

## **Uso de *Daphnia magna* para a avaliação da qualidade da água do Rio Gravataí e a presença de microplásticos na água**

Fernanda da Costa Souza<sup>1</sup>

Daniela Oliveira Marko<sup>2</sup>

Diulliane de Jesus Borba<sup>3</sup>

Gustavo Cassão da Silva<sup>4</sup>

Patrícia da Fonseca de Moraes<sup>5</sup>

Günther Gehlen<sup>6</sup>

Gabriela Zimmermann Prado Rodrigues<sup>7</sup>

**Resumo:** A poluição do ambiente aquático tem sido uma das maiores preocupações da ciência e do público em geral nas últimas décadas, sendo os principais causadores os resíduos industriais, efluentes agrícolas, esgotos, metais pesados e microplásticos. Muitos poluentes são biologicamente ativos em baixas concentrações, resultando em efeitos subletais, o que torna a situação altamente complexa e difícil de avaliar. O plástico é um material relevante, mas junto com seus benefícios também surgem diversos problemas, um deles são as consequências do seu descarte irregular no meio ambiente e sua eventual fragmentação em microplásticos. O plástico pode alcançar rios e afetar sua biota através da sua degradação em micropartículas. O Rio Gravataí está entre os recursos hídricos mais contaminados e poluídos do país, mas ainda há poucos estudos que avaliam o efeito biológico das suas águas ou de seus poluentes. Objetivamos, no presente estudo, monitorar a qualidade da água do Rio Gravataí através da presença de microplásticos e de análises ecotoxicológica sem um modelo alternativo ao uso de um microcrustáceo, da família dos Cladóceros, a *Daphniamagna*. Para isso, amostras de água foram coletadas em um ponto amostral considerado menos impactado (P1) e em outro ponto com maior densidade populacional (P2). No presente estudo, os dados foram compilados e curados testes de crescimento e reprodução com ensaios de toxicidade de *Daphnia magna* (48h agudo) e (21 dias crônicos). Foi também feita a extração de microplásticos na água do rio Gravataí de

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Cesuca. E-mail: fernanda\_costasouza@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Discente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro Universitário Cesuca. E-mail: danimarko@icloud.com

<sup>3</sup> Mestre em Qualidade Ambiental, Universidade Feevale. E-mail: diullianebio@gmail.com

<sup>4</sup> Discente do curso de farmácia da Universidade Feevale. E-mail: gustavocassao025@gmail.com

<sup>5</sup> Discente do curso de Biomedicina da Universidade Feevale. E-mail: patricia.morais1203@gmail.com

<sup>6</sup> Doutor em Neurociências e Docente na Universidade Feevale. E-mail: guntherg@feevale.br

<sup>7</sup> Coordenadora do Curso de Biomedicina e docente dos Cursos de Biomedicina e Medicina Veterinária do Centro Universitário Cesuca. Doutora em Qualidade Ambiental. E-mail: gabriela.rodrigues@cesuca.edu.br

acordo com o protocolo adaptado de Masura et al. (2015). Ao término do experimento, imagens de cada fêmea de *Daphnia magna* e as membranas contendo microplásticos foram capturadas por meio de microscopia óptica (aumento de 40x) (Olympus IX73) a fim de verificar a cor, quantidade (microplásticos) e comprimento, deformidades da *Daphnia magna*, com auxílio do software ImageJ.

**Palavras-chaves:** *Daphnia magna*; Microplásticos; Ecotoxicidade; Rio Gravataí.

## 1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que a água é um elemento essencial para todos os seres vivos, seja de forma biológica, química ou física, portanto há uma grande necessidade de proteção aos recursos hídricos (Nelson, 2017). As atividades agrícolas e as altas densidades populacionais expõem a maior parte das bacias hidrográficas do sul do Brasil a pesados e crescentes impactos ambientais, especialmente a poluição por resíduos orgânicos (Salomoni *et al.*, 2006). A presença de ambientes aquáticos contaminados por diferentes poluentes representa um grande problema ambiental das últimas décadas (Dalzochio *et al.*, 2017).

Além das atividades agrícolas, outras substâncias tóxicas também são comumente encontradas, como metais pesados, descargas industriais, e esgoto urbano, que no geral, é composto por uma mistura complexa de diversas substâncias (Silva; Nascimento, 2013). O descarte destes e outros poluentes de forma indevida, associada ao fato de que as tecnologias para tratamento de água disponíveis em países em desenvolvimento são ineficientes para a remoção destas substâncias da água, resulta no comprometimento de toda biota aquática, incluindo os peixes (Miranda, 2012).

Os ecossistemas de água doce e estuarinos são recursos essenciais plenamente utilizados como fonte de alimento e água, uma rede para o desenvolvimento econômico, a indústria e a agricultura (Carpenter *et al.*, 2011). Devido à sua conectividade e densidade populacional ser maior em torno dos sistemas hídricos, os rios tornaram-se um contribuinte significativo e um caminho para a introdução de plásticos no mar e para torná-lo poluído (Claessens et al., 2011 ; Willis *et al.*, 2017). Uma série de fontes de poluição plástica em rios foram identificadas por meio de processos naturais, como inundações e vento (Bruge *et al.*, 2018 ; Tramoy *et al.*, 2019). A produção de plástico resultou na descoberta de partículas de plástico em

tamanhos variados (macroplástico (>5 mm), microplástico (<5 mm), nanoplástico (1-1000 nm)) em habitats aquáticos e terrestres (Da Costa *et al.*, 2016 ; Huang *et al.*, 2020 ; Hurley *et al.*, 2020 ; Law, 2017 ; Peng *et al.*, 2020). Os microplásticos (MP) com tamanho <5 mm, em particular, estão se tornando cada vez mais abundantes local e globalmente, com seu impacto amplamente documentado (Browne *et al.*, 2011 ; Zhao *et al.*, 2018). Os microplásticos podem lixiviar e absorver toxinas prejudiciais do ambiente circundante. Como resultado, os MPs podem transferir poluentes para os organismos e resultar em bioacumulação e bioamplificação nas cadeias alimentares (Farrell e Nelson, 2013 ; Miller *et al.*, 2020).

No Rio Grande do Sul (RS), a análise da qualidade da água é feita com base nos seguintes poluentes: partículas inaláveis (PI10), Dióxido de Enxofre, Dióxido de Nitrogênio, Ozônio e Monóxido de Carbono (FEPAM, 2021). A gestão é feita não apenas de forma quantitativa, mas também de forma qualitativa das bacias hidrográficas do RS. As bacias hidrográficas representam um importante papel na gestão dos recursos hídricos e ambiental, “uma vez que os elementos físicos naturais estão interligados pelo ciclo da água”. O Rio Grande do Sul conta com três regiões hidrográficas estabelecidas pelo Art. 38 da Lei nº 10.350/1994: a região hidrográfica da Bacia do Rio Uruguai, a região hidrográfica das Bacias Litorâneas e a região hidrográfica da Bacia do Guaíba (SEMA, 2001).

A região hidrográfica da Bacia do Guaíba abrange de forma parcial ou total 251 municípios e representa cerca de 60% da população do Estado do Rio Grande do Sul (FEPAM, 2021). A Bacia Hidrográfica do Rio Guaíba possui uma área de 2.015 km<sup>2</sup> e uma população estimada de 1.379.259 habitantes, sendo que 1.349.232 habitantes encontram-se em áreas urbanas e 30.027 habitantes em áreas rurais SEMA (2020). É na Bacia Hidrográfica do Guaíba que encontra-se localizada a Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí. A Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí abastece nove importantes municípios gaúchos: Alvorada, Cachoeirinha, Canoas, Glorinha, Gravataí, Porto Alegre, Santo Antônio da Patrulha, Taquara e Viamão. Apesar da relevância do Rio Gravataí para o desenvolvimento social, econômico e cultural destes municípios, o Rio Gravataí está entre os dez rios mais poluídos do Brasil (Pessoa, 2017). Isto deve-se ao fato do crescimento industrial e urbano dos últimos anos. Na visão de Salomoniet *et al.* (2011), o crescimento industrial e populacional aumentou de forma significativa o despejo de poluentes no rio em razão de atividades com irrigação agrícola, abastecimento de água para animais, esgoto industrial e doméstico, poluição

urbana e precipitação de poluentes atmosféricos. De acordo com o relatório técnico FEPAM de abril de 2021: “A falta de planejamento, em consonância ao uso descontrolado do solo, ocasiona a degradação, não só qualitativa, como quantitativa da água, afetando assim a disponibilidade hídrica de um manancial”. Considerando as atividades poluidoras do Rio Gravataí, o relatório técnico FEPAM de 2021 selecionou para este estudo o grupo de parâmetros físico-químicos e microbiológicos: Oxigênio dissolvido, Demanda bioquímica de Oxigênio, Turbidez, Fósforo total, *Escherichia coli*, Coliformes termotolereantes, Nitrogênio Amiacal.

Embora a análise físico-química colabore para verificação da qualidade da água superficial, sugere-se a complementação da análise através do uso de bioindicadores (Ribeiro; Uieda, 2005). A bioindicação é um método de utilização de organismos que compõe certos ambientes para caracterizá-lo. A caracterização é feita com base no conhecimento do comportamento destes organismos quando submetidos a fatores *et al.*, 2016). A capacidade de sensibilidade às mudanças do meio ambiente é que determina a escolha do bioindicador (Callisto *et al.*, 2004). Alguns autores consideram os macro invertebrados bentônicos como sendo os melhores bioindicadores de qualidade das águas lólicas (Milesi *et al.*, 2008; Callisto *et al.*, 2004). As vantagens são devidas às características sésseis, por apresentarem um ciclo de vida longo e serem de baixo custo. A *Daphnia magna* desempenha um papel fundamental na transferência de massa e energia ao longo da teia trófica de um lago (Carpenter *et al.*, 2001), (Loureiro *et al.*, 2013). Enquanto consumidoras primárias, as *Daphnias magnas* previnem o crescimento descontrolado do fitoplâncton.

Com base no exposto, propõe-se no presente estudo realizar avaliações de ecotoxicidade aguda e crônica com *Daphnia magna* e detecção de microplásticos para a avaliação da qualidade da água do Rio Gravataí.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

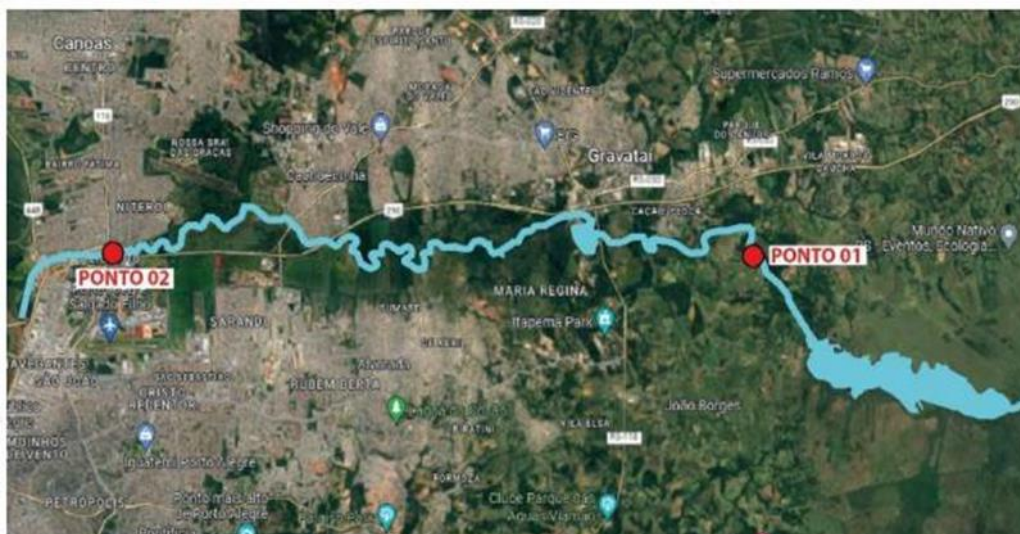
Esta investigação foi realizada com base no monitoramento da qualidade da água do Rio Gravataí através da presença de microplásticos e de análises ecotoxicológicas. Para isso, utilizou-se um modelo alternativo ao uso de um microcrustáceo, da família dos Cladóceros, a *Daphina magna*. As amostras foram coletadas em dois pontos distintos, conforme subseção 2.1. Na subseção 2.2 aborda-se a forma de detecção e quantificação de microplásticos das amostras de água do Rio Gravataí. Na subseção 2.3 descreve-se os tipos de ensaios realizados.

## 2.1 COLETA DE AMOSTRAS

As amostras foram recolhidas em dois pontos selecionados ao longo do Rio Gravataí. A Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí está localizada na Região Hidrográfica da Bacia do Guaíba e possui uma área de 2.015 km<sup>2</sup> e uma população estimada de 1.379.259 habitantes (SEMA, 2022). O ponto 1 deste estudo (P1) foi escolhido pela menor incidência populacional e está situado na região interiorana de Viamão, RS (29,96632 S, 50,94992 O). Em contraste, o ponto 2 (P2) caracteriza-se pela alta incidência populacional e consequente impacto antrópico. O P2 está situado em Porto Alegre divisa com Canoas (29,96767 S, 51,17581 O). Neste estudo foram coletados 18 litros de água de cada ponto. Destes 18 litros de água, 4 litros foram coletados para a análise dos microplásticos. Após a coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório de ecotoxicologia da Universidade Feevale e armazenadas em bombonas de plástico e garrafas de vidro na geladeira sob temperatura de 2º a 4º. Para a realização dos ensaios utilizou-se protocolos adaptados do próprio grupo de pesquisa (Rodrigues et al., 2016; Finkler et al., 2022).

As amostras foram coletadas em duas estações climáticas diferentes. A primeira amostra foi coletada em maio de 2023, ou seja, no outono. A segunda amostra foi coletada no mês de setembro de 2023, ou seja, na primavera. Os dados de pluviosidade foram obtidos com base nos registros do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), sendo o índice de pluviosidade de acordo com o dia da coleta e a respectiva cidade. As referidas estações climáticas podem ser vistas na Figura 1. Pode-se observar na imagem da Figura 1 a predominância de área rural em torno de P1 e a predominância de área urbana em torno da P2.

Figura 1 Mapa dos pontos amostrais P1 e P2



Fonte: Villanova et al. (2022)

## 2.2 DETECÇÃO DE MICROPLÁSTICOS

Para a detecção e quantificação de microplásticos das amostras de água do Rio Gravataí, adicionou-se uma solução de KOH 10% para degradação e remoção de matéria orgânica (procedimento realizado em estufa  $\cong 45^{\circ}\text{C}$ ). Posteriormente, as amostras foram filtradas em membranas de acetato de celulose com porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ , em capela de fluxo laminar com fluxo de ar desligado. Ao término, as membranas foram depositadas em placas de petri previamente higienizadas, lacradas com parafilm e colocadas para secar em temperatura ambiente. Após estarem completamente secas, imagens das membranas foram capturadas com auxílio de um microscópio invertido (aumento de 40x) (Olympus IX73). A análise das imagens consistiu na caracterização de cada microplástico, a fim de verificar a cor, o comprimento e a quantidade, com auxílio do software ImageJ.

## 2.3 ENSAIOS UTILIZANDO *DAPHNIA MAGNA*

Foram realizados dois tipos de ensaio, o agudo (48h) e o crônico (21 dias). No ensaio agudo, neonatos de *Daphnia magna* foram expostos ( $n=20$  por grupo) às diluições preparadas com diferentes concentrações da água do rio Gravataí em becker de 50 ml (25%, 50%, 100%) a serem testados durante 48 horas. Um grupo controle foi mantido em meio de cultura padrão dos organismos. Durante este período os organismos foram mantidos em  $21^{\circ}\text{C}$ , sem alimentação ou iluminação.

No ensaio crônico, durante 21 dias, neonatos de *Daphnia magna* foram expostos ( $n=15$  por grupo) às diluições preparadas com diferentes concentrações da

72

água do rio Gravataí em beckers de 50 ml (25%, 50%, 75% 100%) durante 21 dias. Um grupo controle mantido em meio de cultura padrão foi mantido sob as mesmas condições. Durante este período, os organismos foram mantidos em 21°C e foram alimentados todo dia com algas (inerir a espécie), sendo renovado as diluições e o grupo controle 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 e deformidades, com auxílio do software ImageJ.

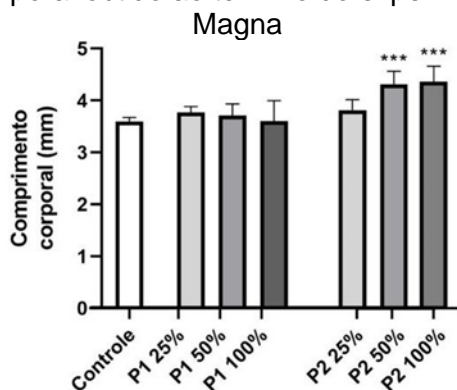
## 2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva dos dados, com auxílio do software Excel. Os dados obtidos no ensaio de toxicidade crônica foram avaliados com auxílio do software GraphpadPrism 6. Posteriormente, com a outra coleta prevista no projeto, os dados serão comparados quantitativamente através de testes estatísticos.

## 3 RESULTADOS

O ensaio de toxicidade aguda utilizando o modelo *Daphnia magna* não causou mortalidade ou imobilidade nos organismos em nenhuma concentração avaliada. No entanto, no ensaio de toxicidade crônica utilizando o mesmo modelo, observou-se um aumento corporal nos organismos expostos às amostras do P2, especialmente nas diluições de 50% e 100% ( $p < 0,00001$ ). Este aumento corporal pode ser visto na Figura 2. Relativamente aos dados reprodutivos, estes ainda estão sendo analisados.

Figura 2 Comprimento corporal obtido ao término do experimento crônico com *Daphnia*

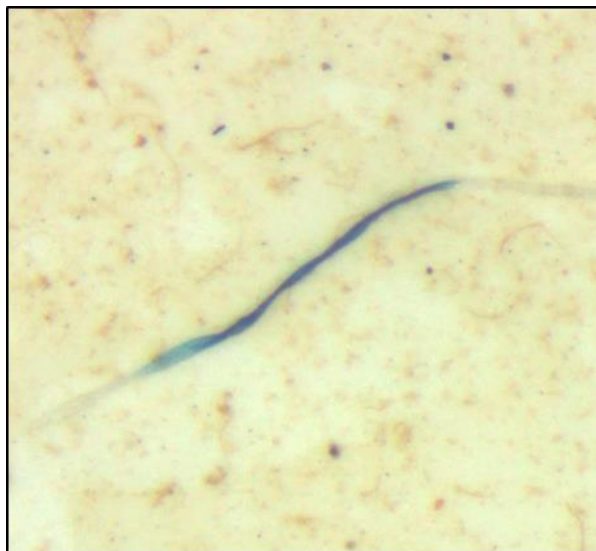


Fonte: Autores

Quanto a análise de MP, foram encontradas 8 fibras em P2 e 19 fibras em P1,

indicando que locais de baixa incidência populacional apresentam significativa contaminação por MP, derivados possivelmente, da poluição atmosférica. Um exemplo destas fibras é demonstrado na Figura 3 (ampliação de 100x em microscopia óptica).

Figura 3 Exemplo de fibra encontrada em amostras do Rio Gravataí



Fonte: Autores

#### 4 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a ecotoxicidade aguda e crônica com *Daphnia magna*, Gravataí. A escolha pelo Rio Gravataí deve-se ao fato deste ser uma importante fonte de abastecimento da região metropolitana de Porto Alegre, capital do estado do Rio Grande do Sul.

No Rio Gravataí, a poluição por microplásticos leva a uma vasta gama de impactos potenciais na vida selvagem e nos seres humanos. Conforme mencionado previamente neste estudo, a principal fonte de poluição são as atividades humanas, na maioria dos casos sem qualquer gestão ambiental. Estudos de monitoramento ambiental instigam maior proteção e podem contribuir para a decisão de medidas de prevenção e redução de impactos. Assim, monitorar e controlar efeitos de poluentes sobre a biota aquática caracterizam-se como ferramentas de saúde única para contribuir com a redução de impactos na saúde humana. Segundo Salomão *et al.* (2020), a verificação contínua das concentrações de contaminantes no meio hídrico deve ser realizada, especialmente para descargas intermitentes e descontínuas. Além disso, as limitações dos métodos analíticos devem ser observadas na avaliação da concentração de contaminantes nos bioindicadores



avaliados, suas vias e potenciais produtos de degradação.

A variabilidade de respostas observada neste estudo se deve às diferentes fontes de poluição, que vão desde o esgoto doméstico até a poluição industrial, podendo ser ocorrências pontuais ou ser transformadas pelos córregos que as formam. Foram encontradas 8 fibras em P2 e 19 fibras em P1, indicando que locais de baixa incidência populacional apresentam significativa contaminação por MP, derivados possivelmente, da poluição atmosférica. A elevação do volume da massa de água pode aumentar a força da corrente que agita o leito, mobilizando substâncias depositadas nas camadas superficiais, liberando xenobióticos transportados do solo, o que contribui para a contaminação do corpo hídrico.

Já o aumento corporal nos organismos expostos às amostras do P2, especialmente nas diluições de 50% e 100% , motivado por estar localizado em uma área urbana, onde há um acúmulo de poluição, hormônios, fertilizantes entre outros, acelerando assim o crescimento do microcrustáceo. Segundo Antonopoulou et al. (2016), a avaliação da toxicidade durante o processo é essencial para avaliar a viabilidade do tratamento da água. Os bioensaios são importantes para a obtenção de informações sobre o descarte seguro.

As descobertas indicadas anteriormente levantam preocupação, especialmente porque a *Daphnia magna* desempenha uma função fundamental no funcionamento do ecossistema aquático, a poluição por esgotos domésticos, lixos, esgotos industriais e por microplásticos é um paradigma mundial e têm aumentado em muitos ecossistemas aquáticos em todo o mundo devido às mudanças climáticas globais. São necessários mais estudos, especialmente sobre os efeitos combinados de longo prazo dos microplásticos na água dos rios.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No presente estudo os resultados alertam para a ecotoxicidade causada pelas águas contaminadas do Rio Gravataí, que influenciaram no aumento do crescimento da *Daphnia magna*. Os dados ressaltam a importância do monitoramento de substâncias tóxicas nos corpos hídricos. A presença de microplásticos no ponto amostral localizado próximo a nascente do rio também chama atenção, e instiga novos estudos.

## REFERÊNCIAS

Avaliação dos insumos plásticos da bacia do Sena até o mar usando abordagens estatísticas e de campo. *Frente. Mar. Ciência*, 10 de abril de 2019 Sec. Poluição Marinha. Volume 6 – 2019.

BROWNE, M. et al. Acúmulo de microplástico nas linhas costeiras em todo o mundo: fontes e sumidouros. ***Ciência e Tecnologia Ambiental***, v.45, n.21, 6 set. 2011. P. 9175-9179. DOI: 10.1021/es201811s.

CLAESSENS, M. et al. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. ***Marine Pollution Bulletin***, v. 62, n.10, out. 2011. p.2199-204. Doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.06.030.

DEVEREUX R. et al. Microplastic abundance in the Thames River during the new year period. ***Marine Pollution Bulletin***, v.177, abril. 2022. Doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113534.

Distribuição de microplásticos em diferentes profundidades de sedimentos em um estuário urbano *Frente. Março Sci.*, 19 dez. 2017. Sec. Poluição Marinha. Volume 4 - 2017 .

FARRELL, P.; NELSON, K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). ***Environmental Pollution***, v. 177, jun. 2013, p. 1-3. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>.2013.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL (FEPAM). Departamento de Qualidade Ambiental. ***Qualidade da água superficial na Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí***: relatório técnico. Porto Alegre: FEPAM, 2021. Disponível em [https://ww3.fepam.rs.gov.br/biblioteca/Relatorio\\_da\\_Qualidade\\_das\\_Aguas\\_Superficiais\\_da\\_Bacia\\_do\\_Gravatai.pdf](https://ww3.fepam.rs.gov.br/biblioteca/Relatorio_da_Qualidade_das_Aguas_Superficiais_da_Bacia_do_Gravatai.pdf)

FINKLER, M. Cytotoxic and genotoxic effects induced by associated commercial glyphosate and 2,4-D formulations using the *Allium cepa* bioassay. ***Journal of Environmental Science and Health***, v. 57, n.2, 2022, p. 133–141.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia .Brasília. Acessado em 02 de setembro de 2023.

MASURA, J., *et al.* Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment: recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments: NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-48. Silver Spring (MD/USA): NOAA, 2015. Disponível em: [https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/10296/noaa\\_10296\\_DS1.pdf](https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/10296/noaa_10296_DS1.pdf)

MIRANDA, J. Ameaças aos peixes de riachos da Mata Atlântica. ***Natureza online***, v. 10, n. 3, p. 136-139. 2012.

NELSON, R. A. R. R. Da importância dos recursos hídricos e a organização administrativa para sua proteção. Planeta Amazônia: ***Revista Internacional de***

**Direito Ambiental E Políticas Públicas**, v. 9, n. 71, 2018.

PIMENTA, S; *et al.* Estudo da qualidade da água por meio de bioindicadores bentônicos em córregos da área rural e urbana. **Rev. Ambient. Água**, Taubaté, v. 11, n. 1, p. 197-210, jan. / mar. 2016

RIBEIRO, L. O.; UIEDA, V. S. Estrutura da comunidade de macroinvertebrados bentônicos de um riacho de serra em Itatinga, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n.3, p. 613–618, 2005.

RODRIGUES, G.; *et al.* avaliação da toxicidade aguda e crônica de metais poluentes ambientais em *Daphnia magna*. In: JORNADA DE PÓS GRADUAÇÃO DA UERGS, 4, 2019, Porto Alegre. **IV Jornada** [...]. Porto Alegre: UERGS, 2019.

DALZOCHIO, T. *et al.* Water quality parameters, biomarkers and metal bioaccumulation in native fish captured in the Ilha River, southern Brazil. **Chemosphere**, v.189, p. 609 – 618, dez./2017. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.09.089. Disponível em: . <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517315023>

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria do Meio Ambiente. **G010**: bacia hidrográfica do Rio Gravataí. Disponível em <https://sema.rs.gov.br/g010-bh-gravatai>.

YOON, H.; YOON, J. The Impact Evaluation of Acid Mine Drainage on Zebrafish (*Danio rerio*) and Water Fleas (*Daphnia magna*) in the Vicinity of the Geum River Basin in Korea. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 19, n. 24, dez./2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/24/16470>.