante para a comunidade de peixes (Castro et al. 2009). Mais ainda, trata-se de um organismo relativamente fácil de cultivar em ambiente não natural (laboratório) e de manusear ao longo de procedimentos experimentais variados (Pereira 2008).

Os dafnídeos são seres vivos cuja estratégia reprodutiva alterna entre assexuada (partenogénese) e sexuada. Na partenogénese ocorre ciclicamente a deposição de ovos (numa câmara marsupial posicionada dorsalmente no corpo das fêmeas) que se desenvolvem formando um embrião sem que ocorra fertilização. A manutenção desta estratégia ao longo de algum tempo leva a que a população seja maioritariamente constituída por fêmeas todas geneticamente idênticas (mecanismo natural de clonagem).

O mecanismo de reprodução dos dafnídeos depende de factores ambientais. Em condições desvantajosas as dáfnias são estimuladas pelo meio para produzir machos que posteriormente fecundam as fêmeas (reprodução sexuada). O objectivo é originar ovos de resistência (*ephippium*) que são capazes de sobreviver às condições desfavoráveis, em estado latente, apenas eclodindo quando as circunstâncias voltarem a ser benéficas, possibilitando, conseqüentemente, a conservação da população (Pereira 2008). No caso de existirem as condições ideais para a continuidade da população reproduzem-se assexuadamente, expandindo substancialmente e rapidamente o número de indivíduos.

Este projecto, desenvolvido (no âmbito da área curricular não disciplinar de Área de Projecto) teve como objectivo compreender e divulgar à comunidade escolar quais os mecanismos de reprodução e os respectivos factores condicionantes que conduzem à alteração de estratégia reprodutiva (investimento na reprodução sexuada) por parte desta espécie. Foram desenvolvidas adaptações a protocolos de teste padronizados (tendo em conta a disponibilidade de material e logística da escola) e testou-se a influência da temperatura e da densidade populacional na reprodução de *Daphnia magna*. Sendo *Daphnia magna* susceptível a alterações do ambiente poderá funcionar como um guia para a preservação do meio aquático na medida em que se trata de um indicador da qualidade da água.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção e cultura de organismos

Numa fase inicial, *Daphnia magna* foi cedida pela Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Foi necessário recorrer a esta fonte depois de uma tentativa falhada de recolher o material biológico num ambiente natural, o Rio Tâmega, no concelho de Amarante. Na captura foram utilizadas redes (feitas com meias de licra fina, arame e um recipiente). O local parecia completar todos os requisitos necessários para o desenvolvimento desta espécie, mas após uma longa procura (Figura 1) não se obteve nenhum indivíduo. Deve notar-se que a espécie *Daphnia magna* não ocorre naturalmente nos sistemas aquáticos portugueses;



FIGURA 1: Captura de *Daphnia magna*

se a captura tivesse sido bem sucedida, o trabalho teria provavelmente sido desenvolvido utilizando uma outra espécie de *Daphnia* - *Daphnia longispina*. É ainda importante referir que os dafnídeos habitam preferencialmente ecossistemas lênticos, ou seja, ecossistemas de água parada (e.g., charcos permanentes ou temporários, lagos, lagoas, albufeiras); como os dafnídeos são organismos que não possuem capacidade natatória activa, facilmente seriam arrastados pela corrente, ainda que esta fosse fraca.

Para conservar os indivíduos usou-se um aquário (20 L de capacidade) com água do rio (contendo fitoplâncton)¹. Ocasionalmente, adicionou-se levedura (fermento de padeiro liofilizado), alimento adequado segundo a pesquisa previamente efectuada (Ivone Pinto, comunicação pessoal). Relativamente a outras condições para a manutenção dos seres vivos, tal como a temperatura, o laboratório demonstrava possuir um ambiente propício à proliferação da cultura (temperatura entre os 20 e os 25°C; fotoperíodo natural de aproximadamente 14h^L:10h^E). Com o material biológico adquirido começaram a aplicar-se os conhecimentos obtidos na fase de recolha de informações, tais como, observação e posterior análise da morfologia de *Daphnia magna* (Figura 2), assim como, posteriormente,

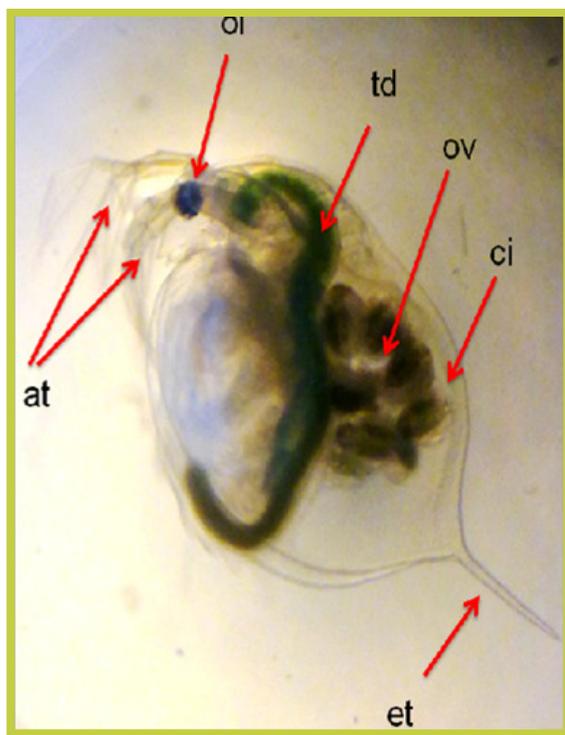


FIGURA 2: Fotografia de *Daphnia magna* (fêmea). (at) antenas; (ol) olho; (td) tubo digestivo; (ov) ovos partenogénicos; (ci) câmara de incubação; (et) espinho terminal.

¹ Há várias alternativas que podem funcionar como meio de cultura de dafnídeos em laboratório, usando apenas levedura como aditivo alimentar. Se se usar água de um rio é importante assegurar que o rio está em boa condição ecológica (sem indícios de zonas de descarga poluentes ou de outras fontes de poluição difusa, como campos agrícolas ou produção de gado nas redondezas) e que é feita uma renovação frequente (de dois em dois dias) da água das culturas (os rios são em geral pobres em fitoplâncton dado que a corrente arrasta continuamente as microalgas que possam estar suspensas na coluna de água). A água de um lago/lagoa em boas condições ecológicas pode constituir melhor alternativa por ser mais rica em fitoplâncton – ainda assim, a frequência da renovação da água nas culturas deve ser mantida elevada (dois em dois ou três em três dias. Eventualmente, a água de um poço de rega, estando assegurada a ausência de contaminantes, pode também funcionar como meio de cultura de dafnídeos.

a distinção entre macho e fêmea² (Figura 3). Para tal recorreu-se a vários instrumentos que facilmente são encontrados em laboratório, como lupas binoculares (ampliação: 2 a 4x), pipetas de Pasteur e vidros de relógio.

Com o decorrer do tempo colocaram-se questões quanto à quantidade de alimento que seria adequada. Com vista a responder a estas questões começaram a realizar-se alguns testes nos quais se sujeitaram as dáfnias a diferentes quantidades de levedura liofilizada. Em contactos e pesquisa efectuados posteriormente descobriu-se que a utilização de levedura como fonte alimentar única não era o mais correcto, devendo funcionar normalmente apenas como um suplemento.

Ensaio

A fase de ensaios iniciou-se com uma experiência preliminar onde se sujeitou *Daphnia magna* a diferentes temperaturas. Colocou-se um gobelé (400 mL de ASTM) com dez indivíduos no frigorífico (a 4°C) e a mesma quantidade na estufa (32°C). Sujeitaram-se ainda alguns indivíduos a condições bastante adversas: durante 15 dias colocaram-se cerca de 20 neonatos num gobelé (400 mL) juntamente com resíduos metabólicos (acumulados anteriormente no fundo do mesmo gobelé e sem qualquer tipo de alimento.)

Com o decorrer do tempo aprofundaram-se os conhecimentos. Contactos e visitas ao Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro forneceram informações abundantes sobre o tema, incluindo detalhes sobre a manipulação correcta dos seres vivos no ambiente laboratorial e aconselhamento quanto ao desenvolvimento da experiência em preparação. Houve fornecimento de alguns indivíduos de um clone de *Daphnia magna* (que permitiu renovar as culturas na escola, que já não se encontravam nas melhores condições) e de suspensões concentradas da microalga verde unicelular *Pseudokirchneriella subcapitata*, que passou a constituir o alimento das culturas. Passou a ser utilizada uma micropipeta para uma maior correcção científica na provisão de alimento às culturas³. Também o meio de cultura foi alterado tornando as condições de cultura e de teste mais constantes: começou a utilizar-se o meio de cultura sintético ASTM *hardwater* (ASTM 1980). Este meio de cultura tem por base água destilada, à qual são adicionados alguns sais, cumprindo concentrações definidas: 192 mg L⁻¹ de NaHCO₃, 120 mg L⁻¹ de CaSO₄·2H₂O, 120 mg L⁻¹ de MgSO₄, e 8 mg L⁻¹ de KCl. Primeiramente este

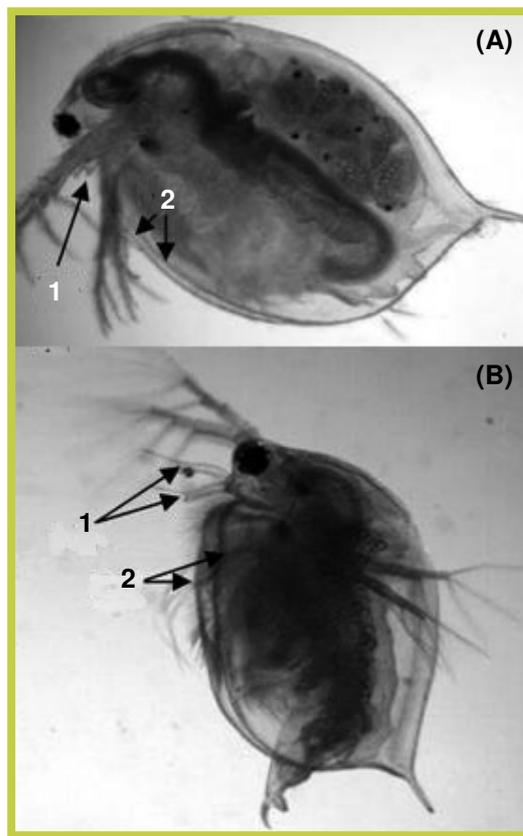


FIGURA 3: *Daphnia magna* fêmea (A) e macho (B). (1) primeira antena; (2) bordas da carapaça. Fonte: Olmstead e Gerald, 2007.

² É possível distinguir os machos das fêmeas através da primeira antena, que é mais alongada nos machos. Outra diferença reside nas bordas da carapaça, sendo estas simétricas no caso das fêmeas e assimétricas nos machos (Borst et al. 2001; Olmstead e Gerald 2007).

³ *Daphnia magna* pode ser mantida em laboratório em condições aceitáveis com um fornecimento de uma ração diária de 3x10⁵ células mL⁻¹. A contagem microscópica de células algais antes de alimentar culturas seria um procedimento muito demorado e por isso dificilmente compatível com a rotina diária de um laboratório. Para evitar a necessidade de contagem é feita uma relação entre o número de células de microalga que é necessário fornecer e o volume de suspensão concentrada de microalgas que deve ser adicionado ao meio de cultura. Alguns detalhes adicionais sobre este procedimento podem ser consultados em Castro et al. 2009.

meio foi fornecido, porém, mais tarde, foi elaborado pelo grupo de trabalho (Figura 4). Aconselharam o uso de neonatos no lugar de dáfias adultas nos ensaios, dado que desta forma seria mais simples garantir que a população que iniciaria cada ensaio era composta por indivíduos com a mesma idade (a idade dos indivíduos pode constituir um factor de variabilidade dos resultados experimentais - a sensibilidade das dáfias a diferentes agentes de *stress* varia bastante de acordo com a sua idade). Assim, foi necessário treinar a contagem de indivíduos mais pequenos antes de iniciarem novas experiências.

No dia 15 de Abril de 2010 por volta das 14 horas e 30 minutos, Iniciou-se a experiência com sucesso, a qual foi terminada no dia 6 de Maio de 2010 às 14 horas. Utilizaram-se 5 gobelés com 400 mL de meio ASTM. No grupo controlo colocaram-se 15 indivíduos (neonatos com aproximadamente 24 horas). No grupo experimental A (Densidade Populacional Elevada) 80 neonatos e no grupo B (Densidade Populacional Baixa) 5 neonatos, sendo, portanto, o número de indivíduos por gobelé a variável em teste. Estes 3 primeiros grupos permaneceram à temperatura ambiente com fotoperíodo natural durante o período de teste.



FIGURA 4: Grupo de trabalho

Numa segunda experiência, o grupo I (Temperatura Elevada) e no grupo II (Temperatura Baixa) foram colocados 15 neonatos (tal como no grupo controlo). Nos grupos I e II a temperatura foi mantida nos 40-45°C e 2-5°C, respectivamente. Para certificar tal alteração o grupo I foi colocado numa estufa com temperatura regulada, sendo o fotoperíodo assegurado por uma lanterna posicionada no interior da estufa. O grupo II foi colocado numa estufa de germinação onde tanto a temperatura como o fotoperíodo (16h^L: 8 h^E) puderam ser regulados. As populações foram alimentadas 3 vezes por semana com 1,85 mL de suspensão de *Pseudokircheneriella subcapitata*, medidos pela micropipeta. Durante o período de teste foi feita observação e registo numérico diários relativamente a todos os tratamentos experimentais. A mudança de meio foi feita de 3 em 3 dias.

Actividades de divulgação

Com base na experiência adquirida ao longo do ano lectivo na cultura e procedimentos de teste com *Daphnia magna*, o grupo de trabalho desenvolveu uma série de actividades experimentais direccionadas para o 6º ano do Ensino Básico e no âmbito do Dia Mundial da Água. Estas experiências foram desenvolvidas a partir de actividades descritas na bibliografia (Marques et al. 2007) e pretenderam demonstrar a influência da poluição em animais aquáticos como *Daphnia magna*. Foram realizados testes de curta duração (48 h) para avaliar o efeito de um detergente e de um analgésico na sobrevivência das dáfias. Para o efeito colocaram-se 5 dáfias em diferentes gobelés (400 mL de ASTM). Num dos gobelés foi adicionado detergente (5 gramas), noutra foi adicionado um analgésico (5 gramas) e um terceiro funcionou como controlo (não lhe foi adicionada nenhuma substância contaminante). Posteriormente foram discutidos os resultados com os alunos de forma a sensibilizá-los sobre a influência de diferentes poluentes nos ecossistemas aquáticos.

RESULTADOS

Na fase de ensaios preliminares constatou-se que os indivíduos que se encontravam a temperaturas elevadas (32º-36ºC) estavam mais agitados, movimentando-se rapidamente e de forma constante. Os que estavam no frigorífico caracterizavam-se por apresentarem movimentos lentos, estando quase estáticos. Os indivíduos sujeitos às condições consideradas pelo grupo de trabalho como extremamente adversas (15 dias sem adição de alimento num local repleto de resíduos metabólicos) reproduziram-se em larga escala tendo sido contados cerca de 140 indivíduos.

A actividade experimental definitiva decorreu entre 15 de Abril e 6 de Maio de 2010. Foram feitas observações e registos diários. Nas figuras 3 a 7 situam-se os registos numéricos das populações de *Daphnia magna* durante o estudo.

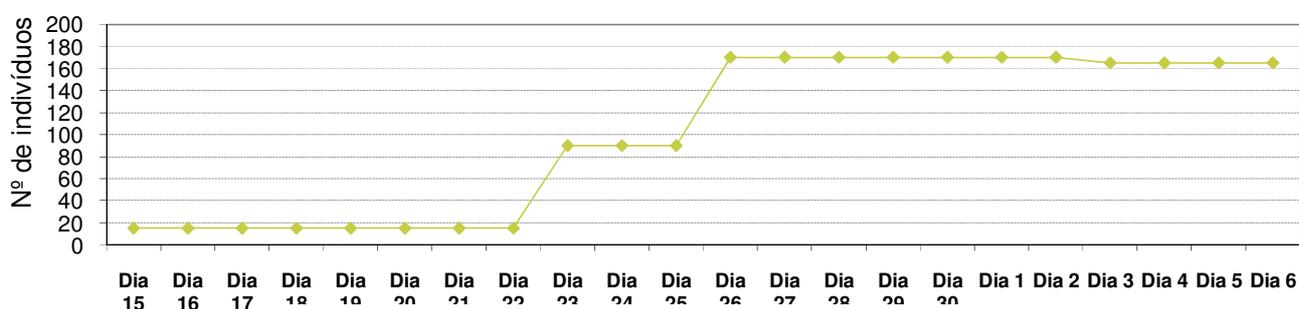


FIGURA 5: Variação populacional no Grupo Controlo.

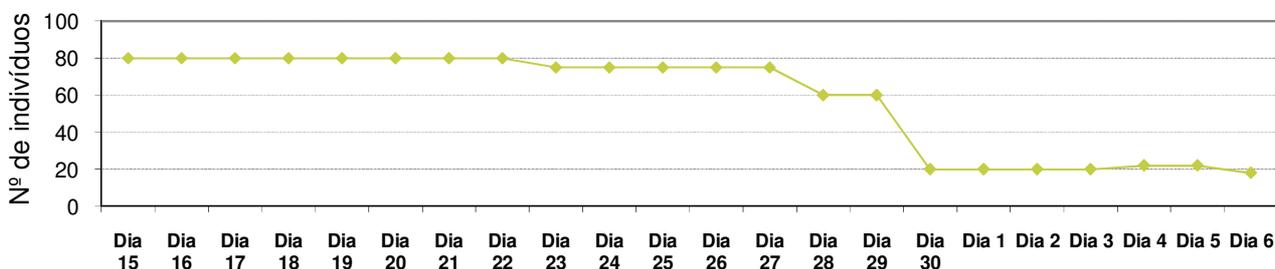


FIGURA 6: Variação populacional no Grupo A (elevada densidade populacional).

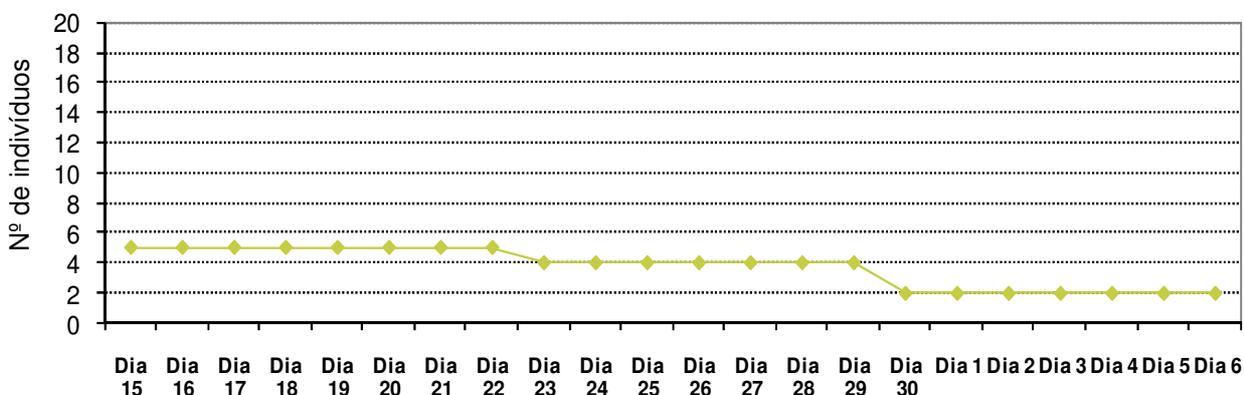


FIGURA 7: Variação populacional no Grupo B (baixa densidade populacional).



FIGURA 8: Variação populacional no Grupo I (temperatura elevada).

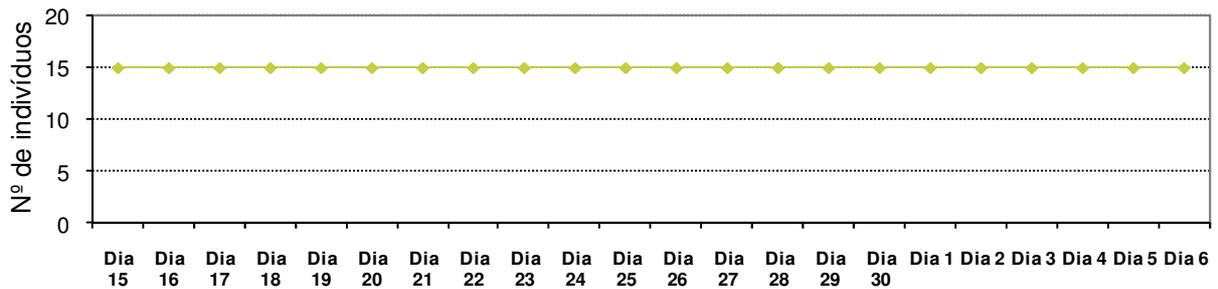


FIGURA 9: Variação populacional no Grupo II (temperatura baixa).

No grupo Controlo observou-se um crescimento em larga escala. No dia 20 de Abril (sexto dia de teste) a maioria das dáfias tinham o marsúpio cheio de ovos, tendo a sua primeira ninhada no dia 23. A segunda ninhada surgiu no dia 25. Apenas se registaram mortes (em pequeno número) nos últimos dias da experiência. A temperatura ambiente variou entre os 20-25°C durante o período experimental. No grupo A (elevada densidade populacional) verificou-se a existência de dificuldades no desenvolvimento dos neonatos, que cresceram lentamente. Registou-se o nascimento de 2 machos no dia 5 de Maio. No grupo B o número de indivíduos tendeu a descer ligeiramente. O alimento e os resíduos acumularam-se no fundo do recipiente. O desenvolvimento foi igualmente lento. Não houve qualquer tipo de reprodução durante os 21 dias de teste.

No grupo I todas as dáfias morreram no dia 16 de Abril, não suportaram 24 horas a temperaturas de tal modo elevadas. No grupo II registou-se um desenvolvimento particularmente lento, os organismos movimentavam-se vagarosamente. A população apresentava uma tonalidade bastante clara. Não se registaram mortes nem qualquer tipo de reprodução durante os 21 dias.



DISCUSSÃO

Ao longo deste ano lectivo, houve a oportunidade e o privilégio de contactar com *Daphnia magna*. Esta habita em meios aquáticos (água doce), como charcos, lagos/lagoas e albufeiras (zonas de água parada de rios). Alimenta-se essencialmente de plâncton (o fitoplâncton é alimento preferencial das espécies de *Daphnia*) podendo ingerir microrganismos, tais como protistas e bactérias, mas também matéria orgânica particulada e dissolvida.

No meio ambiente, a dáfnia compete pelo alimento com outros seres pertencentes ao mesmo grupo de animais em que esta se insere – zooplâncton (conjunto de organismos aquáticos que não têm capacidade fotossintética, ou seja, heterotróficos, e que vivem dispersos na coluna de água, apresentando pouca capacidade de locomoção). Exemplos destes animais invertebrados são outros crustáceos como os copépodes, bem os rotíferos ou larvas de insectos.

Na cultura laboratorial não se registou a presença de outros animais que competissem pelo alimento com a pulga-da-água, dado esse não ser o objectivo do estudo desenvolvido. Deve lembrar-se que se pretendeu estudar os factores que podiam condicionar a partenogénese nesta espécie; para a obtenção de resultados fiáveis era fundamental o isolamento da espécie, para que não ocorresse interferência de outros factores que não fossem aqueles que foram induzidos e controlados pelo grupo.

O primeiro contacto com dáfrias serviu para a realização de alguns testes preliminares e para compreendermos o seu comportamento e hábitos de vida, permitindo desenvolver uma cultura, a qual serviria para a realização da actividade experimental que permitiria tirar conclusões relativas aos factores que influenciam a partenogénese nesta espécie.

Mais tarde, aquando da iniciação da actividade com a *Daphnia magna* deparámo-nos com o primeiro grande obstáculo – a morte repentina de mais de setenta por cento dos organismos, incluindo os que haviam já sido seleccionados para a actividade experimental e a maioria dos que permaneciam na reserva. Em grupo, discutiram-se possíveis explicações para o sucedido, mas a única justificação plausível parecia residir no alimento (as microalgas com que foram alimentadas nesses dias poderiam não estar nas perfeitas condições). Sensivelmente até ao momento em que se verificou este problema, a cultura de dáfrias tinha sido alimentada exclusivamente com o fermento de padeiro (levedura liofilizada); só a partir daquela circunstância foram introduzidas as microalgas como ração alimentar, em substituição do fermento. Possivelmente terá sido a conjugação destes dois factores a provocar tal mortalidade na cultura existente:

por um lado, a levedura não constitui por si só alimento de qualidade (sendo que as dáfrias poderiam estar a sofrer de deficiência nutricional já há algum tempo; por outro lado, as algas poderiam não se encontrar nas melhores condições quando foram adicionadas à cultura dado que tinham sido congeladas para conservação a longo prazo no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (o que, só por si, pode deteriorar a qualidade da suspensão) e tinham sido transportadas desde a cidade de Aveiro até Amarante (Colégio de São Gonçalo) sem apoio de refrigeração.

Mesmo depois deste contratempo, as preocupações não cessaram devido ao aparecimento de uma nova espécie nas nossas culturas (um copépode da Ordem *Cyclopoida*) (Figura 10). Para compreender o aparecimento desta espécie não se encontrou uma explicação concreta, apenas a possibilidade de a água do rio possuir ovos ou formas larvares destes organismos (os náuplios) que só germinaram mais tarde, já nas culturas.



FIGURA 10: Fotografia original de copépode (Ordem *Cyclopoida*)

Apesar de todos estes inconvenientes, obtiveram-se resultados fiáveis numa segunda tentativa. Verificou-se que *Daphnia magna* se reproduz partenogenicamente, quando sujeita a condições favoráveis, no entanto, quando é influenciada por condições ambientais adversas (como a elevada densidade populacional), modifica a sua estratégia reprodutiva para reprodução sexuada.

Analisando os resultados obtidos, pode concluir-se que, no grupo controlo, o crescimento foi rápido e a reprodução em larga escala, o que se deveu claramente a condições ambientais favoráveis (temperatura de 20-25° C) que são propícias a um metabolismo eficaz. O aumento da população durante este período não foi proporcional ao volume de água onde se encontrava, sendo que isto provocou o acréscimo de produtos de excreção acumulados, bem como a uma diminuição da taxa alimentar fornecida a de cada indivíduo (mais indivíduos alimentados com a mesma quantidade de algas leva a que haja uma diminuição da quantidade de alimento disponível para cada indivíduo). Esta conjugação de factores será a explicação para as mortes observadas no grupo controlo.

No grupo A (elevada densidade populacional) o desenvolvimento foi demorado tendo ocorrido a morte de parte dos indivíduos. As ninhadas foram produzidas espaçadamente (4 a 5 dias) e apenas com 1 ou 2 ovos. As más condições provocadas pela acumulação de resíduos metabólicos (fundamentalmente produtos de excreção) desta população abundante terão prejudicado o seu crescimento uma vez que tal acumulação implicará naturalmente degradação da qualidade do meio. Confirmou-se na experiência que a densidade populacional elevada é um factor prejudicial para a espécie, que inclusivamente estimula o início de uma fase sexuada. Os machos obtidos no dia 5 demonstram esse facto; caso sobrevivessem iriam fecundar as fêmeas originando a formação de ovos de resistência (*ephippium*). Durante o período experimental verificou-se que, de uma forma geral, os organismos desta população se reproduziam, mas apresentavam apenas um a dois ovos no marsúpio. De facto, uma população de *Daphnia* com elevada densidade requer uma maior quantidade de recursos alimentares disponíveis. Uma vez que a ração não foi alterada neste grupo experimental, a baixa disponibilidade de recursos terá prejudicado a reprodução, o que se terá expressado na diminuição de ovos produzidos. Em condições favoráveis, os dafnídeos seguem uma estratégia reprodutiva que maximize o número de descendentes produzidos; quando as condições alimentares se deterioram (quer porque diminui a qualidade quer a quantidade relativa de alimento, como foi o caso do grupo A) estes organismos ajustam esta estratégia, investindo na produção de menos ovos com mais reservas (que resultam em menos neonatos, mas os quais têm maior capacidade para sobreviver num cenário de escassez de recursos alimentares) (Pereira 2008). Os machos observados podem indicar um eventual papel da densidade populacional na produção de uma enzima, *methyl famesoate* (MF) pelo órgão mandibular, que interfere na determinação sexual dos crustáceos (Borst et al. 2001; Olmstead e Gerald 2007). Estudos anteriores indicam que a concentração desta enzima poderá ser regulada por factores ambientais, bem como que o aumento de temperatura da água induz uma maior concentração de MF com consequente aumento da produção de machos e da incidência de anomalias sexuais em populações de *Daphnia magna* (Olmstead e Gerald 2007). Deve reconhecer-se que esta explicação é, nesta altura, um pouco especulativa, uma vez que não foi ajustada a quantidade de alimento fornecida ao grupo A; mesmo que tenham ocorrido variações na produção da enzima MF, a baixa disponibilidade de alimento será sempre um factor condicionante muito importante nesta experiência (menos energia disponível implica menor produção de descendência, seja ela constituída por ninhadas de fêmeas, de machos ou mistas). Só com

ajustes na metodologia será possível perceber se um aumento de densidade populacional em condições alimentares favoráveis é capaz, por si só, de induzir a produção de machos.

No grupo B os resultados não estiveram de acordo com o que se esperava. Supunha-se que se mantivesse uma taxa elevada de reprodução partenogénica e um crescimento significativo da população. Não houve qualquer tipo de reprodução e o crescimento foi bastante lento. A justificação encontrada é o facto de o escasso número de indivíduos não ter sido capaz de filtrar todo o alimento, o que resultou numa acentuada sedimentação de detritos alimentares, o que foi facilmente constatado pela cor esverdeada no fundo do gobelé. Em suma, apesar de em teoria a disponibilidade alimentar neste grupo ser superior à do grupo A, na prática, as condições em ambos os grupos acabam por ser semelhantes, uma vez que os dafnídeos não são capazes de utilizar o alimento sedimentado mas apenas de filtrar o alimento que se encontra suspenso na coluna de água.

No grupo I, devido às altas temperaturas, não se deu qualquer tipo de desenvolvimento. A elevação da temperatura face às condições ambientais ideais causou danos irreversíveis em *Daphnia magna*. Uma explicação possível para o sucedido é a desnaturação das enzimas dos indivíduos colocando em risco o metabolismo celular e a própria estabilidade da membrana celular. Assim, deu-se uma morte prematura da população, o que não permitiu um crescimento dos seres até à idade reprodutiva para que se pudesse concluir acerca dos efeitos destas temperaturas na reprodução de *Daphnia magna*. No grupo II verificou-se que o número de organismos se manteve constante e o desenvolvimento foi quase nulo. Mantiveram-se de pequenas dimensões (1 a 2mm) durante o período experimental. Observou-se ainda que os seres sujeitos a temperaturas elevadas estavam em constante agitação, movendo-se muito rapidamente, enquanto os sujeitos a temperaturas baixas se encontravam praticamente estáticos, apresentando movimentos muito lentos. *Daphnia* é um organismo poiquilotérmico, que não é capaz de manter uma temperatura corporal diferente da do meio onde está inserido, ou seja, a sua temperatura corporal é definida pela temperatura do meio. Tendo em conta que a actividade enzimática, e consequentemente a actividade metabólica e celular, é dependente da temperatura (geralmente as enzimas têm a sua actividade reduzida a baixas temperaturas e aumentada a temperaturas mais altas), nestes organismos a temperatura do meio influencia decisivamente todos os processos fisiológicos. Como *Daphnia* não possui mecanismos de regulação da temperatura corporal (ao contrário por exemplo dos mamíferos, como o Homem, que, independentemente da temperatura ambiental consegue regular a sua temperatura corporal mantendo-a nos 36-37°C), a actividade metabólica varia de acordo com a temperatura do meio. Assim, a actividade enzimática das dáfrias que se encontravam a 4°C seria extremamente reduzida, o que explica a redução da frequência de movimentos efectuados na coluna de água, a redução no crescimento corporal e a inexistência de reprodução. O contrário ocorre quando *Daphnia* é sujeita a temperaturas elevadas. O movimento acelerado resulta da aceleração da actividade enzimática e consequente aumento da actividade metabólica no geral. Quando o organismo poiquilotérmico não suporta estas condições de temperatura muito elevada, geralmente porque se ultrapassam as temperaturas a partir das quais ocorre desnaturação enzimática, morre, o que terá sucedido com as dáfrias do grupo I.

Através da realização da actividade com *Daphnia magna* e do seu manuseamento durante este ano lectivo, pode-se concluir que se trata de uma espécie muito influenciada pelas condições ambientais, sendo também uma espécie muito sensível à poluição da água. Esta percepção foi dada através de uma

actividade realizada com os alunos do sexto ano do Ensino Básico, onde se verificou que estas não resistiam a águas contaminadas com detergentes ou analgésicos (exemplos de produtos que contêm químicos que são despejados nos rios, através, por exemplo, dos esgotos). Foram realizados inquéritos que demonstraram o agrado dos alunos relativamente à iniciativa, assim como, a compreensão da mesma, comprovada pela participação activa e respostas correctas às questões colocadas durante o evento.



APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com os dados recolhidos foi possível concluir que o ciclo de vida de *Daphnia magna* é influenciado por vários factores ambientais, como por exemplo: temperatura, densidade populacional e alimentação. *Daphnia magna* é um animal que habita ambientes aquáticos (como albufeiras e lagos); nesses ambientes ocorrem alterações ao longo do ano que vão estimular este ser a alterar a sua estratégia reprodutiva tendo sempre como objectivo último a manutenção da população. É possível depreender as potencialidades do estudo da interacção de *Daphnia magna* com o meio, tais como, a compreensão do efeito concreto das modificações a maior escala no ecossistema tendo por base as respostas particulares desta espécie a diferentes condições ambientais. A existência de dafnídeos é fundamental para o ecossistema aquático uma vez que mantém um papel importante na rede trófica, logo, o conhecimento sobre as suas respostas a diferentes estímulos ambientais naturais ou de origem humana poderá ajudar a prever desequilíbrios na dinâmica do ecossistema.

Ainda existem dúvidas e incertezas quanto ao condicionamento ambiental sofrido pelo ser estudado; certos acontecimentos demonstram que factores à primeira vista desconhecidos influenciaram, tanto de forma negativa (levando à morte) como positiva (havendo sobrevivência em condições altamente desfavoráveis).

Após o projecto experimental efectuado surge a necessidade de despertar novas problemáticas e colocar novas questões, nomeadamente:

- Porque razão as dáfnias sobreviveram 15 dias num local sem adição de alimento?

Formularam-se algumas hipóteses para as questões previamente apresentadas, designadamente:

- As dáfnias são seres filtradores, ou seja, capazes de se alimentar de partículas dissolvidas na água; como a água na qual se encontravam provinha de um rio e não se sabia ao certo a sua composição, esta poderia conter elevadas quantidades de alimento não visíveis a olho nu que podem ter sido suficientes para a população subsistir.

agradecimentos • Agradecemos à Professora Ivone Pinto que nos acompanhou desde o início do projecto e ajudou no desenvolvimento do mesmo e à Doutora Joana Pereira que teve um papel fundamental na sua realização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM (1980). Standard practice for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates and amphibians. Report E 729-80. American Standards for Testing and Materials, Philadelphia.
- Borst DW, Ogan J, Tsukimura B, Claerhout T, Holford KC (2001). Regulation of the Crustacean Mandibular Organ. Department of Biological Sciences, Illinois State University, Normal, Illinois
- Castro BB, Consciência S, Gonçalves F (2009). Comunicação química em sistemas predador-presa: um contributo para a controvérsia. *CAPTAR* 1(1): 54-66.
- Lopes I, Martins N, Baird DJ, Ribeiro R (2009). Exposição a agentes perturbadores naturais e antropogénicos: consequências na diversidade genética de populações de dafnídeos. *CAPTAR* 1(1): 67-78.
- Marques CR, Pereira JL, Abrantes N, Gonçalves F (2007). A contaminação do meio aquático – desenvolvimento de uma actividade prática a diferentes níveis de Ensino. In: F Gonçalves, R Pereira, UM Azeiteiro, MJ Pereira (eds.). *Actividades científicas no âmbito da Educação Ambiental*. Editora do Instituto Piaget, Lisboa, pp 167-194.
- Olmstead AW, Gerald AL (2007). The Environmental-Endocrine Basis of Gynandromorphism (Intersex) in a Crustacean. *International Journal of Biological Sciences* 3: 77-84.
- Pereira JL (2008). Variações populacionais de cladóceros sujeitos a diferentes condições de stress. Tese de Doutoramento em Biologia. Universidade de Aveiro, Aveiro. 152 pp.
- Pereira JL, Gonçalves F (2009). A Expressão genética como ferramenta de avaliação de impactos da poluição por pesticidas em sistemas aquáticos. *CAPTAR* 1(1): 40-53

