

Beatriz Leite Calixto Nascimento

O papel da troca de exoesqueleto do camarão marinho *Penaeus vannamei* na eliminação do excesso de metal presente no corpo

SÃO VICENTE
2024

Beatriz Leite Calixto Nascimento

O papel da troca de exoesqueleto do camarão marinho *Penaeus vannamei* na eliminação do excesso de metal presente no corpo

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências da UNESP – Campus do Litoral Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título bacharel em Ciências Biológicas, com habilitação em Gerenciamento Costeiro.

Orientador(a): Prof^ª Dr^ª Alessandra da Silva Augusto

Coorientador(a): Me. Juliana Rodrigues da Costa

SÃO VICENTE
2024

N244p

Nascimento, Beatriz Leite Calixto

O papel da troca de exoesqueleto do camarão marinho *Penaeus vannamei* na eliminação do excesso de metal presente no corpo / Beatriz Leite Calixto Nascimento. -- São Vicente, 2024

27 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientadora: Alessandra Augusto

Coorientadora: Juliana Rodrigues da Costa

1. Contaminação. 2. Cádmio. 3. Fisiologia. 4. Bioacumulação. 5. Aquicultura. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo suporte e apoio, em especial a minha mãe Evânia Leite Calixto Nascimento, que sempre acreditou em mim e fez o possível para que eu pudesse seguir e alcançar meus objetivos. E ao meu pai, que hoje não está ao meu lado, mas sempre foi um dos meus maiores incentivadores e parceiro de conversas sobre o mar. E ao meu namorado Gustavo por me incentivar e motivar sempre.

À professora Alessandra Augusto pelo incentivo e suporte para que eu pudesse realizar o projeto da melhor forma possível.

Agradeço aos meus amigos do Laboratório de Aquicultura Sustentável: Andressa Matheus, Héllen, Lucilly, Juliana, Barbara e Manu que foram meu suporte durante os experimentos. Serei sempre grata por ter todos vocês na minha vida.

Agradeço à Fazenda de Cultivo Sustentável PRIMAR pelo fornecimento de *Penaeus vannamei* para que o meu projeto pudesse ser realizado.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo/FAPESP pela bolsa de iniciação científica (Processo 2023/09599-4).

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	6
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
Coleta de animais.....	8
Exposição dos animais em laboratório ao cádmio.....	9
Avaliação da taxa de mortalidade.....	10
Taxa de ingestão.....	10
Taxa de egestão.....	10
Crescimento.....	10
Consumo de oxigênio e excreção nitrogenada.....	11
Avaliação do substrato energético oxidado.....	12
Avaliação do índice hepatossomático.....	12
Avaliação da osmolalidade da hemolinfa.....	12
Quantificação de cádmio na água, corpo e exúvia dos animais.....	12
Análise estatística.....	13
3. RESULTADOS.....	14
Mortalidade.....	14
Crescimento, taxa de ingestão e egestão, metabolismo e excreção nitrogenada.....	14
Tipo de substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa.....	16
Quantificação de cádmio na água, corpo e exúvia.....	17
4. DISCUSSÃO.....	18
Mortalidade e relação com o ciclo de muda.....	18
Metabolismo e excreção nitrogenada.....	18
Substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa.....	19
Concentração do cádmio no corpo e exúvia.....	21
5. CONCLUSÃO.....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

RESUMO

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce e *Penaeus vannamei* é o camarão mais cultivado no mundo. São vários os problemas ambientais que atualmente podem colocar a biodiversidade e a aquicultura em risco, como metais, microplástico e mudanças no clima. No presente trabalho investigamos os efeitos fisiológicos de diferentes concentrações do metal cádmio (Cd) na fisiologia de *P. vannamei*. Os animais foram expostos a duas concentrações de Cd presentes na natureza (0,1 mg/L e 0,5 mg/L) ou à água livre do metal (grupo controle) durante 30 dias e foi avaliada uma malha de processos fisiológicos (mortalidade, crescimento, ingestão, egestão, metabolismo, excreção, tipo de substrato energético oxidado, índice hepatossomático, osmorregulação e quantificação de metal). Foi observada uma mortalidade de 30% em ambas as concentrações do metal (0,1 mg/L e 0,5 mg/L), indicando que o Cd, mesmo que presente em baixas concentrações pode gerar mortalidade, principalmente associada a períodos do ciclo de muda em que o animal se encontra vulnerável, como a pré e a pós muda. Houve redução do consumo de oxigênio (-12%) nos animais expostos a 0,1 mg/L de Cd, bem como redução na excreção de amônia e troca do substrato energético oxidado (de proteínas para lipídios) nos animais expostos a 0,5 mg/L sugerindo a oxidação de um substrato mais energético. Foram encontradas também concentrações de Cd nos animais expostos a 0,1 mg/L no corpo ($0,167 \pm 0,012$ mg/L) e na exúvia ($0,151 \pm 0,036$ mg/L) semelhantes ao que os animais estavam expostos (0,1 mg/L) e nos expostos a 0,5 mg/L, concentrações no corpo ($0,256 \pm 0,056$ mg/L) e na exúvia ($0,252 \pm 0,027$ mg/L) de cerca de metade da quantidade a qual estavam expostos no tratamento (0,5 mg/L).

Palavras-chave: Contaminação; Cádmio; Fisiologia; Bioacumulação; Aquicultura.

ABSTRACT

Aquaculture is one of the fastest growing food production sectors and *Penaeus vannamei* is the most cultivated shrimp in the world. There are several environmental problems that can currently put biodiversity and aquaculture at risk, such as metals, microplastics and climate change. In the present work we investigated the physiological effects of different concentrations of cadmium (Cd) on the physiology of *P. vannamei*. The animals were exposed to two concentrations of Cd present in nature (0.1 mg/L and 0.5 mg/L) or to metal-free water (control group) for 30 days and a network of physiological processes were evaluated (mortality, growth, ingestion, egestion, metabolism, excretion, type of oxidized energy substrate, hepatosomatic index, osmoregulation and metal quantification). A mortality of 30% was observed in both metal concentrations (0.1 mg/L and 0.5 mg/L), unfortunately, Cd, even if present in low concentrations, can cause mortality, mainly associated with periods of the molting cycle in which the animal is vulnerable, such as pre- and post-molt. There was a reduction in oxygen consumption (-12%) in animals exposed to 0.1 mg/L of Cd, as well as a reduction in ammonia excretion and exchange of oxidized energy substrate (from proteins to lipids) in animals exposed to 0.5 mg/L suggesting the oxidation of a more energetic substrate. Cd concentrations were also found in animals exposed to 0.1 mg/L in the body (0.167 ± 0.012 mg/L) and in the exuvia (0.151 ± 0.036 mg/L) similar to what the animals were exposed to (0.1 mg/L) and in those exposed to 0.5 mg/L, concentrations in the body (0.256 ± 0.056 mg/L) and in the exuvia (0.252 ± 0.027 mg/L) of about half the amount they were exposed to in the treatment (0.5 mg/L).

Key-words: Contamination; Cadmium; Physiology; Bioaccumulation; Aquaculture.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura se tornou uma fonte importante de frutos do mar, que possuem papel fundamental na manutenção da segurança alimentar e provendo nutrição ao redor do mundo, tendo esse setor um crescimento rápido e exponencial no ramo da produção de alimentos, enquanto a demanda mundial por alimentos aumenta e o setor pesqueiro não supre a demanda sozinho, especula-se que a aquicultura consistirá num setor determinante para o cumprimento da demanda de alimento esperada para os anos seguintes (Bjørndal et al., 2024; Chan et al., 2024; Yadav et al., 2024). A produção por meio da aquicultura tem crescido largamente comparado à pesca, tendo um aumento de 6.6% desde a produção do ano de 2020, possuindo uma produção total de 130.9 milhões de toneladas no ano de 2022, sendo aproximadamente 12.7 milhões de toneladas referente a produção de crustáceos (FAO, 2024). Apesar de ser um setor essencial e extremamente importante, muitos problemas podem colocar a produção aquícola em risco, sendo eles: as mudanças climáticas, as doenças, os medicamentos, drogas ilícitas, os micro e nano plásticos, os metais, etc. (Blonç et al., 2023; Buchmann, 2022; Emenike et al., 2022; Iheanacho et al., 2023; Shen et al. 2024; Yadav et al., 2024).

Camarões marinhos dominam a produção de crustáceos na costa (FAO, 2023). Segundo dados da FAO (2024), o camarão marinho *Penaeus vannamei* foi a espécie mais cultivada no ano de 2022, com uma produção de 6.8 milhões de toneladas. *P. vannamei* ocupa ambientes marinhos de clima tropical com temperaturas superiores a 20°C e sua cultura para meio comercial se iniciou na década de 70 na América Central e do Sul e avançando para os Estados Unidos, além de se tornar o camarão dominante em cultivos de camarões peneídeos em países do continente asiático (Albalat et al., 2022). É uma espécie ideal para cultivo, pois possui características favoráveis como: rápido desenvolvimento, uma necessidade menor de nutrientes comparado a outras espécies de camarões, apresenta maior resistência a doenças e alto poder de adaptação às condições ambientais adversas (Barajas-Sandoval et al., 2024; Ye et al., 2024).

Por ser um animal importante economicamente e largamente consumido, se torna uma preocupação o fato de que a saúde e qualidade do camarão possa ser alterada quando exposto a metais presentes na água em que estão sendo cultivados e que entram no corpo por meio da absorção da água e da assimilação por meio do alimento e sedimento. Além disso, metais não essenciais, como o Cd possuem efeitos tóxicos mesmo que em concentrações mais baixas, se acumulam nos tecidos e geram efeitos carcinogênicos e não carcinogênicos aos humanos que

os consomem, já que muitos metais presentes no ambiente tem a capacidade de aumentar sua concentração através da teia trófica, onde os humanos, com frequência são os consumidores finais (Arisekar et al., 2022; Yu et al., 2020; Wang et al., 2023). Os metais não essenciais como o Cd estão presentes naturalmente no ambiente em concentrações mais baixas, mas as atividades humanas urbanas, agrícolas e industriais como galvanização, fertilizantes, algicidas, inseticidas, suplementos alimentares e químicos usados nos meios de cultivo, plásticos e tintas, descarte incorreto de lixo eletrônico, fontes atmosféricas, efluentes industriais e domésticos, usinas e mineração aumentam suas concentrações no ambiente (Arisekar et al., 2022; Azar e Vajargah, 2023; Sonone et al., 2021). Crustáceos costumam ser mais suscetíveis à poluição por metais principalmente devido ao seu estilo de vida associado ao sedimento, portanto, tendem a acumular mais metais do que outros organismos aquáticos (Waqas et al., 2024). Segundo a resolução CONAMA nº 357/2005 em águas salobras de classe 1, o valor máximo para o Cd é de 0,005 mg/L. Águas salobras de classe 1 podem ser destinadas à aquicultura, pesca, recreação e proteção das comunidades aquáticas. O Cd é conhecido pela sua relativa alta taxa de retenção na biota, com uma meia vida de 25-30 anos em humanos por exemplo, o que também é pertinente para a sua toxicidade (Genchi et al. 2020).

Os crustáceos possuem diversos mecanismos de eliminação do excesso de metal no corpo, entre eles está a metalotioneína, encontrada amplamente na natureza com potencial de detoxificação de metais por quelação de íons metálicos, pois a sua expressão genética é estimulada por eles e, que possui grande papel na detoxificação de Cd (Yang et al., 2024). Além disso, a deposição de Cd na exúvia já foi observada em algumas espécies de crustáceos, indicando que a troca de exoesqueleto pode significar uma rota de eliminação do excesso de metal no corpo, possivelmente durante a pós muda, fase de remineralização do novo exoesqueleto onde, devido a semelhança iônica, o Cd e o cálcio podem competir pelos transportadores de cálcio na membrana das células epidérmicas (Butler e Zou, 2021; Ramos e Leite, 2022). O objetivo do trabalho foi avaliar se a exposição crônica ao Cd gera alterações dos parâmetros fisiológicos (mortalidade, ingestão e egestão, crescimento, consumo de oxigênio, excreção de amônia, substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa) de *P. vannamei* e se o exoesqueleto é um depósito de metal, o qual foi avaliado por meio da quantificação de Cd presente no corpo e a exúvia dos animais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de animais

Camarões marinhos adultos da espécie *Penaeus vannamei* (machos e fêmeas) foram coletados na fazenda de cultivo sustentável PRIMAR, no Rio Grande do Norte. Os animais foram transportados de Natal/RN até Guarulhos/SP por avião. Em seguida, foram transportados para o campus da UNESP em São Vicente, SP, em carro oficial da UNESP. O trajeto total costuma ter cerca de cinco horas e os animais foram acondicionados em sacos de plástico contendo água aerada do local de coleta e acondicionados em caixas de isopor. Os animais foram mantidos em sala úmida do Laboratório de Aquicultura Sustentável durante quatro dias para aclimação antes de se iniciarem os experimentos (Ramaglia et al., 2018). Foram aclimatados às condições laboratoriais em aquários individuais contendo água com salinidade (20S) e temperatura (25°C) semelhante à do local de origem. Durante esse período os animais foram alimentados todos os dias com ração comercial para camarão marinho (Guabi, 40% de proteína) com cerca de 7% da sua biomassa. Todos os camarões utilizados estavam na fase de intermuda. Os experimentos foram realizados com um total de 10 animais por tratamento (N=10).

Tabela 1. Peso Úmido Inicial dos Animais (g) do tratamento controle e (0mg/L) e dos expostos às duas concentrações de Cd (0,1 mg/L e 0,5 mg/L)

Animal	0 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
1	10,9	8,7	11
2	12,2	9,2	10,8
3	13,1	10,5	9,7
4	12,3	12,8	12,1
5	9,9	9,9	11,3
6	10,6	9,8	9,8
7	11,9	10,9	10,8
8	10,6	9,2	7,3
9	9,3	11,3	12,6
10	10,9	9,3	10,2

Exposição dos animais em laboratório ao cádmio

De acordo com a Legislação Brasileira as concentrações de Cd não devem ultrapassar 0,005 mg/L em águas salobras. No entanto, no litoral sul do estado de São Paulo, já foram detectadas concentrações de até 2,5 mg/L em Cubatão (Ortega et al, 2022). Em outras localidades, como o golfo do México, já foram constatadas concentrações de até 0,26 mg/L (Arcega et al. 2021). Segundo dados obtidos por Wu e Chen (2004), a LC 50 de Cd em *P. vannamei* em 24h, 48h, 72h e 96h, valores de 2,58, 1,30, 1,14 e 1,07 mg Cd L⁻¹ respectivamente. Os camarões deste trabalho foram expostos a duas concentrações subletais do metal Cd, 0,1 e 0,5 mg/L (Dinâmica). O grupo controle permaneceu em água sem adição do metal. O Cd foi diluído em água salobra 20S preparada a partir da mistura de água doce filtrada com sal marinho (Hiker Ocean Prosea Salt). Os animais foram mantidos em aquários individuais contendo 5L de água sob aeração constante. A cada três dias, a água dos aquários

foi trocada a fim de evitar o aumento da concentração da amônia e manter o controle da concentração do metal. Os animais foram mantidos durante 30 dias sob tais condições experimentais para avaliação dos parâmetros fisiológicos. Durante esse período foram alimentados com ração comercial para camarão marinho (Guabi, 40% de proteína) com cerca de 7% da sua biomassa.

Avaliação da taxa de mortalidade

A sobrevivência dos animais foi verificada durante os 30 dias de experimento, três vezes ao dia 8:00, 13:00 e 18:00. Todos os animais que morreram foram retirados dos aquários. Visto que as datas das eventuais mudas foram anotadas, foi possível identificar se o animal morto estava na pós muda ou intermuda.

Taxa de ingestão

Foram oferecidos 7% da biomassa total de cada indivíduo como alimento uma vez ao dia durante 30 dias. O alimento foi oferecido no período da manhã e sifonado após 3 horas a fim de evitar lixiviação (Augusto & Masui, 2014; Augusto & Valenti, 2016). Aquários controles sem animais dentro também foram usados para quantificarmos possíveis perdas de ração na água para lixiviação (Soares et al., 2020). As amostras foram secas a 60°C (Estufa Nova Ética) durante um período de 48 horas, pesadas (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg) e guardadas em freezer. A taxa de ingestão foi determinada pela diferença entre o alimento oferecido e as sobras.

Taxa de egestão

As fezes foram quantificadas diariamente por meio da coleta do material com o uso de um sifão. As amostras de fezes foram secas a 60°C (Estufa Nova Ética) durante um período de 48 horas e pesadas em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg).

Crescimento

Os animais foram pesados no início e no último dia do experimento (30º dia), visando evitar o estresse decorrente da manipulação. No último dia do experimento, eles foram eutanasiados em gelo, secos em papel absorvente, colocados em uma estufa (Estufa Nova Ética) a 60° durante 48 horas e pesados em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2,

precisão de 1 µg) (da Costa et al., 2024).

Consumo de oxigênio e excreção nitrogenada

O consumo de oxigênio foi avaliado em uma câmara respirométrica fechada equipada com oxímetro e monitor YSI modelo 53 e 5905, respectivamente. Os animais ficaram aclimatados por 30 minutos, com aeração constante, salinidade e temperatura da água iguais às do tratamento em que estavam. Após esse período, a aeração foi retirada e realizada a medição inicial da concentração de oxigênio dentro das câmaras. Após 60 minutos, foi feita uma nova medição. Câmaras controle sem animais dentro foram mantidas nas mesmas condições experimentais. A determinação do consumo de oxigênio foi feita pela diferença entre a concentração de oxigênio dentro das câmaras no início e no final do experimento de acordo com a seguinte fórmula:

$$TR = \{[(Co - Cf) \cdot V/\Delta T] - f\}/MS$$

Onde,

TR: taxa respirométrica (µg O₂/mg MS/h)

Co: concentração inicial de oxigênio na câmara (ml O₂/l)

Cf: concentração final de oxigênio na câmara (ml O₂/l)

V: volume da câmara respirométrica (L)

ΔT: duração do experimento (h)

f: alteração na concentração de oxigênio nas câmaras controles

MS: massa seca do animal (mg)

A excreção foi avaliada pela quantificação de amônia total que é o principal produto do catabolismo protéico dos crustáceos. A excreção foi medida a partir de amostras de água obtidas das câmaras respirométricas no final de cada experimento do consumo de oxigênio (Augusto e Masui, 2014; Augusto e Valenti, 2016). As variações na concentração de amônia total foram calculadas pela diferença entre os valores obtidos nas amostras e na câmara controle (sem animal). A concentração de amônia foi determinada por colorimetria (Koroleff, 1983).

O consumo de oxigênio e a excreção de amônia total foram expressos com taxas individuais (mg ind⁻¹ dia⁻¹) e massa seca específica (µg. mg MS⁻¹).

Avaliação do substrato energético oxidado

O tipo de Substrato Energético Oxidado foi calculado por meio da relação atômica O/N que consiste na relação entre os átomos de oxigênio consumidos, divididos pelos átomos de nitrogênio excretados (Mayzaud e Conover, 1988). De acordo com Mayzaud e Conover (1988), valores entre 3 e 16 indicam um catabolismo de proteínas puras, entre 50 e 60, um catabolismo de lipídios e proteínas e acima de 60, uma predominância no catabolismo de lipídios.

Avaliação do índice hepatossomático

O hepatopâncreas de cada animal foi dissecado após os animais serem eutanasiados, mantidos em estufa (Nova Ética) a 60°C durante 48 horas e pesado. O restante do corpo de cada animal também foi seco e pesado (Ramaglia et al., 2018). O índice hepatossomático foi calculado de acordo com a fórmula a seguir:

$$\text{Índice Hepatossomático} = (\text{Peso seco do órgão/peso seco do animal}) \times 100.$$

Avaliação da osmolalidade da hemolinfa

Foram retiradas cerca de 30 µl de hemolinfa da região cardíaca de *P. vannamei*, utilizando-se seringa de insulina e agulha #25-8 (Augusto et al, 2009; Ramaglia et al, 2018). A osmolalidade da hemolinfa foi medida em amostras de 10 µl em um micro-osmômetro de pressão a vapor (Wescor, Modelo 5500) e os resultados foram apresentados em mOsm/Kg água.

Quantificação de cádmio na água, corpo e exúvia dos animais

As amostras de água, corpo e exúvia de *P. vannamei* foram transportadas em caixas térmicas contendo gelo para o Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu e a quantificação do Cd foi realizada em colaboração com o Prof. Dr. Pedro Padilha. As análises foram realizadas por um espectrômetro de absorção atômica Shimadzu, modelo AA-68 que determinou os metais presentes nas amostras. Ele foi equipado com um corretor de absorção de fundo com uma lâmpada de deutério e com um sistema de reversão automática (SR), um tubo de grafite pirolítico com uma plataforma integrada e um visor automático ASC- 6100.

Análise estatística

O efeito do Cd nos aspectos fisiológicos de *P. vannamei* e a quantificação de metal na água, corpo e exúvias foi avaliado por ANOVA de 1 Fator (concentração de metal) seguido pelo teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK) para localizar as médias estatisticamente diferentes. As análises foram realizadas utilizando o programa Sigma Stat 3.5 e utilizando como base um nível de significância mínimo de $P < 0,05$. As figuras foram apresentadas através dos dados inseridos no programa Graphpad.

3. RESULTADOS

Mortalidade

Durante os 30 dias de experimento não houve mortalidade nos animais controles. No entanto, houve 30% de mortalidade nos animais expostos ao Cd (0,1 mg/L e 0,5 mg/L). Nos animais expostos a 0,1 mg/L de Cd as mortalidades ocorreram no mesmo dia da muda, mas nos animais expostos a 0,5 mg/L as mortalidades ocorreram entre 10 e 13 dias após a muda.

Crescimento, taxa de ingestão e egestão, metabolismo e excreção nitrogenada

Os animais não cresceram e não apresentaram diferença estatística nas taxas de ingestão e egestão durante o período do experimento. A relação fezes/ingestão (F/C) também não apresentou diferença estatística entre os tratamentos e apresentou valores entre 30 e 35% (Tabela 2).

O consumo de oxigênio individual dos animais controles foi $63,21 \pm 4,83 \text{ mg O}_2 \text{ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ mas nos animais exposto a 0,1 mg/L de Cd apresentaram uma redução de cerca de 12%, (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas quanto ao consumo de oxigênio expresso em massa seca específica (Figura 1). A excreção de amônia individual nos animais controles foi $0,62 \pm 0,04 \text{ mg NH}_3 \text{ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ mas nos animais expostos a 0,5mg/L de Cd houve uma redução de 56% (Tabela 2). A excreção de amônia em massa seca específica nos animais controle foi de $0,014 \mu\text{g. mg MS}^{-1}$ mas nos animais expostos a 0,5mg/L de Cd houve uma redução de 50% (Figura 2).

Tabela 2. Crescimento (P), Taxas diárias de ingestão (C), defecação (F), relação fezes/ingestão (F/C), metabolismo (R) e excreção (U) de *P. vannamei* mantido em água controle (0mg/L) ou exposto ao Cd (0,1 mg/L e 0,5 mg/L) durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média $\pm$ Erro Padrão da Média. N = 10. Letras diferentes indicam diferença estatística.

	0mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
P (g)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
C/MU _i (%)	1,85 $\pm$ 0,10	1,59 $\pm$ 0,10	1,83 $\pm$ 0,10
C (g MU dia ⁻¹)	0,18 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,02
F (mg MS dia ⁻¹)	67,45 $\pm$ 3,0	63,71 $\pm$ 2,74	65,27 $\pm$ 4,05
F/C (%)	30,11 $\pm$ 1,54	35,46 $\pm$ 1,65	31,39 $\pm$ 1,72
R (mg O ₂ ind ⁻¹ dia ⁻¹)	63, 21 $\pm$ 4,83 ^A	55,49 $\pm$ 6,40 ^B	69,33 $\pm$ 5,53 ^A
U (mg NH ₃ ind ⁻¹ dia ⁻¹)	0,62 $\pm$ 0,04 ^A	0,63 $\pm$ 0,06 ^A	0,27 $\pm$ 0,03 ^B

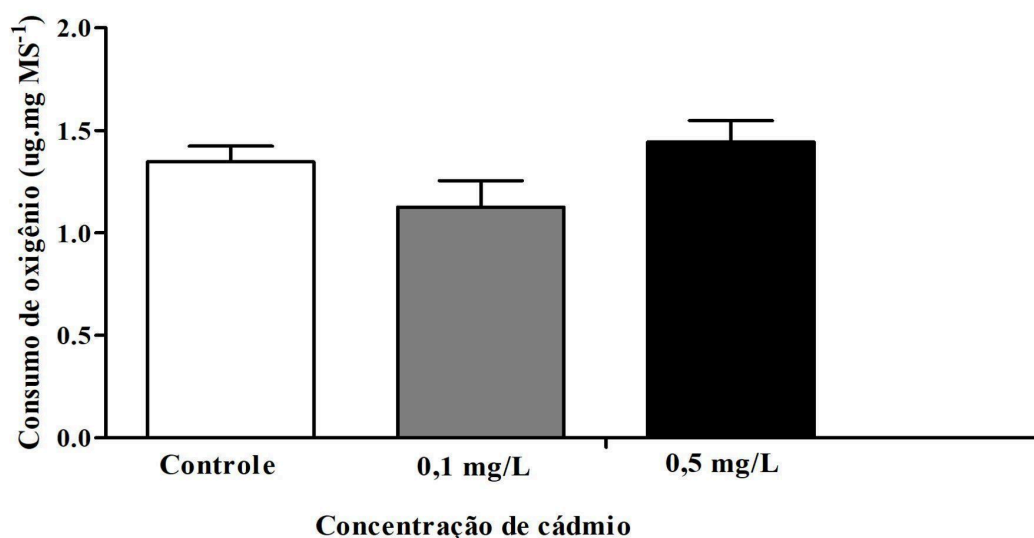


Figura 1. Taxa de consumo de oxigênio em massa seca (µg. mg MS⁻¹) do camarão *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de Cd (controle, 0,1mg/L e 0,5mg/L).

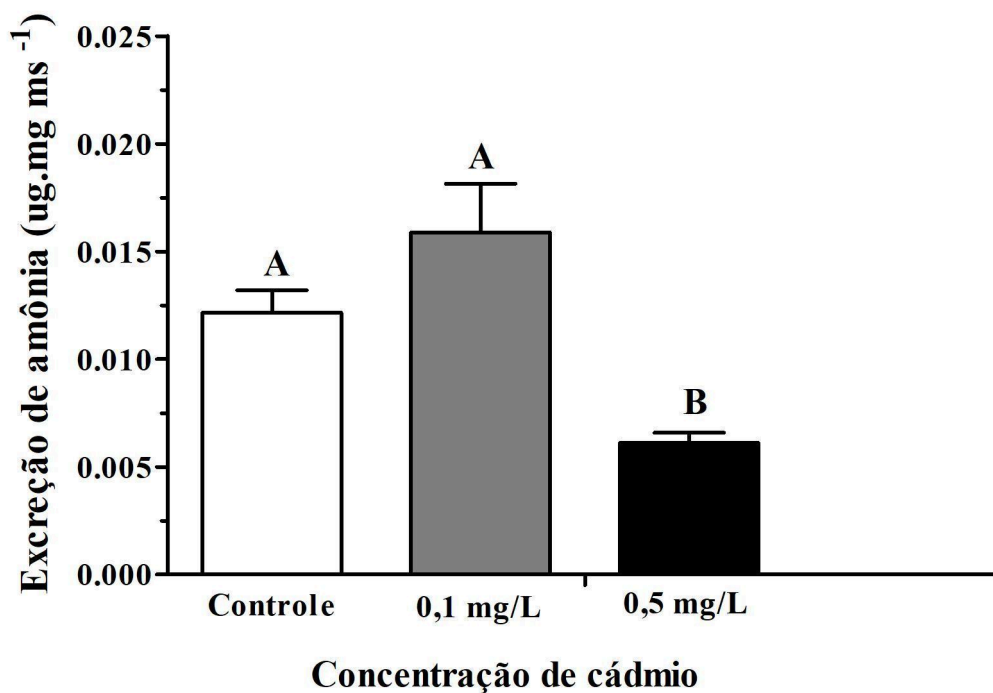


Figura 2. Excreção de amônia em massa seca ($\mu\text{g} \cdot \text{mg MS}^{-1}$) do camarão *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de Cd (controle, 0,1mg/L e 0,5mg/L). Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tipo de substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa

Os cálculos de relação atômica O:N sugerem que os animais controles e os expostos a 0,1mg/L oxidaram proteínas e lipídios, enquanto os expostos a 0,5mg/L passaram a oxidar apenas lipídios. O índice hepatossomático e a osmolalidade das hemolinfas não foram alterados em função da exposição ao Cd e os animais de todos os tratamentos se mantiveram hiperregulando (Tabela 3).

Tabela 3. Razão atômica (O:N), índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa (mOsm/Kg água) de *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de Cd durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média $\pm$ Erro Padrão.

	Concentração de Cádmio		
	0 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
O:N	40,57 $\pm$ 2,64 ^a	46,15 $\pm$ 3,98 ^a	102,21 $\pm$ 10,54 ^b
	LP	LP	L
Índice Hepatossomático	4,51 $\pm$ 0,25 ^a	4,50 $\pm$ 0,28 ^a	4,66 $\pm$ 0,17 ^a
Osmolalidade	663,71 $\pm$ 4,78 ^a	649,40 $\pm$ 6,37 ^a	660,33 $\pm$ 4,56 ^a

Letras diferentes indicam diferença estatística. L: lipídios e P: proteínas. Osmolalidade da água: 620 mOsm/kg.

Quantificação de cádmio na água, corpo e exúvia

As concentrações de Cd presentes na água dos aquários é mostrada na Tabela 4. Nos animais expostos a 0,1 mg/L de Cd foi quantificado 0,167 $\pm$ 0,012 mg/L no corpo e 0,151 $\pm$ 0,036 mg/L na exúvia. No entanto, nos animais expostos a 0,5 mg/L, as amostras de corpo (0,256 $\pm$ 0,056 mg/L) e exúvia (0,252 $\pm$ 0,027 mg/L) apresentaram metade da concentração do Cd presente na água.

Tabela 4. Concentração de Cd na água, corpo e exúvia de *P. vannamei*. Média $\pm$ Erro Padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística. ND: não detectado. 0,1 mg/l: 0,087 $\pm$ 0,001. 0,5 mg/l: 0,427 $\pm$ 0,005. Limite de quantificação do método: 0,044 μ g/L.

	0 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
Água	ND	0,087 $\pm$ 0,001 ^A	0,427 $\pm$ 0,005 ^B
Corpo	ND	0,167 $\pm$ 0,012 ^A	0,256 $\pm$ 0,056 ^B
Exúvia	ND	0,151 $\pm$ 0,036 ^A	0,252 $\pm$ 0,027 ^B

4. DISCUSSÃO

Mortalidade e relação com o ciclo de muda

Aqui nós observamos que em *P. vannamei* há um aumento na taxa de mortalidade quando expostos ao metal Cd em períodos de pré muda, pois os animais expostos a 0,5 mg/L apresentaram mortalidade entre 10 e 13 dias após a última muda e os animais expostos a 0,1 mg/L apresentaram suas mortalidade no dia da muda, após a eliminação do exoesqueleto. Isso pode estar relacionado com o fato dos crustáceos estarem mais permeáveis e suscetíveis a absorver mais metal durante esses períodos. A exposição ao Cd parece aumentar a probabilidade de morte em algumas etapas do ciclo de muda dos crustáceos (Arce-Funk et al, 2018). Durante a pré muda, em muitos crustáceos parte do cálcio é removido da cutícula durante esse período e armazenado dentro do corpo para ser redepositado posteriormente (Brusca et al., 2018). O exoesqueleto dos camarões possui em sua composição quitina e proteína que formam uma matriz mineralizada por sais carbonáticos que em grande parte consistem em carbonato de cálcio e carbonato de magnésio que se encontram ao redor da matriz orgânica (Butler e Zou, 2021). A taxa que relaciona o carbonato de cálcio na forma de carbono inorgânico particulado em quantidade elevada e o carbono orgânico particulado, que são as quitinas e proteínas são responsáveis pela dureza e redução da flexibilidade do exoesqueleto que representa papel importante para a sobrevivência e proteção dos crustáceos (Tong et al., 2024). Portanto, as mortalidades observadas em *P. vannamei* podem estar relacionadas diretamente com o período de muda. A permeabilidade do corpo do animal em períodos de pré muda aumenta, pois o exoesqueleto está mais maleável antes que o animal se utilize do cálcio armazenado no corpo para remineralizá-lo. Nesse período o animal se utiliza de água do entorno para inflar o novo exoesqueleto, estando o corpo suscetível a absorver Cd dessa água utilizada.

Metabolismo e excreção nitrogenada

O metabolismo é considerado a soma das reações químicas que ocorrem em um organismo e pode ser determinado pelo consumo de oxigênio. A razão pela qual o consumo de oxigênio pode ser usado como uma medida prática da taxa metabólica se deve ao fato de que a quantidade de calor produzido para cada litro de oxigênio usado no metabolismo permanece quase constante, independente do substrato oxidado (Schmidt-Nielsen, 2013). Em animais expostos a condições estressantes o metabolismo pode aumentar devido a maior

demanda energética (Camacho-Jiménez et al., 2023; Waqas et al., 2024) ou diminuir devido a danos branquiais, inatividade, dentre outras situações (Xu et al., 2021; Liang et al., 2024). Aqui nós observamos alterações no metabolismo em massa úmida individual de *P. vannamei* exposto ao Cd. Em experimentos realizados com o lagostim *Cambaroides dauricus* exposto a Cu (Bao et al., 2020), o camarão *Exopalaemon carinicauda* exposto a Cd e Cu (Zhang et al., 2014), o camarão *Palaemon macrondactylus* exposto a Cd (Zhang et al., 2021), o camarão *Penaeus vannamei* exposto a Cd (da Costa et al., 2024) e o carangueijo *Sinopotamon henanense* exposto a Cd (Xuan et al., 2013) e *Xiphopenaeus kroyeri* exposto a Cd e Zn (Barbieri et al., 2013) também foram observadas reduções no metabolismo. As alterações no consumo de oxigênio podem ocorrer em animais expostos ao Cd porque o metal pode se associar à hemocianina, diminuindo a capacidade respiratória da espécie (Xuan et al., 2013).

Os crustáceos são amoniotélicos, ou seja, eliminam principalmente amônia por meio das brânquias. A excreção de amônia também pode ser alterada em situações que impõem desafio à homeostase dos animais. A amônia é oriunda do catabolismo proteico e qualquer situação que o altere pode afetar a excreção nitrogenada. Aqui nós observamos uma redução expressiva da excreção de amônia em animais expostos a 0,5 mg/L de Cd (Figura 2 e Tabela 2). A exposição ao Cd pode alterar mecanismos fisiológicos relacionados ao transporte de compostos nitrogenados através das membranas das brânquias que se caracteriza como um órgão multifuncional que realiza uma gama de processos fisiológicos como transporte iônico, balanço ácido-básico e excreção de amônia. Além disso, é o primeiro órgão a entrar em contato com o ambiente e, portanto, o primeiro a ser atingido pelo poluente, o que pode gerar uma disfunção do controle da excreção de amônia pelo órgão (Bao et al., 2020; Henry et al. 2012). Dados semelhantes de redução da excreção de amônia após a exposição a metais foram encontrados em experimentos realizados com o lagostim *Cambaroides dauricus* exposto a Cu (Bao et al., 2020) e o peixe *Hyphessobrycon Callistus* exposto a Cd (Damato e Barbieri, 2012).

Substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa

Os animais necessitam de energia química obtida principalmente por meio da oxidação dos alimentos para realizar suas funções por meio do metabolismo energético que ocorre nas mitocôndrias (Schmidt-Nielsen, 2013). Os animais do grupo controle e os expostos a 0,1 mg/L de Cd oxidaram proteínas e lipídios, enquanto os animais do grupo

exposto a 0,5 mg/L de Cd oxidaram apenas lipídios. Tal troca indica que os animais optaram por oxidar um substrato que fornece mais energia que proteínas. Enquanto as proteínas fornecem 4,3 kcal g⁻¹ de energia, os lipídios podem fornecer até 9,4 kcal g⁻¹ (Schmidt-Nielsen, 2013). Tal acréscimo pode ser usado para fornecer energia para os mecanismos regulatórios da homeostase. Tais trocas de substrato energético também já foram observadas em outros crustáceos expostos a ambientes estressantes como *Leptuca thayeri* exposto a pH reduzido 6.3 combinado com uma temperatura de 30°C alterou a oxidação de apenas lipídios para para uma mistura de proteínas e lipídios (de Andrade et al., 2022) e *Penaeus vannamei* exposto a pH de 7.3 e salinidade 30 foram de apenas proteínas para uma mistura de proteínas e lipídios (Ramaglia et al., 2024).

O índice hepatossomático de *P. vannamei* não foi afetado pela exposição ao Cd em nenhuma das concentrações, sugerindo que as reservas energéticas estocadas no hepatopâncreas não foram usadas para lidar com o desafio da exposição ao Cd. O hepatopâncreas é responsável por processos metabólicos importantes relacionados ao estoque de energia, síntese de enzimas digestivas, ciclo de muda, excreção de metabólitos e detoxificação de metais nos crustáceos, portanto, o índice hepatossomático é uma medida de estresse hepático, sendo usado como parâmetro para presença de contaminantes (Hauser-Davis et al., 2021; Paschoal et al., 2019). Condições estressantes podem gerar uma alteração do índice hepatossomático, como a encontrada por de Andrade et al. (2022) que observou uma redução em animais expostos a salinidade de 30 e 50 em pH reduzido (6.3).

A osmorregulação é um dos mecanismos fisiológicos mais importantes nos animais porque possibilita a ocupação de diferentes gradientes salinos pelas espécies. A osmorregulação pode envolver mecanismo fisiológicos ativos e ser prejudicada diante de estressores ambientais. Aqui nós observamos que o Cd não afetou a capacidade osmorregulatória de *P. vannamei*, o qual manteve-se hiper-regulando a osmolalidade da hemolinfa. Costa et al, (2024), também observou que juvenis de *P. vannamei* não são afetados pelo Cd (concentração de 0,1 mg/L). Outros metais como cobre podem afetar a capacidade osmorregulatória de espécies como *Minuca Rapax* e *Macrobrachium Rosenbergii*. Os autores atribuem tal alteração devido a uma capacidade regulatória de íons prejudicada pela exposição ao metal e danos estruturais nas brânquias (Asih et al., 2013, Capparelli et al., 2020).

Concentração do cádmio no corpo e exúvia

Metais presentes no corpo e na exúvia são provenientes da bioacumulação pois ao adentrar o corpo de um organismo são armazenados e dificilmente metabolizados ou excretados. Eles entram no corpo dos animais através das superfícies permeáveis e também pela alimentação. (Sonone et al., 2021; Wang et al., 2023). Dados da literatura indicam ainda que o Cd pode competir pelos transportadores de cálcio na membrana celular (Figura 3) (Butler e Zou, 2021; Ramos e Leite, 2022). A taxa de acumulação depende das vias de remoção dos metais no corpo, além do fato de que, se não são metabolizados e eliminados, as concentrações tendem a aumentar ao longo da cadeia trófica, o que gera biomagnificação (Acharya et al., 2023; Saidon et al., 2024). Como é possível observar na Tabela 5, a concentração de Cd no corpo e exúvia de *P. vannamei* são semelhantes. Assim, é possível que a troca de exoesqueleto durante o processo de muda sirva também para os animais eliminarem o excesso de metal presente no corpo. Butler e Zou (2021) mostraram que *Callinectes sapidus* usa o processo de muda para eliminar o excesso do metal Cd presente no corpo. De acordo com os autores, o Cd se incorpora ao exoesqueleto durante a fase de pós muda no momento em que o crustáceo está remineralizando seu novo exoesqueleto através de transportadores de cálcio da epiderme.

Nós também observamos que em animais expostos a altas concentração de Cd (0,5 mg/L), a concentração deste metal no corpo e exúvia de *P. vannamei* correspondem a apenas 50% deste valor. Há várias explicações para tal resposta as quais incluem um limite de armazenamento do Cd no corpo dos animais e saturação dos transportadores de membrana Yang et al., (2024), sugere que a metalotioneína gera detoxificação de metais por meio do seu potencial de quelação com os íons metálicos e a sua ação pode reduzir o acúmulo de Cd nos animais expostos a maior concentração. Outros autores já mostraram que a síntese de metalotioneína em crustáceos é induzida pela exposição ao Cd (Bjerregaard et al., 2021; Li et al. 2021). Outra hipótese para os animais desse tratamento acumularem cerca de 50% do valor da exposição (0,5 mg/L) é de que os crustáceos regulam a taxa de absorção de metal como um mecanismo de evitar o acúmulo de metais no corpo. Para isso eles reduzem a taxa de absorção e aumentam sua taxa de excreção, minimizando os efeitos do metal no corpo desses animais (Xu et al., 2021).

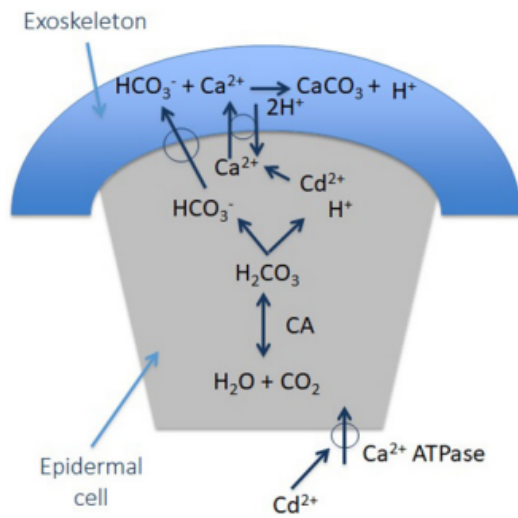


Figura 3. Imagem retirada de Butler e Zou (2021) que exemplifica como o Cd passa da hemolinfa para a exúvia através dos transportadores de cálcio nas membranas das células epiteliais.

5. CONCLUSÃO

A exposição de *P. vannamei* a concentrações de Cd encontradas na natureza gera mortalidade associada a fases do seu ciclo de muda, principalmente à pré e pós-muda, ocasiões em que o organismo se encontra vulnerável e permeável ao meio externo. As alterações no metabolismo, excreção de amônia e substrato energético estão relacionadas à energética de *P. vannamei* e a longo prazo podem afetar o crescimento, reprodução e imunidade. Além disso, a exposição ao Cd gera bioacumulação no corpo do animal e na exúvia, sugerindo que a troca de exoesqueleto pode ser uma via de eliminação do metal. Por ser um dos crustáceos mais cultivados do mundo a exposição e acumulação de metais no corpo desses organismos são fatores que devem ser levados em consideração, pois podem colocar a biodiversidade e aquicultura em risco, além de expor a saúde humana aos riscos da toxicidade deste metal através da sua ingestão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acharya, P., Muduli, P. R., Das, M. (2023). Assessment of heavy metal accumulation in *Penaeus monodon* and its human health implications. *Marine Pollution Bulletin*, 114632.
- Albalat, A.; Zacarias, S.; Coates, C. J.; Neil, D. M.; Planellas, S. R. (2022). Welfare in Farmed Decapod Crustaceans, With Particular Reference to *Penaeus vannamei*. *Marine Fisheries, Aquaculture and Living Resources*, 9.
- Arce-Funk, J., Crenier, C., Danger, M., Billoir, E., Usseglio-Polatera, P., Felten, V. (2018). High stoichiometric food quality increases moulting organism vulnerability to pollutant impacts: An experimental test with *Gammarus fossarum* (Crustacea: Amphipoda). *Science of the Total Environment*, 645, 1484-1495.
- Arisekar, U., Shakila, R. J., Shalini, R., Jeyesekaran G., Padmavathy, P., Hari, M. S., Sudhan, C. (2022). Accumulation potential of heavy metals at different growth stages of Pacific white leg shrimp, *Penaeus vannamei* farmed along the Southeast coast of Peninsular India: A report on ecotoxicology and human health risk assessment. *Environmental Research*, 212, 113105.
- Asih, A. Y. P., Irawan, B., Soegianto, A., (2013). Effect of copper on survival, osmoregulation, and gill structures of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) at different development stages. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 46, 2.
- Augusto, A., Pinheiro, A., Greene, L. J.; Laure, H. J., e McNamara, J. C. (2009). Evolutionary transition to freshwater by ancestral marine palaemonidae: evidence from osmoregulation in a tide pool shrimp. *Aquatic Biology*, v. 7, p. 113-123.
- Augusto, A., Masui, D. C. (2014). Sex and reproductive stage differences in the growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, v. 47, p. 373–388.
- Augusto, A., Valenti, W. C. (2016). Are there any physiological differences between the male morphotypes of the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Caridea: Palaemonidae)? *Journal of Crustacean Biology*, v. 36, p. 716–723.
- Azar, H., Vajargah, M. F. (2023). Investigating the effects of accumulation of lead and cadmium metals in fish and its impacts on human health. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 12, 2.
- Bao, J., Xing, Y., Feng, C., Kuo, S., Jiang, H., Li, X. (2020). Acute and sub-chronic effects of copper on survival, respiratory metabolism in *Cambaroides dauricus*. *Scientific Reports*, 10, 16700.
- Barajas-Sandoval, D. R., Escobedo-Fregoso, C., Quiroz, Guzmán, E., Tovar-Ramírez, D., Py, C. A., Peña-Rodríguez, A. (2024). Effect of temporal thermal stress on *Penaeus vannamei*: Growth performance and physiological plasticity. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 295, 111653.

- Barbieri, E., Branco, J. O., Santos, M. do C. F., Hidalgo, K. R. (2013). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption and ammonia excretion of the sea-bob shrimp, according to the temperature. *Boletim do Instituto de Pesca*, 30, 3.
- Bjerregaard, P., Jensen, L. B. E., Pedersen, K. L. (2021). Effect of size on concentrations and cadmium inducibility metallothionein in the shore crab *Carcinus maenas*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 249, 109146.
- Bjørndal, T., Dey, M., & Tusvik, A. (2024). Economic analysis of the contributions of aquaculture to future food security. *Aquaculture*, 578, 740071.
- Blonç, M., Husson, F., Llorca, M., Farré, M., Tort, L., Brandts, I., Teles, M. (2023). Occurrence of micro-nanoplastics in a commercial recirculated aquaculture system and their translocation to culture fish organs: A baseline study. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 12, 100381.
- Brusca, R. C, Moore, W., & Shuster, S. M. (2018). Invertebrados. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA.
- Buchmann, K. (2022). Control of parasitic diseases in aquaculture. *Parasitology*, 149, 1985-1997.
- Butler, B., Zou, E., (2021). Cadmium is deposited to the exoskeleton during post-ecdysial mineralization in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Science of the Total Environment*, 798, 149358.
- Camacho-Jiménez, L., González-Ruiz, R., Yepiz-Plascencia, G. (2023). Persistent organic pollutants (POPs) in marine crustaceans: Bioaccumulation, physiological and cellular responses. *Marine Environmental Research*, 192, 106184.
- Caparelli, M. V., Mc Namara, J. C., Grosell, M. G. (2020). Tissue Accumulation and the Effects of Long-Term Dietary Copper Contamination on Osmoregulation in the Mudflat Fiddler Crab *Minuca rapax* (Crustacea, Ocypodidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 755-762.
- Chan, H. L., Cai, J., & Leung, P. (2024). Aquaculture production and diversification: What causes what?. *Aquaculture*, 583, 740626.
- da Costa, J. R., Capparelli, M. V., Padilha, P. M., Borges, E., Ramaglia, A. C., dos Santos, M. R., Augusto, A. (2024). Chronic Cadmium Exposure can Alter Energy Allocation to Physiological Functions in the Shrimp *Penaeus vannamei*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 87, 58-68.
- Damato, M. e Barbieri, E. (2012). Estudo da toxicidade aguda e alterações metabólicas provocadas pela exposição do cádmio sobre o peixe *Hyphessobrycon callistus*. *O mundo da saúde*, 36, 574-581.
- de Andrade, I. M., de, Ferreira, J. R. do C., Ramaglia, A. C., Augusto, A. (2022). Interactions

between reduced pH and multiple stressors affects the physiology of the fiddler crab *Leptuca thayeri* (Rathbun 1900) (Decapoda: Brachyura: Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology*, 42, 1-9.

Emenike, E. C., Iwuozor, K. O., Anidiobi, S. U. (2022). Heavy Metal Pollution in Aquaculture: Sources, Impacts and Mitigation Techniques. *Biological Trace Element Research*, 200, 4476-4492.

FAO. (2023). *Penaeus vannamei*: Cultured Aquatic Species Information Programme. Fisheries and Aquaculture Division. Rome.

FAO. (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 - Blue transformation in action. Rome.

Fransozo, A., & Negreiros-Fransozo, M. L. (2016). Zoologia dos invertebrados. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora Roca.

Genchi, G., Sinicropi, M F., Lauria, G., Carocci, A., Catalano, A. (2020). The effects of cadmium Toxicity. *Environmental Research and Public Health*.

Hauser-davis, R. A., Bordon, I. C., Kannan, K., Moreira, I., Quinete, N. (2021). Perfluoroalkyl substances associations with morphometric health indicators in three fish species from differentially contaminated water bodies in Southeastern Brazil. *Environmental Technology & Innovation*, 21, 101198.

Henry, R. P., Lucu, C., Onken, H., Weihrauch, D. (2012). Multiple function of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Frontiers in physiology*, v. 3.

Iheanacho, S., Ogbu, M., Bhuyan, M. S., Ogunji, J. (2023). Microplastic pollution: An emerging contaminant in aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, 8, 603-616.

Kiswandono, A. A., Juliasuh, N. L. G. R., Hidayat, D., Devariani, W., Sindiani, A. V., Awaliaya, A. B., Yulfira, J. N., Solehati, S., Putri, S. A., Safitri, N. U., Ma'ruf, D. I., Putra, Z. A., Darmastuti, N., Nuryati, S., Purwadi, C. A. B., Rahmawati, A., Ningsih, Rinawati. (2024). Determination of the heavy metal content lead (Pb), cadmium (Cd), and manganese (Mn) in vannamei shrimp from ponds and waters in coastal Labuhan Maringgá Regency East Lampung. *AIP Conference Proceedings*, 2970, 060042.

Koroleff, F., (1976). Determination of nutrients. Methods of seawater analysis. Verlag Chemie Weinheim, 1.-3.

Li, L., Shen, Y., Liang, J., Liu, H., Chen, T., Guo, H. (2021). Accumulation and Depuration of Cd and its effect on the Expressions of Metallothionein and Apoptotic Genes in *Litopenaeus vannamei*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106, 501-506.

Liang, Z., Xu, Q., Chen, X., Xiao, J., Gao, Q., Cao, H., Liao, M., (2024). Ecological Toxicity of Cyantraniliprole against *Procambarus clarkii*: Histopathology, Oxidative Stress, and

Intestinal Microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 3363-3373.

Lifat Rahi, M. D., Moshtaghi, A., Mather, P. B., Hurwood, D. A. (2018) Osmoregulation in decapod crustacean: physiological and genomic perspectives. *Hydrobiologia*, 825, 177-188.

Mayzaud P, Conover R (1988) O/N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar Ecol Prog Ser* 45:289–302.

Moiseenko, T. I., Gashina, N. A. (2020). Distribution and bioaccumulation of heavy metals (Hg, Cd and Pb) in fish: influence of the aquatic environment and climate. *Environmental Research Letters*, 15, 115013.

Mykles. D. L., (2021). Signaling Pathways That Regulate the Crustacean Molting Gland. *Frontiers in Endocrinology*, 12.

Paschoal, L. R. P., De Oliveira, L. J. F., Andrioli, G. C., Zara, F. J. (2019). Dry or wet? What is the best choice to determine gonadosomatic and hepatosomatic indexes in females of *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture Research*, 50, 3589-3596.

Ramaglia, A. C., de Castro, L. M., Augusto, A. (2018). Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. *Journal of Comparative Physiology B*, 188, 729-738.

Ramaglia, A. C., Trotta, C. do V., da Costa, J. R., Borges, E. P., Louzã, A. C., dos Santos, M. R., Augusto, A. (2024). Energy budget as a tool to assess the effects of environmental stressors: a study on whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) exposed to variations in salinity and ocean acidification. *Marine and Freshwater Behavior and Physiology*, 57, 4-6.

Ramos, R. J.; e Leite, G. R. (2022). Ecdysis as an auxiliary route for the removal of heavy metals in crustaceans: an experimental analysis with fiddler crabs (*Minuca burgersi*). *BioMetals*, 1-10.

Saidon, N. B., Szabó, R., Budai, P., Lehel, J. (2024). Trophic transfer and biomagnification potential of environmental contaminants (heavy metals) in aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, 122815.

Schmidt-Nielsen, K. (2013). *Fisiologia Animal - Adaptação e Meio Ambiente*. 5ª edição. Rio de Janeiro: Livraria Santos Editora LTDA.

Shen, H-T., Pan, X-D., Han, J-L. (2024). Distribution and Probabilistics Risk Assessment of Antibiotics, Illegal Drugs, and Toxic Elements in Gastropods from Southeast China. *Foods*, 13, 1166.

Sonone, S. S., Jadhav, S., Sankhla M. S., Kumar, R. (2021). Water Contamination by Heavy Metals and their Toxic Effect on Aquaculture and Human Health through Food Chain. *Letters in Applied NanoBioScience*, 10, 2148-2166.

Tong, D., Yu, Y., Lu, L., Zhou, W., Yu, Y., Zhang, X., Tian, D., Liu, G., Shi, W. (2024).

Microplastics weaken the exoskeletal mechanical properties of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Hazardous Materials*, 468, 133771.

Yadav, N. K., Patel, A. B., Singh, S. K., Mehta, N. K., Anand, V., Lal, J., Dekari, D., Devi, N. C. (2024). Climate change effects on aquaculture production and its sustainable management through climate-resilient adaptation strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 31731-31751.

Yang, R., Roshani, D., Gao, B., Li, P., Shang, N. (2024). Metallothionein: A Comprehensive Review of Its Classification, Structure, Biological Functions, and Applications. *Antioxidants*, 13, 825.

Ye, Y., Li, S., Zhu, B., Yang, Y., Du, X., Li, Y., Zhao, Y. (2024). Effects of dietary melatonin on growth performance, nutrient composition and lipid metabolism of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 578, 740095.

Yu, B., Wang, X., Dong, K. F., Xiao, G., Ma, D. (2020). Heavy metal concentrations in aquatic organisms (fishes, shrimps and crabs) and health risk assessment in China. *Marine Pollution Bulletin*, 159, 111505.

Xu, Z., Liu, J., Wang, E., Zhao, C., Hu, X., Chu, K. H., Wang, L. (2021). Detoxification and recovery after cadmium exposure in the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 58050-58067.

Xuan, R.; Wu, H.; Lin, C.; Ma, D.; Li Y.; Xu, T.; Wang, L. (2013). Oxygen consumption and metabolic responses of freshwater crab *Sinopotamon henanense* to acute and subchronic cadmium exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 89, p. 29-35.

Xu, Z., Cao, J., Qin, X., Qiu, W., Mei, J., Xie, J. (2021). Toxic Effects on Bioaccumulation, Hematological Parameters, Oxidative Stress, Immune Responses and Tissue Structure in Fish Exposed to Ammonia Nitrogen: A review. *Animals*, 11, 11, 3304.

Wang, Q., Tian, Y., Wang, J., Li, J-Y., He, W., Craig, N. J. (2023). Assessing pathways of heavy metal accumulation in aquaculture shrimp and their introductions into the pond environment based on a dynamic model and mass balance principle. *Science of the Total Environment*, 881, 163164.

Waqas, Q., Yuan, Y., Ali, S., Zhang, M., Shafiq, M., Ali, W., Chen, Y., Xiang, Z., Chen, R., Ikhwanuddin, M., Ma, H. (2024). Toxic effects of heavy metals on crustaceans and associated health risks in humans: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 22, 1391-1411.

Zhang, C., Li, F., Xiang, J. (2014). Acute effects of cadmium and copper on survival, oxygen consumption, ammonia-N excretion and metal accumulation in juvenile *Exopalaemon carinicauda*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v 104, 209-214.

Zhang, C., Jin, Y., Yu, Y., Xiang, J., Li, F. (2021). Cadmium-induced oxidative stress, metabolic dysfunction and metal bioaccumulation in adult palaemonid shrimp *Palaemon macrodactylus* (Rathbun, 1902). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111591.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: BEATRIZ LEITE CALIXTO NASCIMENTO

Título: "O papel da troca do exoesqueleto do camarão marinho *Penaeus vannamei* na eliminação do excesso de metal presente no corpo"

Orientador: Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Gerenciamento Costeiro

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
MSC. Juliana Rodrigues da Costa	APROVADO
MSC. Maysa Ueda de Carvalho	APROVADO

PARECER:

A aluna está apta a receber o diploma.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Beatriz Leite Calixto Nascimento** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 06 de dezembro de 2024.

Juliana Rodrigues da Costa

MSC. Juliana Rodrigues da Costa
(Coorientadora)

Maysa Ueda de Carvalho

MSC. Maysa Ueda de Carvalho