

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP CAMPUS DE JABOTICABAL -
CAUNESP

**EFEITOS DOS METAIS NA FISILOGIA DE
CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS DE
INTERESSE ECONÔMICO**

Juliana Rodrigues da Costa

Jaboticabal, São Paulo

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP CAMPUS DE JABOTICABAL -
CAUNESP

**EFEITOS DOS METAIS NA FISILOGIA DE
CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS DE INTERESSE
ECONÔMICO**

Juliana Rodrigues da Costa

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Egydio Barreto

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação
em Aquicultura do Centro de
Aquicultura da UNESP para
obtenção do título de Mestre**

Jaboticabal, São Paulo

2022

C837e Costa, Juliana Rodrigues da
Efeitos dos metais na fisiologia de crustáceos e moluscos de interesse econômico / Juliana Rodrigues da Costa. -- Jaboticabal, 2022
xxvii, 77 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2022

Orientador: Rodrigo Egydio Barreto

Banca examinadora: Alessandra da Silva Augusto, Isabella Cristina da Costa Leal Bordon

Bibliografia

1. Fisiologia. 2. Crustáceos. 3. Moluscos. 4. Ecotoxicologia. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.4/.5

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeitos da exposição crônica ao Cádmiio no balanço energético do Camarão Branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) e Determinação de Metais Pesados em Ostras Cultivadas e Selvagens (*Crassostrea sp*)

AUTORA: JULIANA RODRIGUES DA COSTA

ORIENTADOR: RODRIGO EGYDIO BARRETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. RODRIGO EGYDIO BARRETO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociencias da UNESP Campus de Botucatu



Profa. Dra. ALESSANDRA DA SILVA AUGUSTO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas e Ambientais / Instituto de Biociencias - Campus do Litoral Paulista UNESP, Sao Vicente-SP



Profa. Dra. ISABELLA CRISTINA DA COSTA LEAL BORDON (Participação Virtual)
Associate Editor, Regional Studies of Marine Science, Elsevier, Stockholm, Suécia

Jaboticabal, 14 de dezembro de 2022

Sumário

Agradecimentos

Apoio Financeiro

Resumo

1. Introdução Geral

2. Referências Bibliográficas

Capítulo 1: Efeitos da exposição crônica a Cádmiio no balanço energético do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei*.

1. Introdução

2.. Materiais e Métodos

2.1 Coleta dos Animais e Acondicionamento às Condições Laboratoriais

2.2 Exposição dos Animais ao Cádmiio em laboratório

2.3.1 Avaliação do Substrato Energético Oxidado

2.3.2 Avaliação do Índice Hepatosomático

2.3.3 Avaliação da Osmolalidade da Hemolinfa

2.4 Quantificação dos Metais nas Águas Utilizadas em Experimento)

2.5 2.5 Análise Estatística

3. Resultados

4. Discussão

5. Referências bibliográficas

Capítulo 2: Comparação da Fisiologia de Ostras (*Crassostrea brasiliana*) Cultivadas e Selvagens do Litoral de São Paulo

Resumo

1. Introdução

2. Materiais e Métodos

2.1 Coleta dos Animais e Manutenção em Laboratório

2.2 Avaliação do Consumo de Oxigênio e Excreção de Amônia

2.3 Avaliação da Capacidade Osmorregulatória

2.4 Quantificação dos Metais em Ostras Selvagens e Cultivadas, Água e Sedimento

2.5 Análise Estatística

3. Resultados

4. Discussão

5. Conclusão

6. Referências bibliográficas

Agradecimentos

Ao professor Rodrigo Egydio, que me aceitou ser sua orientada pelo programa de pós em aquicultura;

A minha professora Alessandra Augusto, por todo apoio desde o início da vida acadêmica até hoje, pelos ensinamentos e direcionamentos durante todo esse trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro durante minha pesquisa;

Ao professor Dr. Pedro, pelas análises realizadas em seu laboratório;

Ao CAUNESP e ao Diretor Diogo Teruo Hashimoto.

Ao Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista, IB-CLP, que forneceu a infraestrutura necessária para a realização dos experimentos e análises, e ao laboratório de Aquicultura Sustentável e Fisiologia de Animais Aquáticos.

A minha família, Mãe, Pai, Tia Nanda, Tio Cris, Arthur e Lucca, por todo companheirismo, amor e acolhimento sempre que precisei.

As minhas amigas, Andressa, Manu, Hellen e Ana. Sem vocês nada disso seria possível. Pelas noites em claro em experimento, pelas conversas, pelo amparo, por tudo.

Ao meu amor e companheiro de vida, Ivan. Pela força e por acreditar sempre em mim.

À minha Avó, Aparecida, que eu sei que olha por mim mesmo de longe.

Apoio Financeiro

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Processo nº88887.639412/2021-00

Introdução Geral

O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos dos metais presentes na água na fisiologia de invertebrados de interesse econômico. Nesse sentido, utilizamos como modelos o camarão *Litopenaeus vannamei*, o camarão mais cultivado no mundo, e ostras *Crassostrea brasiliana*. Esses animais habitam principalmente regiões marinhas e costeiras e estão suscetíveis à ter contato direto com os impactos antrópicos.

Grande parte da poluição dos oceanos é causada por atividades antrópicas, como o lançamento de esgoto, agrotóxicos e descarte incorreto de resíduos sólidos e industriais (Gerlin et al., 2016). Nos ambientes aquáticos os poluentes podem atingir a água, o sedimento e o animais. Os compostos geralmente são modificados por processos químicos, físicos e biológicos, causando deposição, liberação e transporte dessas partículas, gerando poluentes para esse ambiente. Dentre os principais contaminantes, estão os metais, resíduos farmacêuticos, fertilizantes agrícolas, derivados do petróleo, plásticos e microplásticos (Gimiliani et al, 2020)

Os metais são poluentes comumente gerados por ações humanas. Eles são constituídos por elementos com pesos atômicos entre 63,5 e 200,6 e gravidade específica maior que 5,0 (Srivastava & Majumder, 2008). Alguns metais são essenciais para a vida da biota como por exemplo o Zinco (Zn), Cobre (Cu), Selênio (Se), Ferro (Fe) e Manganês (Mg) mas outros como Cádmiio (Cad), Mercúrio (Hg) e Chumbo (Ch) não têm funções biológicas (Turoczy et al, 2001; Kubrak et al., 2013). As fontes dos metais podem ser diversas como águas de

mineração, processamento de metais, produtos farmacêuticos, produtos químicos orgânicos e plásticos (Bailey, 1999). Ao contrário dos contaminantes orgânicos, os metais não são biodegradáveis sendo retidos em redes tróficas, principalmente nas aquáticas (Fu & Wang, 2001; Kubrak et al, 2013). A bioacumulação nos animais pode ocorrer por meio da respiração, ingestão de alimentos ou via dérmica (Cesar, 2003; Shi et al, 2018) e gerar problemas como estresse oxidativo, alterações no metabolismo (Adeogun, 2020; Defo, 2014), na diversidade genética (Banci, 2009), alterações hormonais, crescimento e nas atividades enzimáticas (Naimo, 1995). O nível tóxico dos metais é diretamente relacionado a sua concentração e seu tempo de exposição aos organismos. Temperatura, disponibilidade de oxigênio, salinidade, composição química também são fatores que influenciam à sua toxicidade (Merfa, 2010). Grandes concentrações de metais possuem efeito prejudicial aos organismos em um curto espaço de tempo, porém pequenas concentrações podem ocasionar efeitos letais e sub-letais durante longos períodos de exposição (Cesar, 2003).

Poluentes como os metais se acumulam em todos os seres vivos do ambiente em que estão presentes, porém, alguns organismos podem ser utilizados como modelos de bioindicadores. As características que definem um animal como bom bioindicador são informações biológicas bem definidas, alta sensibilidade à fatores estressantes, ampla distribuição ecológica e geográfica, facilidade de captura e capacidade preditiva (Tidon, 2006). De maneira geral, os animais mais utilizados para avaliação de impactos ambientais e estudos ecotoxicológicos em ambientes aquáticos são os invertebrados bentônicos, devido entre outros fatores ao seu ciclo de vida curto (Callisto et al, 2001), hábito sedentário que trazem informações representativas da área em que foram

coletados (Merfa, 2010), vivem e se alimentam próximo aos sedimentos onde há grande acúmulo de toxinas, alta diversidade biológica, além de serem responsáveis por grande parte da ciclagem de nutrientes e processamento da matéria orgânica do ambiente (Callisto et al, 2001).

Com o aumento da população mundial em 8 milhões de habitantes, gerou-se um grande desafio para suprir a demanda por alimentos (Taagepera, 2014; Godoy et al., 2021). Com isso, a pesca e a aquicultura são extremamente importantes como fontes de proteínas de qualidade. Nesse cenário, a aquicultura tem se mostrado como uma alternativa eficiente para produção de proteína de alta qualidade. Em 2018, a produção de organismos aquáticos atingiu aproximadamente 114,5 milhões de toneladas, totalizando cerca de US \$263,6 bilhões (FAO, 2020). Dentre os diversos setores da aquicultura, a carcinicultura e a ostreicultura vem crescendo muito nos últimos anos. Com isso, é de suma importância estudos que relacionem os contaminantes com a fisiologia desses animais que possuem grande interesse econômico.

O presente trabalho é dividido em dois capítulos. No primeiro nós investigamos se a exposição crônica do camarão *Litopenaeus vannamei* ao cádmio afeta a ingestão de energia e sua distribuição para as diferentes funções fisiológicas como crescimento, metabolismo, muda, defecação e excreção. No segundo capítulo comparamos a fisiologia e a concentração de metais presentes no corpo de ostras da espécie *Crassostrea brasiliana* cultivadas e selvagens. Nossos resultados mostram que o metabolismo, a excreção de amônia e a osmorregulação dessa espécie é alterada de maneiras distintas dependendo do local de origem das espécies, e que os metais se depositam de maneiras diferentes em cada uma delas.

Referências

Adeogun, A. O., Ibor, O. R., Omiwole, R., Chukwuka, A., Adewale, A. H., Kumuyi, O., Arukwe, A. 2020. Sex-differences in physiological and oxidative stress responses and heavy metals burden in the black jaw tilapia, *Sarotherodon melanotheron* from a tropical freshwater dam (Nigeria). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol 229.

Bailey, S. E., Olin, T. J., Bricka, R. M., Adrian, D. D. 1999. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water Research*, Vol. 33, 2469-2479.

Callisto, M.; Moretti, m.; Goulart, M. 2001. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 6 (1): 71-82.

Defo, M. A., Bernatchez, L., Campbell, P. G. C., Couture, P. 2014. Waterborne cadmium and nickel impact oxidative stress responses and retinoid metabolism in yellow perch. *Aquatic Toxicology*. Vol 154, 207-220.

FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome.

Fu, Fenglian., Wang, Qi. 2011. Removal of heavy metal ions from waterwaters: A review. *Journal of Environmental Management*. Vol. 92, 407-418.

Gerling, Cynthia; Ranieri, Cynthia; Fernandes, Luena et al. 2016. Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores. Santos: Editora Comunicar,

Gimiliani, G.T., Fornari, M., Redígolo, M.M., Bustillos, J.O.W.V., Abessa, D.M.S., Pires, M.A.F., 2020. Simple and cost-effective method for microplastic quantification in estuarine sediment: A case study of the Santos and São Vicente

Estuarine System. Case Stud. Chem. Environ. Eng. 2, 100020.
<https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100020>

Kubrak, O. I., Husak, V. V., Rovenko, B. M., Poigner, H., Kriews, M., Abele, D., Lushchak, V. I. 2013. Antioxidant system efficiently protects goldfish gills from Ni²⁺-induced oxidative stress. Chemosphere, Vol. 90. 971-976.

Merfa, T. C. 2010. Determinação de Metais Pesados no Caranguejo Comestível *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda). Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao IB/UNESP – Campus de Rio Claro.

Srivastava, N. K., Majumder, C. B. Novel. 2008. Biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. Journal of Hazardous Materials, Vol. 151, 1-8.

Efeitos da exposição crônica a Cádmio no balanço energético do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei*.

RESUMO

O cádmio (Cd) é um metal não essencial para os organismos. Ele está presente em baterias e pilhas recarregáveis e o seu descarte inadequado tem aumentado a concentração deste poluente nos ambientes costeiros. Embora os metais possam alterar a homeostase dos animais e causar uma redistribuição da energia que seria canalizada para as diferentes funções fisiológicas, pouco se sabe sobre o balanço energético de espécies expostas à poluentes. Portanto, nosso objetivo foi avaliar os efeitos do cádmio na fisiologia de *Litopenaeus vannamei*, o camarão marinho mais cultivado no mundo. Os animais foram expostos durante 30 dias à água contendo 0,1mg/L de cádmio; os animais controles foram mantidos em água sem adição de cádmio. Foi escolhida uma concentração de cádmio que realmente ocorre em águas poluídas na natureza. Quantificamos a energia ingerida diariamente e canalizada para crescimento e metabolismo ou perdida na excreção nitrogenada, exúvia e fezes. Também foi avaliado o tipo de substrato energético oxidado pelos animais, o índice hepatossomático e a osmolalidade da hemolinfa. O metabolismo foi avaliado por meio do consumo de oxigênio de animais mantidos em câmaras respirométricas fechadas e a excreção de amônia por colorimetria. Os conteúdos energéticos foram detectados em bomba adiabática. Os efeitos do metal foram avaliados pelo teste T seguido pelo SNK. Houve mortalidade (30%) apenas em *L. vannamei* exposto ao cádmio. Animais expostos ao cádmio canalizaram mais energia para o crescimento (33% da energia ingerida) do que os animais controles (20%). A maior parte da energia ingerida foi canalizada para o

metabolismo (cerca de 40%) em ambos os tratamentos. Cerca de 30% da energia ingerida foi canalizada para as demais funções como defecação, excreção nitrogenada e muda. O tipo de substrato energético oxidado (uma mistura de proteínas e lipídeos), índice hepatossomático (cerca de 6,6) e osmolalidade da hemolinfa (cerca de 705 mOsm/Kg água) não sofreram alterações em função da exposição ao metal. Concluímos que a exposição crônica a cádmio causa hormese e altera aspectos da fisiologia de *L. vannamei*, inclusive o balanço energético. Nesta espécie a hormese está relacionada ao rápido crescimento, uma resposta adaptativa visto que animais maiores podem ser mais eficientes na evitação da predação e as fêmeas podem acomodar um maior número de ovos em seus pleópodos. No entanto, o crescimento dos artrópodes é dependente da troca do exoesqueleto e os animais apresentaram uma alta taxa de mortalidade na pós muda. Além disso, não se sabe se os animais que tiveram uma elevada taxa de crescimento durante os 30 dias de exposição ao cádmio sofrerão efeitos a longo prazo decorrentes de tal exposição. Visto que os animais foram expostos a uma concentração de cádmio que realmente é encontrada no meio ambiente, o presente trabalho mostra que este é um metal que pode afetar biologia da espécie e a aquicultura deste importante camarão marinho.

Palavras-chave: Fisiologia, Crustáceos, Camarão, Poluição.

1. INTRODUÇÃO

As zonas costeiras são regiões afetadas pelos impactos antrópicos devido à grande população que a habita, sendo a poluição um dos principais fatores

desse impacto (Gerlin et al., 2016). Grande parte da poluição dos oceanos é causada por atividades antrópicas, como o lançamento de esgoto, materiais agrotóxicos e descarte incorreto de resíduos sólidos e industriais (Gerlin et al., 2016). Nos ambientes aquáticos os poluentes podem atingir três locais diferentes: 1) a água, onde as partículas poluidoras podem estar dissolvidas e disponíveis para os seres vivos; 2) o sedimento, onde armazenam e acumulam vários compostos orgânicos e inorgânicos (Power & Chapman, 1992). Tais compostos geralmente são modificados por processos químicos, físicos e biológicos, causando deposição, liberação e transporte dessas partículas; 3) os organismos, podendo causar efeitos graves e letais, sendo o mais complexo dos três pela grande variedade de sistemas biológicos existentes (Merfa, 2010).

Os metais são poluentes comumente gerados por ações humanas. Eles são constituídos por elementos com pesos atômicos entre 63,5 e 200,6 e gravidade específica maior que 5,0 (Srivastava & Majumder, 2008). Alguns metais são essenciais para a vida da biota como por exemplo o Zinco (Zn), Cobre (Cu), Selênio (Se), Ferro (Fe) e Manganês (Mg) mas outros como cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) não têm funções biológicas (Turoczy et al, 2001; Kubrak et al., 2013). As fontes dos metais podem ser diversas como águas de mineração, processamento de metais, produtos farmacêuticos, produtos químicos orgânicos e plásticos (Bailey, 1999). Ao contrário dos contaminantes orgânicos, os metais não são biodegradáveis sendo retidos em redes tróficas, principalmente nas aquáticas (Fu & Wang, 2001; Kubrak et al, 2013). A bioacumulação nos animais pode ocorrer por meio da respiração, ingestão de alimentos ou via dérmica (Cesar, 2003; Shi et al, 2018) e gerar problemas como estresse oxidativo, alterações no metabolismo (Adeogun, 2020; Defo, 2014), na

diversidade genética (Banci, 2009), alterações hormonais, crescimento e nas atividades enzimáticas (Naimo, 1995). O nível tóxico dos metais é diretamente relacionado a sua concentração e seu tempo de exposição aos organismos. Temperatura, disponibilidade de oxigênio, salinidade, composição química também são fatores que influenciam à sua toxicidade (Merfa, 2010). Grandes concentrações de metais possuem efeito prejudicial aos organismos em um curto espaço de tempo, porém pequenas concentrações podem ocasionar efeitos letais e sub-letais durante longos períodos de exposição (Cesar, 2003).

O Cádmio (Cd) é um metal não essencial relativamente instável e que normalmente está presente na natureza ligado a outros compostos, como sulfetos de zinco (Zhang et al, 2019). Devido ao seu uso intenso na fabricação de baterias, fertilizantes fosfatados, cimento e galvanoplastia os níveis de Cd no ambiente aumentaram muito nos últimos 50 anos, fazendo com que várias espécies tenham contato com esse elemento. Aguiar et al, (2008) descreveu concentrações de até 6,1mg/L na região de Iguape, estado de São Paulo. Em outras localizações, como no golfo do México, já foram constatadas concentrações de até 0,26 mg/L (Arcega et al, 2021) e no Sri Lanka, onde os sedimentos liberam na água em média 40mg/L de íons de Cd (Bandara et al, 2010). Em Cubatão, litoral do estado de São Paulo, concentrações de até 2,5mg/L já foram detectadas em água (Ortega et al, 2022) Há trabalhos mostrando que a exposição o Cd pode ser nociva a vários animais, inclusive os crustáceos, por causar distúrbios respiratórios, alterações no ciclo de muda e no crescimento (Felten et al, 2008), disrupção endócrina (Byrne et al, 2009) além de bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica (Zhang e Reynolds, 2019). Este metal é frequentemente encontrado em tecidos de crustáceos como

Carcinus maenas e *Palaemon elegans* (Butler e Zou, (2021). Portanto, além de afetar todo o ecossistema, o Cd pode afetar a biologia das espécies, inclusive aquelas de interesse econômico.

Dentre os crustáceos que podem ter problemas devido à presença do Cd na água e no sedimento está o camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei* visto que as águas costeiras e marinhas estão frequentemente contaminadas por muitos tipos de poluentes oriundos de atividades humanas (Paez-Osuna e Tron-Mayen, 1996). *Litopenaeus vannamei* é uma das espécies de camarões mais cultivadas no mundo com uma produção anual de quase 5 mil toneladas, o que representa 53% de todos os crustáceos cultivados (FAO, 2020). Além disso, *L. vannamei* possui um papel importante na ecologia costeira por ser uma espécie onívora, envolvida na ciclagem de matéria orgânica e de nutrientes (Valdez et al., 2008). Ele é nativo da região do Oceano Pacífico oriental, mas amplamente cultivado na América Central e Sul e na Ásia, principalmente na China, Indonésia, Tailândia e Vietnã (Zhang, 2019). O camarão *L. vannamei* passa uma parte do seu ciclo de vida em áreas costeiras, mas quando atinge a maturidade migra para áreas oceânicas para reprodução. Além disso, essa é uma espécie é um bom modelo para testes de toxicidade à poluentes, já que possuem ciclo de vida curto (comparado aos peixes), vivem e se alimentam próximo aos sedimentos onde há grande acumulação de toxinas, além de serem responsáveis por grande parte da ciclagem de nutrientes e processamento da matéria orgânica do ambiente (Callisto et al, 2001)

De forma geral, as fazendas de cultivo de *L. vannamei* localizam-se em áreas costeiras e têm contato com a água do mar que pode ser contaminada por vários poluentes, incluindo metais como o Cd (Chua, 1992). Portanto, os

impactos dos metais devem ser levados em consideração tanto para a saúde e bem estar dos camarões cultivados, quanto para a saúde humana, já que é um alimento muito consumido no mundo todo. Nesse sentido, os metais possuem diversos efeitos negativos sobre a saúde humana como lesões prostáticas, fraturas ósseas, disfunção renal, hipertensão, anemia, cólica gastrointestinal e câncer de pulmão (Zhao et al, 2012).

Visto a importância ecológica e econômica do camarão marinho *L. vannamei*, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do metal Cd sobre a fisiologia desta espécie. Os animais foram expostos durante 30 dias à concentração de 0,1 mg/L de cádmio, um valor encontrado no ambiente aquático (Arcega, 2021). Vários mecanismos fisiológicos podem ser afetados pela exposição aos metais e aqui nós investigamos o balanço energético, um parâmetro ainda pouco avaliado em trabalhos de ecotoxicologia. O balanço energético indica como a energia ingerida diariamente é canalizada para as diferentes funções fisiológicas como crescimento, metabolismo, egestão, excreção nitrogenada e ecdise (Lawrence & Lane, 1982). Embora a compreensão do balanço energético seja útil para aprimorar as técnicas de cultivo otimizando as dietas, a taxa de alimentação e o manejo em condições adversas (Augusto et al, 2020; Duong et al, 2021) ela também pode gerar um prognóstico de modelos de crescimento, estratégias reprodutivas, produção de resíduos, mortalidade e dinâmica populacional. No caso de animais expostos a contaminantes, a distribuição da energia entre as diferentes funções pode ser modificada a fim de que o animal seja desintoxicado. Esta mudança no balanço energético pode ter como consequência uma redistribuição da energia ingerida em detrimento de outras funções como reprodução e crescimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos Animais

Os camarões marinhos *L. vannamei* foram coletados em fazendas de cultivo de camarões no estado de Santa Catarina. Os animais foram coletados nos viveiros com o auxílio de redes de tarrafas. Os animais foram transportados em caixas contendo água do local de coleta sobre aeração constante para o Laboratório de Aquicultura Sustentável/UNESP em São Vicente e foram mantidos na sala úmida do Laboratório de Aquicultura Sustentável durante quatro dias antes de começar os experimentos. Foram aclimatados às condições laboratoriais em aquários individuais contendo água com salinidade (30S) e temperatura ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$) semelhantes a do local de. Durante esse período os animais foram alimentados diariamente com cerca de 7% da sua biomassa com ração comercial para camarão marinho (Guabi, 40% de proteína). Todos os camarões utilizados estavam na fase de inter-muda.

Os experimentos foram realizados com um total de 10 animais por tratamento (N=10)

2.2 Exposição dos Animais ao Cádmiio em laboratório

De acordo com a legislação brasileira a concentração de Cd não devem ultrapassar 0,04mg/L em águas marinhas, porém, Aguiar et al, 2008 descreveu concentrações de até 6,1mg/L na região de Iguape, São Paulo. Em outras localizações, como no golfo do México, já foi constatado concentrações de até 0,26 mg/L (Arcega et al, 2021). Já na região de Cubatão, no Litoral do estado de São Paulo, concentrações de até 2,5mg/L já foram detectadas em água (Ortega

et al, 2022). Baseado nesses valores, os camarões deste trabalho foram expostos à água contendo 0,1mg/L de Cd. O grupo controle permaneceu em água sem adição do metal. O cádmio foi diluído em água salobra 25S preparada a partir da mistura de água doce com sal marinho (Hiker Ocean Prosea Salt). Os animais foram mantidos em aquários individuais contendo 6L 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 à tais condições experimentais para que fossem avaliados a mortalidade, o balanço energético e a osmorregulação da espécie.

2.2.1 Avaliação da Taxa de Mortalidade

A sobrevivência dos animais nos aquários foi verificada durante os 30 dias de experimentos três vezes ao dia: às 8, 14 e 20 horas. 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.

2.2.2 Avaliação do Balanço Energético de *L. vannamei*

Taxa de Ingestão (C)

Foram oferecidos 7% da biomassa total de cada indivíduo como alimento uma vez ao dia durante 30 dias. Os restos de alimento foram retirados dos aquários todos os dias no período da manhã por sifonamento. As amostras foram secas a 60°C (Estufa Nova Ética) por 48 h, pesadas (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg) e guardadas em freezer para análise energética. Amostras controles de alimento foram previamente pesadas e colocadas em aquários

mantidos nas mesmas condições experimentais, porém sem animais, para se estimar a perda de massa do alimento por lixiviação. A taxa de ingestão foi determinada pela diferença entre a massa do alimento oferecido e aquele que sobrou nos aquários. O conteúdo energético do alimento foi determinado em bomba adiabática (IKA, C2000 Basic).

Egestão (F)

As fezes foram quantificadas diariamente dos aquários por meio da coleta do material fecal com o auxílio de um sifão. As amostras de fezes foram secas a 60°C (Estufa Nova Ética) por 48 horas e pesadas em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg). O conteúdo energético das fezes foi determinado em calorímetro (IKA, C2000 Basic).

Crescimento (P)

Os animais foram pesados no início e no último dia do experimento (30º dia), a fim de evitar o estresse por manipulação. No último dia do experimento, eles foram eutanasiados em gelo, secos em papel absorvente, colocados em uma estufa (Estufa Nova Ética) a 60°C durante 48 horas e pesados em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg). O conteúdo energético do corpo dos animais foi determinado em um calorímetro (IKA, C2000 Basic). O ganho de massa dos animais foi obtido a partir da diferença entre o peso úmido final e inicial das amostras.

Consumo de Oxigênio (R), Excreção (U)

O consumo do oxigênio foi avaliado em uma câmara respirométrica fechada equipada com oxímetro e monitor YSI modelos 53 e 5905,

respectivamente. Os animais ficaram aclimatados por 30 minutos às câmaras, com aeração constante, salinidade e temperatura da água iguais ao do tratamento em que estavam. Essas câmaras ficaram mantidas tampadas e no escuro. 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 controles 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 fórmula abaixo:

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

Onde,

TR: taxa respirométrica ($\mu\text{g O}_2/\text{mg MS/h}$)

Co: concentração inicial de oxigênio na câmara ($\text{ml O}_2/\text{l}$)

Cf: concentração final de oxigênio na câmara ($\text{ml O}_2/\text{l}$)

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 nitrogenada foi avaliada pela quantificação de amônia total, que é o principal produto do catabolismo proteico 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 & Masui, 2014;

Augusto & 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 como taxas individuais ($\text{g ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) e massa seca específica (mg g^{-1} peso seco h^{-1}). O consumo de oxigênio foi convertido em energia como $14,06 \text{ J mg}^{-1} \text{ O}_2$ (Gnaiger, 1983; Lemos et al., 2006). Os valores de excreção de amônia foram transformados em energia como $24,87 \text{ mg}^{-1} \text{ NH}_3$ (Elliot & Davison, 1975; Lemos et al., 2006).

Energia Perdida na Exúvia

As exúvias foram retiradas dos aquários e secas a 60°C (Estufa Nova Ética) por 48 horas e pesadas em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de $1 \mu\text{g}$). O conteúdo energético das exúvias foi determinado em calorímetro (IKA, C2000 Basic).

2.3.1 Avaliação do Substrato Energético Oxidado

O tipo de substrato energético oxidado foi calculado por meio da relação atômica O/N, dividindo-se a quantidade de oxigênio consumido pela excreção de nitrogênio (mol) (Mayzaud & Conover, 1988). De acordo com Mayzaud e Conover (1988), o catabolismo de proteínas puras produzirá razões O:N na faixa de 3 a 16, enquanto quantidades iguais de catabolismo de lipídios e proteínas produzirão valores entre 50 e 60; acima de 60 há predominância de lipídios. O

consumo de energia foi convertido em energia como $14,06 \text{ J mg}^{-1} \text{ O}_2$ (Gnaiger, 1983) e os valores de excreção foram transformados em energia como $24,87 \text{ mg}^{-1} \text{ NH}_3$ (Lemos et al., 2006).

2.3.2 Avaliação do Índice Hepatosomático

O hepatopâncreas de cada animal foi dissecado após eles 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. O índice hepatossomático foi calculado de acordo com a fórmula a seguir: Índice Hepatosomático = (Peso seco do órgão/ peso seco do animal) X 100.

2.3.3 Avaliação da Osmolalidade da Hemolinfa

Foram retiradas cerca de $30 \mu\text{l}$ de hemolinfa da região do cefalotórax de *L. vannamei*, utilizando-se seringa de insulina e agulha #25-8 (Augusto et al, 2009; Ramaglia et al, 2018). As amostras foram guardadas em um freezer (-20°C) para posterior análise da osmolalidade. A osmolalidade da hemolinfa foi medida em amostras de $10 \mu\text{l}$ em um micro-osmômetro de pressão a vapor (Wescor, Modelo 5500) e os resultados serão apresentados em mOsm/Kg água.

2.4 Quantificação dos Metais nas Águas Utilizadas em Experimento

Para quantificação da concentração de Cádmio nas águas utilizadas durante o experimento, 6 amostras de água cada grupo experimental foram guardadas em freezer para posterior análise. As amostras foram transportadas

em caixas térmicas contendo gelo para a UNESP de Botucatu, no laboratório do 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 (Leite et al, 2019; Minelho et al, 2009).

2.5 Análise Estatística

O efeito do Cd na fisiologia dos animais foi avaliado por Teste T seguido pelo teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK) para localizar as médias estatisticamente diferentes. Foi utilizado nível mínimo de significância de $P = 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o programa Sigma Stat 3.5 e empregando-se um nível mínimo de significância de $P = 0,05$. As figuras foram apresentadas através dos dados inseridos no programa Graphpad.

3 RESULTADOS

3.1 Sobrevivência

Os animais controles não sofreram mortalidade durante os 30 dias de experimento, mas aqueles expostos ao Cd tiveram uma taxa de mortalidade de 30%. Tais mortalidades ocorreram cerca de três dias após eles sofrerem a muda.

3.2 Energia do Corpo, Fezes e Ração

O conteúdo energético do corpo e fezes dos animais bem como da ração ofertada é mostrado na Tabela 1. Não houve diferenças no valor energético do corpo (cerca de 18 KJ/g) dos animais controles ou expostos ao Cd. A ração comercial ofertada tinha um valor energético de 18,56 KJ/g.

Tabela 1. Conteúdo energético do corpo, fezes e alimento dos camarões *L. vannamei* (Kj/g), mantidos durante 30 dias em água controle ou e com metal Cd (0,1 mg/L). Os dados são apresentados como Média e Erro Padrão.

Tabela energia corpo, fezes e ração		
	Controle	Cádmio
Energia Corpo	18,102±0,116	18,432±0,168
Energia Fezes	8,565±0,235	8,149±0,162
Energia Ração	18,56	18,56

*Valores com diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

3.3 Ingestão, Crescimento, Egestão, Metabolismo e Excreção de *L. vannamei*.

As taxas diárias de ingestão, egestão, crescimento, metabolismo e excreção dos camarões *L. vannamei* são mostradas na Tabela 1. Embora a taxa de ingestão diária (mg MS dia⁻¹) dos camarões expostos ao Cd tenha sido um pouco maior que dos animais controles, ambos os grupos ingeriram a mesma

porcentagem de ração em relação a sua biomassa, cerca de 3%. Animais controles defecaram 62% da massa ingerida, mas os animais expostos ao Cd esse valor foi reduzido a 57%. Os animais cresceram cerca de 80% mais quando expostos ao cádmio. O consumo de oxigênio (-32%) e a excreção de amônia (-55%) individuais foram menores nos animais expostos ao Cd.

Tabela 2. Taxas diárias de ingestão (C), crescimento (P), respiração (R), excreção (u), fezes, (F) e relação fezes/ingestão(F/C) de *L. vannamei* mantido em água controle ou exposto ao Cd (0,1 mg/L) durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média ± Erro Padrão.

	Controle	Cádmio
C (mg MS dia⁻¹)	102,02 ± 0,02 ^A	106,15 ± 0,07 ^B
C (MUi%)	2,97 ± 0,22 ^A	2,92 ± 0,25 ^A
F (mg MS dia⁻¹)	64,34 ± 2,24 ^A	65,21 ± 2,84 ^A
P/MUi%	23,14 ± 3,39 ^A	43,57 ± 5,85 ^B
P (mg MS dia⁻¹)	18,94 ± 1,84 ^A	33,94 ± 4,29 ^B
F/C (%)	62,161 ± 1,39 ^A	57,64 ± 1,45 ^B
R (mg O₂ ind⁻¹ dia⁻¹)	81,87 ± 5,94 ^A	62,66 ± 3,69 ^B
U (mg O₂ ind⁻¹ dia⁻¹)	0,90 ± 0,09 ^A	0,60 ± 0,07 ^B

*Valores com diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

3.4 Metabolismo e Excreção Nitrogenada

O consumo de oxigênio e a excreção de amônia em massa seca específica ($\mu\text{g. mg MS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) são mostrados nas Figuras 1 e 2. Ambos os parâmetros fisiológicos sofreram redução após a exposição dos animais ao Cd. O consumo de oxigênio teve uma redução de 14% e a excreção de amônia 55%, aproximadamente.

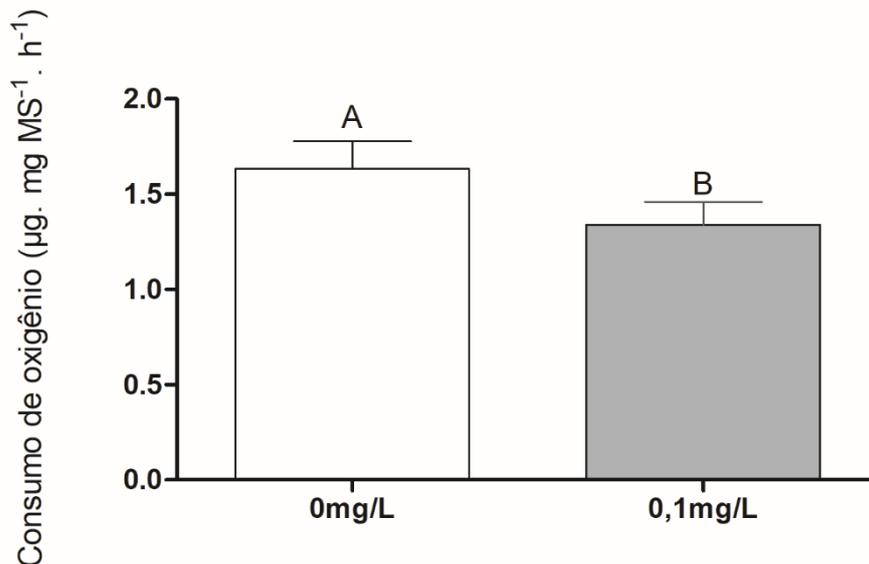


Figura 1. Consumo de oxigênio em massa seca específica de *L. vannamei* mantido em situação controle (0mg/L) ou exposto ao Cd (0,1mg/L) durante 30 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística.

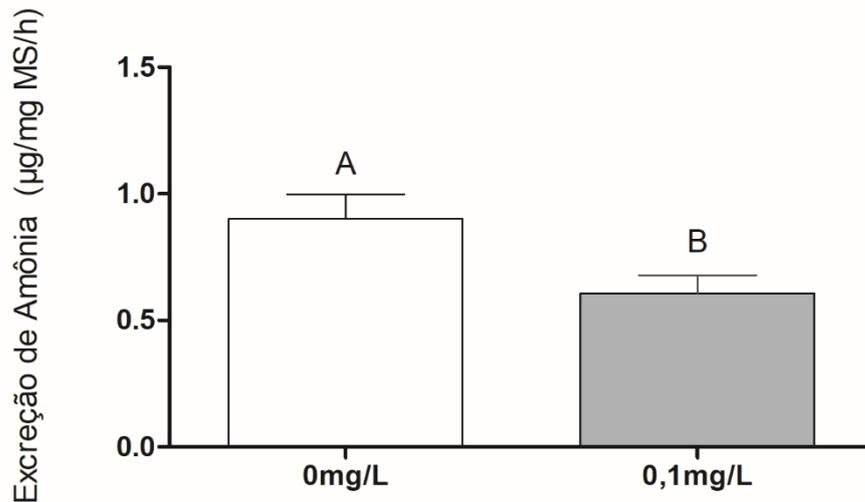


Figura 2. Excreção de amônia massa específica ($\mu\text{g}/\text{mg MS}/\text{h}$) de camarões *L. vannamei* em situação controle (0mg/L) e exposto ao Cádmiio (0,1mg/L). Letras diferentes indicam diferença estatística.

3.5 Balanço Energético

A energia ingerida e canalizada para as diferentes funções está expressa em $\text{kJ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ na Tabela 4 e em porcentagem na Figura 3. Os animais expostos ao cádmio ingeriram cerca de 11% mais energia do que os animais controles. Tal aumento não foi acompanhado por uma maior perda energética pelas fezes (cerca de $0,5 \text{ KJ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ em ambos os grupos). Os camarões expostos ao cádmio também canalizaram mais energia para o crescimento (33% da energia ingerida) em relação aos controles (20% da energia ingerida). A energia canalizada para o metabolismo foi semelhante entre os tratamentos (cerca de $0,7 \text{ KJ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$). Uma pequena porção da energia ingerida foi perdida

via excreção de amônia, sendo que os animais expostos ao Cd perderam menos (0,9%) que os animais controles (1,3%).

Tabela 3. Energia ingerida diariamente (C) e canalizada para crescimento (P), metabolismo (R), excreção (U) e fezes (F) em *L. vannamei* (kJ ind⁻¹ dia⁻¹). Os valores são média ± erro padrão (N = 10).

	Controle	Cádmio
C	1,80 ± 0,11 ^A	2,07 ± 0,12 ^B
P	0,38 ± 0,05 ^A	0,63 ± 0,08 ^B
R	0,70 ± 0,16 ^A	0,76 ± 0,12 ^A
F	0,55 ± 0,03 ^A	0,53 ± 0,02 ^A
U	0,02 ± 0,09 ^A	0,01 ± 0,07 ^B

*Valores com diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

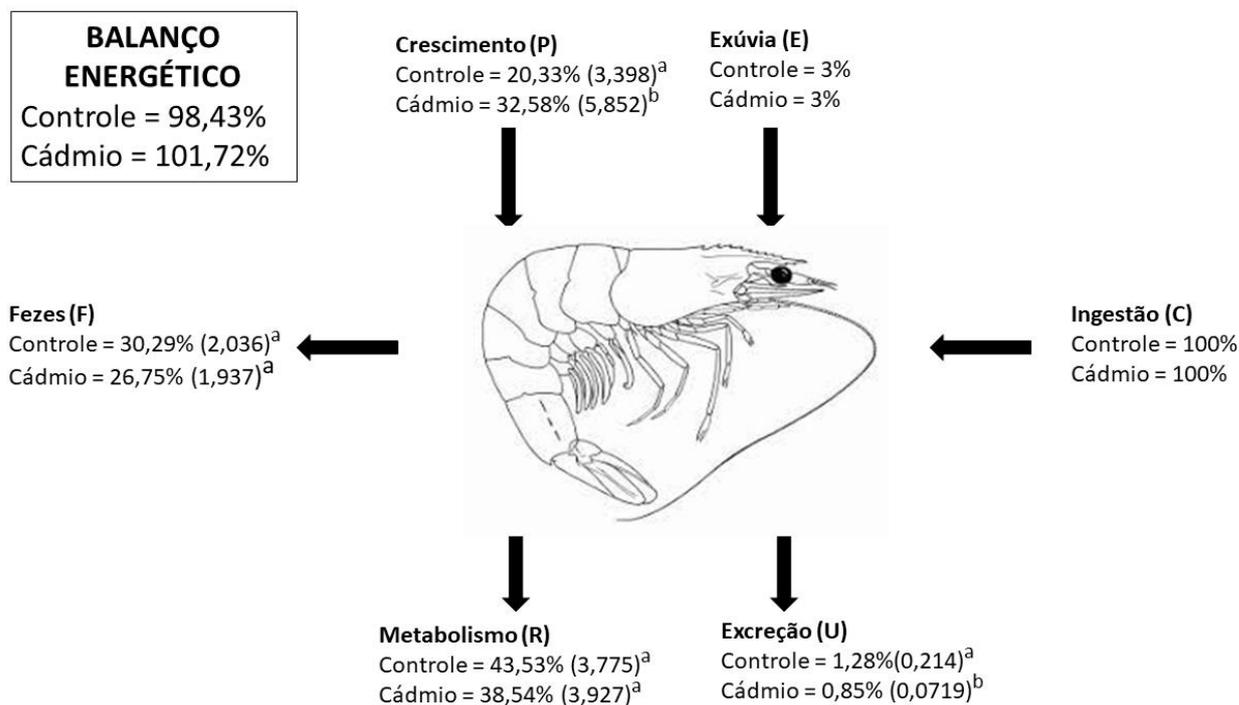


Figura 3. Canalização da energia ingerida (%) para crescimento (P), metabolismo (R), excreção (U), fezes (F) e exúvia (E) de *L. vannamei* mantido em situação controle ou exposto ao cádmio durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média e Erro Padrão. Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste T. Desenho de camarão *L. vannamei* disponível em FAO, 2010.

3.6 Tipo de Substrato Energético Oxidado e Índice Hepatossomático

O tipo de substrato energético predominantemente oxidado por *L. vannamei* não mudou devido a presença do Cd e permaneceu uma mistura de proteínas e lipídeos (Tabela 3). O índice hepatossomático também não sofreu alterações e teve valores por volta de 6,6 (Tabela 3).

Tabela 3. Razão atômica (O:N) e índice hepatossomático (IHS) de *L. vannamei* mantidos em água controle ou com Cd durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média \pm Erro Padrão.

	Controle	Cádmio
O:N	51,87 \pm 19,77 ^A	33,23 \pm 7,24 ^B
HSI	6,73 \pm 2,31 ^A	6,49 \pm 0,94 ^A

*Valores com diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

3.7 Osmolalidade da Hemolinfa

A osmolalidade da hemolinfa de *L. vannamei* não mudou em função da presença do metal e ambos os grupos apresentaram cerca de 705 mOsm/Kg água.

3.8 Resultado das Análises de Água

As concentrações de Cádmio nas águas analisadas são demonstradas na tabela 4. Os valores são expressos em médias e erro padrão de mg/L.

Amostras	Concentração de Cádmio (mg/ L)
Controle L. Vannamei A	n.d*
L. Vannamei 0,1mg/L	0,16 \pm 0,00018

*n.d = não detectado.

4. DISCUSSÃO

Os organismos usam a energia oriunda da alimentação para o crescimento, manutenção e reprodução. Vários fatores bióticos e abióticos podem romper esse processo, inclusive os poluentes presentes no ambiente aquático. Dependendo do ambiente as funções fisiológicas podem ser modificadas, e a distribuição dessa energia alterada. O balanço energético do camarão marinho *L. vannamei* exposto ao contaminante Cd foi determinado aqui a partir da quantificação do alimento ingerido e distribuído para o crescimento, metabolismo, excreção, fezes e exúvia. Embora a exposição ao Cd tenha causado elevada mortalidade (30%), animais expostos a este contaminante ingeriram mais ração, defecaram menos e também cresceram mais que os animais controles. Além disso consumiram menos oxigênio e excretaram menos amônia. O balanço energético foi modificado pelo maior investimento no crescimento. Tal resultado é consistente com o fenômeno denominado hormese. É possível que o metal seja um disruptor endócrino dos hormônios relacionados ao crescimento e/ou tenha otimizado a digestão e a absorção dos nutrientes no intestino.

Relação Mortalidade e Ciclo de Muda

A elevada mortalidade observada em *L. vannamei* exposto ao Cd ocorreu entre o terceiro e o quarto dia após os animais sofrerem muda. O ciclo de muda é regulado pelo sistema endócrino dos crustáceos e estudos têm demonstrado que animais no estágio de pós muda podem ser mais suscetíveis à toxicidade gerada por poluentes químicos (Tumburu et al, 2012). Tal resposta pode ocorrer

devido a alterações na permeabilidade epitelial durante essa fase do ciclo de muda. Alguns crustáceos que estão na pós muda, como a pulga d'água *Daphnia pulex*, tornam-se mais frágeis quando expostos à água com Cr (Lee et al, 1979). O camarão *Crangon crangon* na pós muda torna-se enfraquecido quando é exposto ao cobre e ao Zn (Price, et al, 1979). Além disso tornam-se vulneráveis quando são expostos a contaminantes químicos altamente tóxicos como o Cd.

Durante a pós muda ocorre um aumento da permeabilidade do corpo dos crustáceos que favorece as trocas iônicas e o enrijecimento do novo exoesqueleto. Essa permeabilidade aumentada dura em média cinco dias nos crustáceos decápodos após sofrerem a muda (Rasmussen et al, 1996). No entanto, há trabalhos que mostram que animais expostos à água contendo cátions metálicos como o Cd a permeabilidade do corpo pode diminuir como uma forma de evitar as trocas através das membranas em um ambiente desfavorável. É possível que esse mecanismo tenha ocorrido em *L. vannamei* exposto ao Cd visto a elevada mortalidade na pós muda. Uma redução na permeabilidade corporal devido a presença do metal pode ter reduzido a captação dos íons e minerais necessários para enrijecer o seu novo exoesqueleto. Visto que a osmolalidade da hemolinfa não foi alterada pela presença dos metais, alterações na pressão osmótica ou perturbações iônicas relacionadas ao sódio e cloreto não devem ter ocorrido.

Crescimento, Ingestão e Defecação

O crescimento dos animais corresponde a energia adquirida por meio do alimento e armazenada como reserva corporal. Os camarões *L. vannamei* expostos ao Cd durante 30 dias cresceram cerca de 44%, enquanto os animais controles cresceram apenas 23%. Os animais também canalizaram mais energia

para o crescimento quando expostos ao cádmio (cerca de 30% de toda energia ingerida diariamente). É possível elencar algumas hipóteses que expliquem tal resposta. Embora a concentração do Cd utilizada no presente experimento corresponda a um valor real encontrado em águas contaminadas (Aguiar et al, 2008; Arcega et al, 2021), ela é cerca de dez vezes menor que a CL-50 de *L. vannamei* (Wu et al, 2004), o que pode ter gerado a resposta biológica de hormese (Calabrese, 2008). A hormese é uma resposta adaptativa consequente do rompimento da homeostase e que é estimulada por baixas concentrações, mas inibida por elevadas concentrações de contaminantes (Filho, 2002). De forma geral, o efeito estimulatório da hormese pode ser 30% maior nos animais expostos aos contaminantes que aqueles mantidos em situação controle (Chapman, 2001). A resposta mais comum é uma elevação na taxa de crescimento, mas também podem ocorrer aumentos na taxa reprodutiva, longevidade e resistência a doenças (Kmecl & Jerman, 2000).

A hormese pode ser consequência de alterações na fisiologia, morfologia e bioquímica dos animais. Nesse sentido, podemos inferir que o Cd possa ser um disruptor endócrino dos hormônios relacionados ao crescimento de *L. vannamei*. A disfunção endócrina pode acontecer por alterações no estímulo ou inibição da secreção de hormônios ou por interferência da interação dos hormônios com os seus receptores (Rodriguez et al, 2007). Ortega et al, 2022 já destacou que os metais podem ser disruptores endócrinos inclusive do crescimento. O Cd também pode ter causado alterações no sistema digestório dos animais, provocando uma melhor absorção intestinal dos nutrientes ou aumentando a expressão de enzimas digestivas produzidas no hepatopâncreas e intestino. Finalmente, a energia ingerida por animais expostos ao Cd (2,1 KJ ind

1 dia^{-1}) foi sutilmente maior que aquela ingerida por animais controles ($1,8 \text{ kJ ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) (ver Figura 3) e tal acréscimo pode ter favorecido o crescimento. Adicionalmente, tal aumento na ingestão energética foi acompanhada por uma menor perda por meio das fezes.

Embora o Cd possa causar uma maturação precoce em *L. vannamei*, como forma de compensação para a sua sobrevivência em um ambiente tóxico, esta resposta foi acompanhada por uma elevada taxa de mortalidade. Portanto, uma possível canalização de energia para o crescimento em detrimento da sobrevivência também deve ser contemplada e melhor investigada em estudos futuros.

Metabolismo e Excreção de Amônia

Animais expostos ao Cd também apresentaram alterações no consumo de oxigênio e na excreção de amônia. O metabolismo pode ser considerado a soma de todas as reações químicas que ocorrem em um organismo e é estimado pelo consumo de oxigênio do animal. A maior parte da energia consumida pelos crustáceos costuma ser canalizada para o metabolismo e ele pode variar em função de situações ambientais que imponham desafios à manutenção da homeostase (Mootz e Epifanio, 1974; Xue et al, 2021; Mantoan et al, 2021). O consumo de oxigênio (massa seca específica) de *L. vannamei* exposto ao Cd foi 14% menor que nos animais controles. Essa resposta observada no camarão marinho *L. vannamei* já foi observada em outros camarões de diversos habitats como *Farfantepenaeus paulensis*, *Xiphopenaues kroyeri*, e *Palaemon macrodactylus* (Tabela 5). De forma geral, acredita-se que o Cd possa provocar

alterações ou danos celulares e histológicos nas brânquias e, conseqüentemente, uma redução na capacidade de captação de oxigênio através do epitélio (Ortega et al., 2017; Zhang, 2021). Assim como outras espécies de crustáceos como *M. amazonicum* e *Callinectes danae*, *L. vannamei* canalizou a maior parte da energia ingerida para o metabolismo (uma média de 42%).

Tabela 5. Consumo de oxigênio de camarões de diferentes habitats após exposição aguda ou crônica ao cádmio.

Espécie	Concentração de Cd	Salinidade	Consumo Oxigênio controle	Consumo Oxigênio com Cd	Tempo de exposição	Autor
<i>Litopenaeus vannamei</i>	100µg/L	20	1,532 (µg. mg MS ⁻¹ . h ⁻¹)	1,339 (µg. mg MS ⁻¹ . h ⁻¹)	30d	Presente estudo
<i>Litopenaeus vannamei</i>	300µg/L	15	0,0068(mg O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	0,0053(mg O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	24h	Wu and Chen, 2004
<i>Litopenaeus schmitti</i>	200µg/L	36	0,0063 mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	0,0031(mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	3h	Barbieri, 2007
<i>Palaemonetes pugio</i>	7 µg/L	10	8,2 (µL O ₂ /min.g)	6,1(µL O ₂ /min.g)	14d	Manyin and Rowe, 2009
<i>Farfantepena eus paulensis</i>	200 µg/L	36	0,005(mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	0,003(mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	3h	Barbieri, 2009
<i>Farfantepena eus paulensis</i>	200 µg/L	36	0,00490 (mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	0,00342 (mL O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹)	3h	Barbieri and Paes, 2011
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>	400µg/L	36	0,043(ml O ₂ /g/min)	0,023(ml O ₂ /g/min)	3h	Barbieri et al., 2013
<i>Penaeus monodon</i>	240 µg/L	20	1250 (µL O ₂ /h)	1050(µL O ₂ /h)	30d	Nadukooru and

						Yallapragada , 2015
<i>Palaemon macrodactylus</i>	185µg/L	31	0,77(mg/g.h O ₂)	0,59(mg/g.h O ₂)	96h	Zhang et al, 2021

A amônia é a principal excreta nitrogenada da maioria dos organismos aquáticos. Ela é resultante do catabolismo dos aminoácidos livres e é tóxica em concentrações elevadas devido principalmente ao seu efeito deletério sobre a atividade enzimática. Nosso trabalho demonstrou que os animais diminuem a sua excreção de amônia quando estão em um ambiente com Cd. Tal resultado pode estar relacionado ao uso dos aminoácidos livres decorrente da elevada taxa de crescimento dos animais expostos ao cádmio. Além disso, metais podem alterar os mecanismos fisiológicos relacionados ao transporte de compostos nitrogenados através das membranas brânquias, já que é o primeiro órgão atingido por poluentes, devido ao constante contato com o ambiente externo. (Espiricueta et al, 2008).

Substrato Energético Oxidado, IHS

O hepatopâncreas dos crustáceos tem funções importantes, como a secreção de enzimas digestivas, absorção de nutrientes, reserva e fornecimento de energia essencial para o crescimento, reprodução e metabolismo. Durante exposição a agentes *estressores*, a energia estocada no hepatopâncreas pode ser utilizada para atender a demanda energética (James, 2013). Neste estudo, não foram observadas alterações significativas no índice hepatossomático de *L. vannamei*, sugerindo que, embora parâmetros importantes como metabolismo e

excreção nitrogenada tenham sido alterados, as reservas energéticas não foram acessadas. Além disso, os animais continuaram oxidando principalmente proteínas e lipídeos, independentemente da presença do Cd. Possíveis danos físicos ao sistema digestório decorrentes da ingestão do Cd também parecem não afetar estruturalmente o hepatopâncreas de *L. vannamei*. Nossos resultados diferem de outros trabalhos que submeteram crustáceos à poluentes, como Zhang, 2021, que demonstrou um aumento no índice hepatossomático em fêmeas dos camarões *Macrobrachium nipponense* expostos ao metal Zn, e Martín-Díaz et al, 2005, que também constatou um aumento do índice hepatossomático nos lagotins *Procambarus clarkii* expostos à diferentes concentrações de Cd e Zn.

Balanço Energético

A hormese pode provocar alterações no balanço energético das espécies. Por exemplo, ela pode reduzir a energia destinada a determinadas funções em detrimento de mecanismos envolvidos com a eliminação do contaminante do organismo (Callow & Sibly, 1990). Entretanto, o incremento de um parâmetro, sem prejuízo de outro, também pode acontecer (Forbes, 2000). Isso ocorre quando a redistribuição energética não é danosa às diferentes funções fisiológicas. De forma geral, observamos no presente trabalho que a exposição de *L. vannamei* ao Cd causou alterações na energia que é canalizada para o crescimento e também naquela que é perdida na excreção nitrogenada. Portanto, embora o metal possa ter influenciado a permeabilidade do exoesqueleto na fase de pós muda e causado elevada mortalidade, uma diferença na distribuição energética entre as funções fisiológicas também

ocorreu. Além disso, uma parcela da energia poderia ter sido usada para a desintoxicação do organismo. Embora a maior parte da energia ingerida seja canalizada para o metabolismo, esse parâmetro não foi afetado pela presença do metal. Contaminantes como os metais podem ter efeito direto na distribuição de energia dos organismos. A exposição do isópoda *Porcellio scaber* ao Cd resultou em redução da energia ingerida (Sures et al, 1995) e no cladócea *Alona guttata* exposto ao chumbo ocorreu uma diminuição do estoque energético destinado a reprodução e sobrevivência (Olga et al, 2018).

5. Conclusão

Nós concluímos que a exposição crônica do camarão *Litopenaeus vannamei* a baixas concentrações do metal Cádmio causa hormese e altera aspectos da sua fisiologia, incluindo o balanço energético. Em *L. vannamei* a hormese está relacionada ao rápido crescimento, uma resposta adaptativa visto que animais maiores podem ser mais eficientes na evitação da predação e as fêmeas podem acomodar um maior número de ovos em seus pleópodos. No entanto, o crescimento dos artrópodes é dependente da troca do exoesqueleto e os animais apresentaram uma alta taxa de mortalidade na pós muda. A hormese causou ainda uma maior canalização da energia ingerida para o crescimento. Portanto, visto que os animais foram expostos a uma concentração do cádmio que realmente é encontrada no meio ambiente, o presente trabalho mostra que este é um metal que pode afetar a produção do camarão marinho mais cultivado no mundo. Além disso, não se sabe se os animais que tiveram uma elevada taxa de crescimento durante os 30 dias de exposição ao cádmio sofrerão efeitos a longo prazo decorrentes de tal exposição. Aspectos da

reprodução, imunidade, comportamento e bioacumulação devem ser avaliados em estudos futuros.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adeogun, A. O., Ibor, O. R., Omiwole, R., Chukwuka, A., Adewale, A. H., Kumuyi, O., Arukwe, A. 2020. Sex-differences in physiological and oxidative stress responses and heavy metals burden in the black jaw tilapia, *Sarotherodon melanotheron* from a tropical freshwater dam (Nigeria). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol 229.

Aguiar, V. M. C; Braga, E.S.; Baptista-Neto, J. A. 2008. Avaliação de metais pesados em dois sistemas estuarinos subtropicais no Estado de São Paulo, Brasil. In : HOFER, TN (ed.). *Poluição marinha: nova pesquisa* . Nova York, EUA: Nova Science Publishers.

Arcega-Cabrera, F., Sickman, J. O., Fargher, L., Herrera-Silveira, J., Lucero, D., Ocegüera-Vargas, I., ... & Robledo-Ardila, P. A. (2021). Groundwater quality in the Yucatan Peninsula: Insights from stable isotope and metals analysis. *Groundwater*, 59(6), 878-891.

Augusto A, Masui DC (2014) Sex and reproductive stage differences in the growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Mar Freshw Behav Physiol* 47:373–388.

Augusto, A., New, M. B., Santos, M. R., Amorim, R. V., & Valenti, W. C. (2020). Energy budget and physiology in early ontogenetic stages of the Amazon river prawn☆. *Aquaculture Reports*, 18, 100446.

Augusto, A., Pinheiro, A., Greene, L.J., Laure, H.J., and McNamara, J.C. 2009. Evolutionary transition to freshwater by ancestral marine palaemonids: evidence from osmoregulation in a tide pool shrimp. *Aquat. Biol.* 7: 113-123.

AUGUSTO, A., VALENTI, W. C. Are there any physiological differences between the male morphotypes of the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Caridea: Palaemonidae) *J. Crustac. Biol.* 36(5):716-23. 2016.

Bailey, S. E., Olin, T. J., Bricka, R. M., Adrian, D. D. 1999. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water Research*, Vol. 33, 2469-2479.

Banci, K. R. S., Pinheiro, M., Oliveira, M. A., Paganelli, F. L., Pereira, M. R.. 2009. "The influence of heavy metals on genetic diversity of *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (brachyura, ucididae), in mangroves of the São Paulo State, Brazil."

Bandara, J. M. R. S., Wijewardena, H. V. P., Liyanegge, J., Upul, M. A., & Bandara, J. M. U. A. (2010). Chronic renal failure in Sri Lanka caused by elevated dietary cadmium: Trojan horse of the green revolution. *Toxicology Letters*, 198(1), 33-39.

Barbieri, E. (2007). Use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the sublethal toxicity of cadmium and zinc on *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea). *Water environment research*, 79(6), 641-646.

Barbieri, E. (2009). Effects of zinc and cadmium on oxygen consumption and ammonium excretion in pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967, Crustacea). *Ecotoxicology*, 18(3), 312-318.

Barbieri, E., & Paes, E. T. (2011). The use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the toxicity of cadmium on *Farfantepenaeus paulensis* with respect to salinity. *Chemosphere*, 84(1), 9-16.

Barbieri, E., Branco, J. O., Santos, M. D. C. F., & Hidalgo, K. R. (2013). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption and ammonia excretion of the seabob shrimp, according to the temperature. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39(3), 299-309.

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.

Calabrese, E. J. (2008). Neuroscience and hormesis: overview and general findings. *Critical Reviews in Toxicology*, 38(4), 249-252.

Callisto, M.; Moretti, m.; Goulart, M. 2001. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 6 (1): 71-82.

Calow, P., & Sibly, R. M. (1990). A physiological basis of population processes: ecotoxicological implications. *Functional Ecology*, 283-288.

Cesar, A. 2003. Análisis ecotoxicológico integrado de la contaminación marina

CHAPMAN, P.M. (2001) The implications of hormesis to ecotoxicology and

Defo, M. A., Bernatchez, L., Campbell, P. G. C., Couture, P. 2014. Waterborne cadmium and nickel impact oxidative stress responses and retinoid metabolism in yellow perch. *Aquatic Toxicology*. Vol 154, 207-220.

Duong, D. N., Stone, D. A., Qin, J. G., Bansemer, M. S., & Harris, J. O. (2021). Energy budgets for Greenlip Abalone (*Haliotis laevis* Donovan) fed graded dietary crude protein levels at seasonal water temperatures. *Aquaculture*, 536, 736499.

ecological risk assessment (ERA). *Belle Newsletter* 10, 2-9.

Elliot JM, Davidson W (1975) Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia* 19:195–201

FAO -Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture, 2020.

Filho, 2002. Hormese: Um pouco de algo perigoso pode ser bom? Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, 2002.

Forbes, T. G. (2000). A review on the genesis of coronal mass ejections. *Journal of Geophysical Research: Space Physics*, 105(A10), 23153-23165.

Frías-Espéricueta, M. G., Abad-Rosales, S., Nevárez-Velázquez, A. C., Osuna-López, I., Páez-Osuna, F., Lozano-Olvera, R., & Voltolina, D. (2008). Histological effects of a combination of heavy metals on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquatic Toxicology*, 89(3), 152-157.

Fu, Fenglian., Wang, Qi. 2011. Removal of heavy metal ions from waterwaters: A review. *Journal of Environmental Management*. Vol. 92, 407-418.

Gerling, Cynthia; Ranieri, Cynthia; Fernandes, Luena et al. 2016. Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores. Santos: Editora Comunnicar,

James, P., Vasilyev, R., Siikavuopio, S., Kovatcheva, N., Samuelsena, T., Mundheima, H., Carlehog, M. The effects of varying the percentage of herring versus salmon protein in manufactured diets on the survival, meat content, hepatosomatic index and meat sensory quality of adult red king crab *Paralithodes camtschaticus* held in captivity. *Aquaculture*, 416:417-390–395, 2013.

Kmecl, P., & Jerman, I. (2000). Biological effects of low-level environmental agents. *Medical hypotheses*, 54(5), 685-688.

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

Kubrak, O. I., Husak, V. V., Rovenko, B. M., Poigner, H., Kriews, M., Abele, D., Lushchak, V. I. 2013. Antioxidant system efficiently protects goldfish gills from Ni²⁺-induced oxidative stress. *Chemosphere*, Vol. 90. 971-976.

Lane, J. M., & Lawrence, J. M. (1982). Food, feeding and absorption efficiencies of the sand dollar, *Mellita quinquesperforata* (Leske). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 14(4), 421-431.

Lee, D. R., & Buikema Jr, A. L. (1979). Molt-related sensitivity of *Daphnia pulex* in toxicity testing. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 36(9), 1129-1133.

Lemos, D., Netto, B., and Germano, A. 2006. Energy budget of juvenile fat snook *Centropomus parallelus* fed live food. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(1), 33-40.

Mantoan, P., Ballester, E., Ramaglia, A. C., & Augusto, A. (2021). Diet containing 35% crude protein improves energy balance, growth, and feed conversion in the

Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture Reports*, 21, 100962.

Manyin, T., & Rowe, C. L. (2009). Bioenergetic effects of aqueous copper and cadmium on the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology & pharmacology*, 150(1), 65-71.

Martín-Díaz, M. L., Tuberty, S. R., McKenney Jr, C. L., Sales, D., & Del Valls, T. A. (2005). Effects of cadmium and zinc on *Procambarus clarkii*: Simulation of the Aznalcóllar mining spill. *Ciencias marinas*, 31(1B), 197-202.

Mayzaud and Conover, 1988 P. Mayzaud, R.J. Conover O:N ratio as a tool to describe zooplankton metabolismo. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 45 (1988), pp. 289-302

Merfa, T. C. 2010. Determinação de Metais Pesados no Caranguejo Comestível *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda). Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao IB/UNESP – Campus de Rio Claro.

Mootz, C. A., & Epifanio, C. E. (1974). An energy budget for *Menippe mercenaria* larvae fed *Artemia nauplii*. *The Biological Bulletin*, 146(1), 44-55.

Nadukooru, N., & Yallapragada, P. R. (2015). Carotenoid as a sensitive indicator of sub lethal cadmium toxicity in *Penaeus monodon* post larvae. *Ecotoxicology*, 24(2), 339-345.

Naimo, T.J. 1995. A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology* 4, 341–362.

Olga C. Osorio-Treviño, Mario A. Arzate-Cárdenas & Roberto Rico-Martínez (2019) Orçamento de energia em *Alona guttata* (Chydoridae: Aloninae) e

alterações induzidas por substâncias tóxicas, *Journal of Environmental Science and Health, Parte A*, 54:5 , 398-407, DOI: 10.1080/10934529.2018.1558901

Ortega, P., Custódio, M. R., & Zanotto, F. P. (2017). Characterization of cadmium transport in hepatopancreatic cells of a mangrove crab *Ucides cordatus*: the role of calcium. *Aquatic Toxicology*, 188, 92-99.

Ortega, P., Vitorino, H. A., Green, S., Zanotto, F. P., Chung, J. S., & Moreira, R. G. (2022). Experimental effects of cadmium on physiological response of *Callinectes danae* (Crustacea, Portunidae) from environments with different levels of Cd contamination. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 251, 109210.

Páez-Osuna, F., & Tron-Mayen, L. (1996). Concentration and distribution of heavy metals in tissues of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico. *Environment International*, 22(4), 443-450.

Power, E. A., & Chapman, P. M. (2018). Assessing sediment quality. In *Sediment toxicity assessment* (pp. 1-18). CRC Press.

Price, R. K. J., & Uglow, R. F. (1979). Some effects of certain metals on development and mortality within the moult cycle of *Crangon crangon* (L.). *Marine Environmental Research*, 2(4), 287-299.

Rasmussen, A., & Andersen, O. (1996). Apparent water permeability as a physiological parameter in crustaceans. *The Journal of experimental biology*, 199(12), 2555-2564.

Rodríguez, E. M., Medesani, D. A., & Fingerman, M. (2007). Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: a review. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 146(4), 661-671.

S. Xue, J. Ding, J. Li, Z. Jiang, J. Fang, F. Zhao, Y. Mao. Effects of live, artificial and mixed feeds on the growth and energy budget of *Penaeus vannamei*. *Aquac. Rep.*, 19 (2021), Article 100634, 10.1016/j.aqrep.2021.100634

Shi, Y., Vestergren, R., Nost, T. H., Zhou, Z., & Cai, Y. (2018). Probing the differential tissue distribution and bioaccumulation behavior of per-and polyfluoroalkyl substances of varying chain-lengths, isomeric structures and functional groups in crucian carp. *Environmental science & technology*, 52(8), 4592-4600.

Srivastava, N. K., Majumder, C. B. Novel. 2008. Biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 151, 1-8.

Sures, B., & Taraschewski, H. (1995). Cadmium concentrations in two adult acanthocephalans, *Pomphorhynchus laevis* and *Acanthocephalus lucii*, as compared with their fish hosts and cadmium and lead levels in larvae of *A. lucii* as compared with their crustacean host. *Parasitology Research*, 81(6), 494-497.

Tumburu, L., Shepard, E. F., Strand, A. E., & Browdy, C. L. (2012). Effects of endosulfan exposure and Taura Syndrome Virus infection on the survival and molting of the marine penaeid shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere*, 86(9), 912-918.

Turoczy, N. J., Mitchell, B. D., Levings, A. H., & Rajendram, V. S. (2001). Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the King Crab

(*Pseudocarcinus gigas*) from southeast Australian waters. *Environment international*, 27(4), 327-334.

Wu, J. P., & Chen, H. C. (2004). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere*, 57(11), 1591-1598.

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.

Zhao, H., Xia, B., Fan, C., Zhao, P., Shen, S. 2012. Human health risk from soil heavy metal contamination under different land uses near Dabaoshan Mine, Southern China. *Science of the Total Environment*. Vol. 417-418. 45-54.

Comparação da Fisiologia de Ostras (*Crassostrea brasiliana*) Cultivadas e Selvagens do Litoral de São Paulo

RESUMO

Os metais são exemplos desses contaminantes que existem em regiões costeiras e estuarinas. As fontes dos metais podem ser diversas, como águas de mineração, processamento de metais, produtos farmacêuticos, produtos químicos orgânicos e plásticos, e, ao contrário de contaminantes orgânicos, essas substâncias não são biodegradadas no ambiente. No litoral Centro-Sul do estado de São Paulo ostras da espécie *Crassostrea brasiliana* são as mais abundantes e podem ser originárias da pesca ou aquicultura. Na região da Baixada Santista, a espécie é abundante nos estuários e costões rochosos, sendo pescada ao longo de todo Sistema Estuarino de Santos. É uma região extremamente alterada por conta de atividades portuárias, descarte irregular de resíduos sólidos e atividades industriais. Na região de Cananéia existem diversos produtores dessa espécie, e, por mais que seja uma região menos impactada, resíduos de mineração que ocorriam há 30 anos atrás ainda persistem no local. O objetivo do trabalho foi comparar a fisiologia de espécimes provenientes da pesca (região da Baixada Santista) ou aquicultura (Cananéia) por meio do metabolismo, excreção de amônia e osmorregulação e também quantificar metais presentes no corpo e concha dos animais separadamente. Nossos resultados mostram que, dependendo do local de origem das ostras, elas respondem de maneiras diferentes. Ostras da Baixada Santista apresentaram um elevado consumo de oxigênio pós coleta, diferentemente das ostras de Cananéia. Além disso, a excreção de amônia das ostras da Baixada Santista quando realocadas para água controle também foram muito elevadas quando comparada com as demais. Houve a presença da osmorregulação em

C. brasiliiana, o que é pouco comum em ostras desse gênero. Porém, concentrações de metais nas conchas de Cananéia foram acima das encontradas nas conchas das ostras da Baixada Santista, o que pode indicar a presença de resíduos de mineração de décadas passadas. Concluímos que as diferentes populações de *C. brasiliiana* apresentam algumas características fisiológicas diferentes.

Palavras-chave: Fisiologia, Moluscos, Aquicultura, Metais, Poluição.

Introdução

A zona costeira costuma ser uma região afetada pelos impactos antrópicos, por conta da grande população que a habita, sendo a poluição um dos principais fatores desse impacto (Gerlin et al., 2016). Poluição é definida como qualquer alteração negativa capaz de gerar um desequilíbrio no meio ambiente. Grande parte da poluição dos oceanos é causada por lançamento de esgoto, materiais agrotóxicos e descarte incorreto de resíduos sólidos e industriais na água e sedimento (Gerlin et al., 2016).

Nos ambientes aquáticos os poluentes podem atingir três locais diferentes: 1) a água, onde as partículas poluidoras estão dissolvidas e disponíveis e em contato com os organismos aquáticos pelágicos, em forma de ingestão ou associação; 2) o sedimento, onde armazenam e acumulam vários compostos orgânicos e inorgânicos (Power & Chapman, 1992), onde geralmente são modificados por processos químicos, físicos e biológicos, causando deposição, liberação e transporte dessas partículas e estando em contato com

os organismos bentônicos; 3) os organismos, que podem ter efeitos graves e letais, sendo o mais complexo dos três pela grande variedade de sistemas biológicos existentes (Merfa, 2010).

A contaminação desses ambientes acontece de forma acidental ou intencional, devido às atividades antrópicas. Os ambientes aquáticos constituem-se de reservatórios de contaminantes e acumulam substâncias orgânicas e inorgânicas, provenientes de efluentes industriais e domésticos. Os ecossistemas costeiros, como estuários e baías, recebem o maior volume de contaminantes pela sua alta concentração de população humana e, por serem regiões com alta produção biológica são os mais preocupantes (MORAES et al., 2001). Um modo de analisar a poluição nos ambientes aquáticos é avaliar o impacto biológico, estudando os efeitos dos poluentes em diferentes níveis biológicos. As interações entre poluentes e os organismos aquáticos podem ocasionar mudanças estruturais e funcionais, resultando em distúrbios danosos de funções vitais, como o crescimento e reprodução que podem afetar a população (MORAES et al., 2001).

Metais também são poluentes comumente gerados por ações humanas. Eles são constituídos por elementos com pesos atômicos entre 63,5 e 200,6 e gravidade específica maior que 5,0 (Srivastava & Majumder, 2008). As fontes dos metais podem ser diversas, como águas de mineração, processamento de metais, produtos farmacêuticos, produtos químicos orgânicos e plásticos (Bailey, 1999). Portanto, são produtos que estão presentes no cotidiano da população humana. Ao contrário de contaminantes orgânicos, os metais não são biodegradáveis) sendo retidos em redes tróficas, principalmente nas aquáticas (Kubrak et al, 2013; Sasireka, 2021). Esses metais podem ser despejados ou

seguir a corrente das águas até estuários, onde a água do mar se mistura com a água doce. Em decorrência disso, ocorrem alterações físico-químicas nas águas estuarinas, o que pode facilitar a deposição de alguns materiais particulados e seus contaminantes (Kim et al, 2016).

Os metais podem ocasionar bioacumulação e biomagnificação nos organismos (Jingchun shi et al, 2018). A bioacumulação ocorre devido a absorção dessas substâncias pelos tecidos através da respiração, ingestão de alimentos ou via dérmica (Madgett, As, 2021). Alguns metais são essenciais para a vida da biota, como por exemplo, Zinco (Zn), Cobre (Cu), Selênio (Se), Ferro (Fe) e Manganês (Mg) (Kubrak et al., 2013), mas outros como mercúrio (Hg), chumbo (Ch) e cádmio (Ca) não possuem funções biológicas nos organismos e são intensamente deletérios (Turoczy et al, 2001). A biomagnificação ocorre devido à ingestão de alimentos já contaminados, transferindo a concentração desses metais para toda rede trófica (Yang et al, 2022). Ecossistemas estuarinos e marinhos possuem longas estruturas de teia alimentar, o que ocasiona uma alta capacidade de bioacumulação dessas substâncias. Trabalhos já demonstraram que peixes oceânicos possuem valores mais altos de concentrações de metais, como Chumbo (Pb), Cádmio (Cd) e Mercúrio (Hg) comparado à peixes de água doce (Wang et al, 2019)

A presença de altas concentrações de metais podem gerar diversos problemas aos animais aquáticos como estresse oxidativo, alterações no metabolismo (Adeogun, 2020; Defo, 2014), na taxa reprodutiva (Mukherjee, 2022); na diversidade genética (Banci, 2009), osmorregulação e no trato digestivo (Liu et al, 2019). O nível tóxico dos metais nos organismos é diretamente relacionado com a sua concentração e o tempo de exposição.

Temperatura, disponibilidade de oxigênio, salinidade, composição química também são fatores que influenciam à sua toxicidade (Merfa, 2010). Grandes concentrações de metais possuem efeito prejudicial aos organismos em um curto espaço de tempo, porém pequenas concentrações podem ocasionar efeitos letais e sub-letais durante longos períodos de exposição (Liu et al, 2019).

Alguns organismos podem ser utilizados como modelos de bioindicadores em ecotoxicologia. As características que definem um animal como bom bioindicador são: informações biológicas bem definidas, alta sensibilidade à fatores estressantes, ampla distribuição ecológica e geográfica, facilidade de captura e capacidade preditiva (Ding et al, 2021). De maneira geral, os invertebrados bentônicos são animais muito utilizados para avaliação de impactos ambientais e estudos ecotoxicológicos em ambientes aquáticos devido principalmente ao seu ciclo de vida curto (comparado aos peixes, por exemplo) (Callisto et al, 2001), hábito sedentário, que trazem informações representativas da área que foram coletados (Merfa, 2010), vivem e se alimentam próximo aos sedimentos onde há grande acumulação de toxinas, alta diversidade biológica, além de serem responsáveis por grande parte da ciclagem de nutrientes e processamento da matéria orgânica do ambiente (Callisto et al, 2001). Considerando animais marinhos e estuarinos, os bivalves se destacam como bons modelos por serem organismos filtradores e acumularem vários tipos de poluentes em seus tecidos. Além disso, são relativamente fáceis de serem coletados, e, na maioria dos casos, são sésseis ou sedentários (Jesus et al, 2003). Tem sido relatado que os bivalves podem sofrer diversos efeitos na sua biologia devido à exposição aos metais como sensibilidade embrionária larval

(Markich, 2021) alterações em seu sistema imune (Tan et al, 2022) e maiores taxas de consumo de oxigênio (Pessati et al, 2002).

Os moluscos bivalves são animais muito usados na aquicultura e geraram um valor estimado em \$23,9 bilhões de dólares em sua carne, além de \$5,2 bilhões de dólares em suas conchas, pérolas e cascas anualmente (Olivier et al, 2018). Segundo a FAO (2019), são produzidas cerca de 16 milhões toneladas de bivalves anualmente no mundo. Além disso, várias outras espécies de bivalves são obtidas por meio da pesca, como a ostra do pacífico (*Crassostrea gigas*) e o mexilhão azul (*Mytilus edulis*) (Oyarzún et al, 2021). Dentre as várias espécies cultivadas, as ostras do gênero *Crassostrea* têm se destacado. No Brasil, as espécies do gênero *Crassostrea* são popularmente conhecidas como ostras do mangue e estão distribuídas ao longo da costa, principalmente em regiões estuarinas, já que se associam a rizóforas de manguezais da espécie *Rhizophora mangle* (Rios, 1994; Do Amaral, 2014; Galvao, 2012). Os indivíduos desse gênero normalmente possuem a válvula direita plana e a válvula esquerda mais larga e convexa aderida ao substrato. O gênero é dióico e não possui dimorfismo sexual (Boss, 1982).

No litoral Centro-Sul do estado de São Paulo ostras da espécie *Crassostrea brasiliiana* são as mais abundantes e podem ser originárias da pesca ou aquicultura. Na região da Baixada Santista, a espécie é abundante nos estuários e costões rochosos (Catharino, MGM, et al., 2014), sendo pescada ao longo de todo Sistema Estuarino de Santos. O sedimento, água e biota dessa região possuem elevadas concentrações de substâncias químicas (Oliveira et al, 2020) e de resíduos sólidos (Ribeiro et al, 2021) originárias de descargas de esgoto doméstico, atividades portuárias, efluentes industriais, descarte de

equipamentos de pesca deteriorados, descarte de lixo doméstico, entre outros (Gimiliani et al, 2020). Por outro lado, na região de Cananéia há uma grande concentração de produtores de ostras *C. brasiliiana* há várias décadas. (Do Amaral, V. S., & Simone, L. R. L., 2014). Cerca de 42 famílias participam da produção das ostras e colhem cerca de 70 mil dúzias dos animais por ano. A engorda de ostras ocorre em viveiros do tipo tabuleiro e a extração é feita por meio do manejo de bancos naturais (Campolim, M. B.; 1997). Os produtores de ostras de Cananéia possuem parcerias com pesquisadores que coletam água periodicamente para garantir a qualidade do cultivo (Machado et al, 2002). Embora a região de Cananéia seja frequentemente considerada uma área menos poluída que a Baixada Santista, no século XIX realizaram a abertura de um canal artificial em Iguape, e fez com que cerca de 70% das águas do Rio Ribeira de Iguape fossem para dentro do estuário (Azevedo e Salgado, 2019), o que gerou alterações na qualidade ambiental da região (Abessa, 2014). Até meados de 1995 o rio abrigou muitas minas de chumbo (Pb), zinco (Zn), ouro (Au), prata (Ag) e platina (As) que descartavam rejeitos de fundição indiscriminadamente, contaminando água e sedimento ao longo de seu curso (Castro, 2012). Após o fechamento das minas, esses resíduos se depositaram ao longo do rio, estando suscetíveis à intemperismo e lixiviação (Sígolo, 2008)

Visto a importância das ostras *C. brasiliiana* para a alimentação humana, o objetivo do presente trabalho foi comparar a fisiologia de espécimes provenientes da pesca (região da Baixada Santista) ou aquicultura (Cananéia) por meio do metabolismo, excreção de amônia e osmorregulação e também quantificar metais presentes no corpo e concha dos animais separadamente. Os experimentos foram realizados em ostras recém coletadas e em ostras mantidas

durante três dias em laboratório com água do local de coleta ou água controle (produzida a partir de sal marinho).

Material e Métodos

2.1 Coleta das Ostras e Manutenção em Laboratório

As coletas foram realizadas nos meses de março e maio do ano de 2021. As ostras de cultivo foram coletadas no Mandira (-25.023547, -48.026705), localizada no município de Cananéia, Litoral Sul do Estado de São Paulo (Fotos 1 e 2). Essas ostras foram retiradas manualmente de travesseiros de criação localizados dentro do estuário de Cananéia. As ostras selvagens foram coletadas no estuário de São Vicente (-23.977203, -399801) e retiradas de costão rochoso manualmente (Fotos 3 e 4). As variáveis da água do local de coleta, como salinidade e temperatura, foram verificadas com refratômetro e termômetro as ostras (cerca de 30 indivíduos) foram transportadas sob aeração constante e água do local coleta até o Laboratório de Aquicultura Sustentável, campus da UNESP, em São Vicente, SP para avaliação da fisiologia e concentração de metais nos tecidos. Alguns animais foram eutanasiados por congelamento nos locais de coleta e transportados para o Laboratório de Aquicultura Sustentável, campus da UNESP, em São Vicente, SP, onde foram mantidos em freezer para posterior análise de quantificação de metais. Foram utilizadas 10 ostras de cada espécie para cada tratamento (N = 10).



Fotos 1 e 2, respectivamente, no local de coleta de Ostras da espécie *C. brasiliiana* coletadas em Cananéia, Litoral Sul de São Paulo.



Fotos 3 e 4, respectivamente, no local de coleta das Ostras da espécie *C. brasiliiana* coletadas no estuário Santos-São Vicente, Litoral Centro-Sul de São Paulo.

No laboratório, as ostras foram mantidas durante três dias em grupos de 10 indivíduos em caixas contendo aproximadamente 50 litros de água salobra (25S), temperatura de 25°C, luz natural e aeração constante. Foram alimentadas diariamente com fitoplâncton. Um grupo foi mantido em água do local de coleta e o outro grupo com água produzida a partir de sal marinho (Hiker Ocean ProSea Salt). As ostras que foram usadas para avaliar a fisiologia dos animais recém coletados não foram mantidas no laboratório e as avaliações dos parâmetros fisiológicos foram realizados imediatamente após a chegada no laboratório.

2.2 Avaliação do Consumo de Oxigênio e Excreção de Amônia

Os animais foram separados em três grupos: 1) Recém coletados; 2) Após 3 dias no laboratório e mantidos em água do local de coleta e 3) após 3 dias com água produzida no laboratório à partir da mistura de água doce filtrada com sal marinho (Hiker Ocean Prosea Salt).

O consumo do oxigênio foi avaliado em uma câmara respirométrica fechada equipada com oxímetro equipado com uma probe e monitor YSI modelos 53 e 5905, respectivamente. Os animais ficaram aclimatados por 30 minutos às câmaras, com aeração constante, salinidade e temperatura da água iguais ao do tratamento em que estavam. Após esse período, a aeração foi retirada e realizada a medição inicial da concentração de oxigênio dentro das câmaras. As câmaras ficaram mantidas tampadas e no escuro. Após 60 minutos, foi feita uma nova medição do consumo de oxigênio. Câmaras controles 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 fórmula abaixo:

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

Onde,

TR: taxa respirométrica ($\mu\text{g O}_2/\text{mg MS/h}$)

Co: concentração inicial de oxigênio na câmara ($\text{ml O}_2/\text{l}$)

Cf: concentração final de oxigênio na câmara ($\text{ml O}_2/\text{l}$)

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 nitrogenada foi avaliada pela quantificação de amônia total, que é o principal produto do catabolismo proteico 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 & Masui, 2014; Augusto & 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 como taxas individuais ($\text{g ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) e massa seca específica ($\mu\text{g. mg MS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

2.3 Avaliação da Capacidade Osmorregulatória

Ao final dos experimentos nas câmaras respirométricas, cerca de 20 μl de hemolinfa foram retirados do músculo adutor das ostras, utilizando-se seringa de insulina e agulha #25-8 (Augusto et al, 2009; Ramaglia et al, 2018). As amostras foram guardadas em freezer (-20°C) para posterior análise da osmolalidade. 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 estão apresentados em mOsm/Kg água.

2.4 Quantificação dos Metais em Ostras Selvagens e Cultivadas, Água e Sedimento

Para quantificação dos metais (Cádmio, Cobre, Crômio, Chumbo, Mercúrio, Ferro e Zinco) nas amostras de corpo mole, conchas, sedimento e água estes foram transportados para o Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Química para serem analisados em colaboração com o Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha. As amostras de conchas foram analisadas em novembro de 2022 e as amostras restantes serão analisadas em dezembro de 2022. 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 (Leite et al, 2019; Minelho et al, 2009).

2.5 Análise Estatística

As diferenças no metabolismo e excreção nitrogenada de ostras cultivadas e selvagens foram avaliadas por Anova de 2 Fatores e a osmorregulação por Teste T, 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 empregando-se um nível mínimo de significância de $P = 0,05$. As figuras foram feitas usando o programa Graphpad.

3. Resultados

Metabolismo e Excreção Nitrogenada

O consumo de oxigênio e a excreção de amônia em massa seca específica ($\mu\text{g} \cdot \text{mg MS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) são mostrados nas Figuras 5 e 6. As ostras recém coletadas da Baixada Santista consomem cerca de 60% mais oxigênio que as ostras mantidas no laboratório por três dias. Essas ostras recém coletadas também consomem mais oxigênio que todas as ostras coletadas em Cananéia. As ostras provenientes de Cananéia não apresentaram diferenças estatísticas entre recém coletadas e mantidas no laboratório por três dias.

A excreção nitrogenada de ostras provenientes da Baixada Santista aumentou aproximadamente 220% quando os animais foram mantidos em água salobra produzida no laboratório com sal marinho. As ostras de Cananéia não apresentaram diferenças estatísticas.

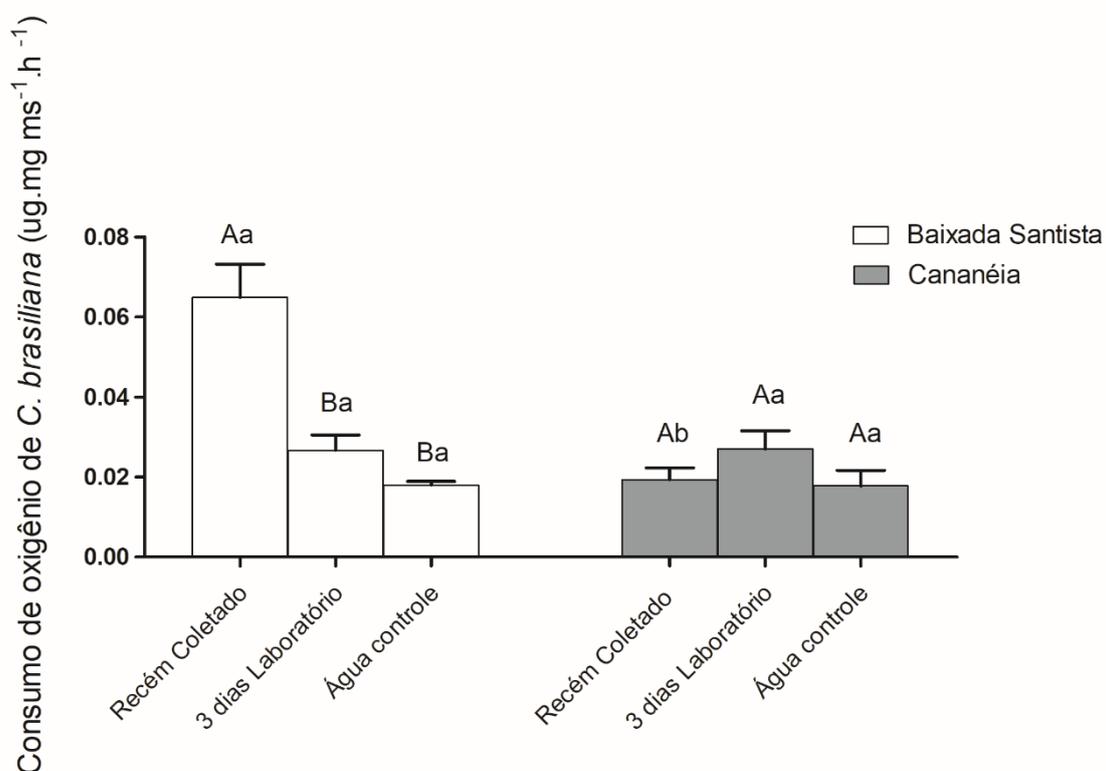


Figura 5. Consumo de oxigênio em massa seca específica de *C. brasiliana* provenientes da Baixada Santista e Cananéia. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre ostras coletadas no mesmo local. Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre ostras coletadas em locais diferentes.

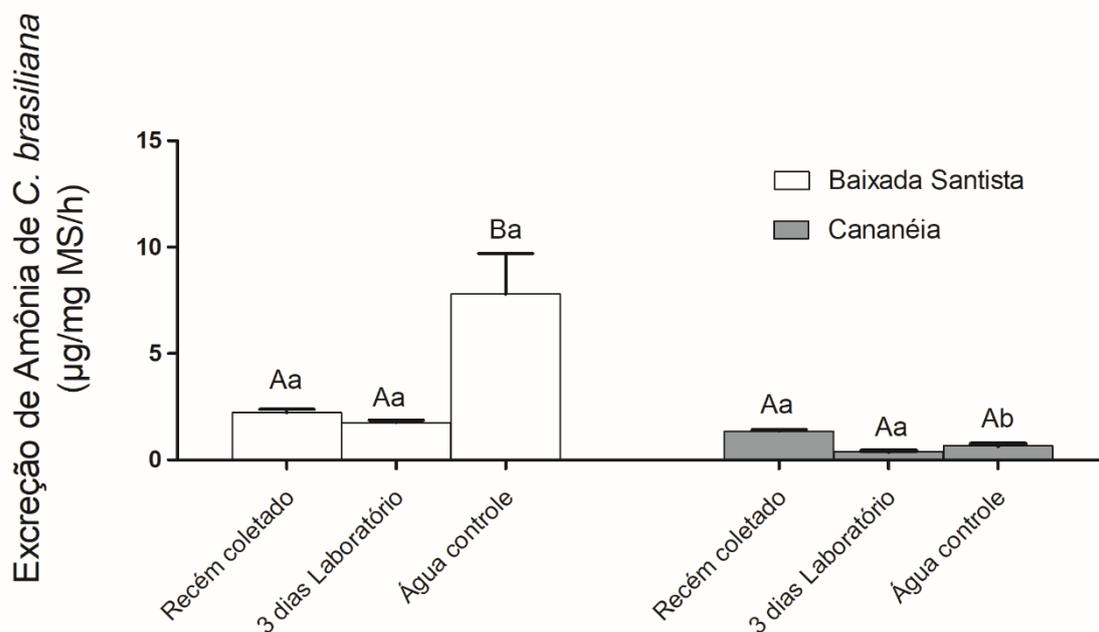


Figura 6. Excreção de amônia em massa seca específica de *C. brasiliana*. provenientes da Baixada Santista e Cananéia. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas dentro do mesmo grupo. Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas nos grupos diferentes.

Osmorregulação

Os valores da osmolalidade da hemolinfa das ostras provenientes da Baixada Santista e Cananéia são demonstrados nas Tabelas 1 e 2. As ostras da Baixada Santista mantidas em água do local de coleta apresentaram osmolalidade da hemolinfa próxima do ponto isosmótico mas aquelas expostas à água produzida no laboratório hiporregularam a osmolalidade da hemolinfa. Todas as ostras de Cananéia hiporregularam a osmolalidade da hemolinfa.

Tabela 1. Osmolalidade da hemolinfa das ostras selvagens coletadas na Baixada Santista (Média ± Erro Padrão, N = 10). Letras indicam diferenças estatísticas. Osmolalidade do meio externo: 750 mOsm/kg de água.

Osmolalidade (mOsm/kg água) Ostras – Baixada Santista	
Recém coletado	722,500 ± 10,973 ^A
3 dias Laboratório	719,857 ± 10,159 ^A
Água Controle	665,857 ± 10,159 ^B

Tabela 2. Osmolalidade da hemolinfa das ostras cultivadas coletadas em Cananéia (Média ± Erro Padrão, N = 10). Letras indicam diferenças estatísticas. Osmolalidade do meio externo: 600 mOsm/kg de água.

Osmolalidade (mOsm/kg água) Ostras – Cananéia	
Recém coletado	554,000 ± 10,973 ^A
3 dias Laboratório	530,00 ± 10,973 ^A
Água feita	537,667 ± 10,973 ^A

Concentração de metais nas conchas de *C. brasiliana*

Dentre os metais quantificados, predominaram em *C. brasiliana* coletadas em ambas as regiões o Zinco. A concentração total de metais nas conchas das ostras coletadas em Cananéia é aproximadamente 36% maior comparado com as conchas das ostras da Baixada Santista. (Tabela 3).

Tabela 3. Concentrações de Metais nas conchas de ostras *C. brasiliiana* da Baixada Santista e Cananéia. Os valores são expressos em médias com erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os grupos.

Concentração de Metais nas Conchas mg.kg⁻¹		
	Baixada Santista	Cananéia
Cádmio (Cd)	0,0443±0,0291 ^A	0,0972±0,0150 ^B
Cobre (Cu)	11,854±2,096 ^A	16,618±3,415 ^B
Crômio (Cr)	0,306±0,160 ^A	0,672±0,0627 ^B
Chumbo (Pb)	0,0555±0,0291 ^A	0,131±0,0150 ^B
Mercúrio (Hg)	não detectável	não detectável
Ferro (Fe)	36,076±6,364 ^A	49,365±10,461 ^B
Zinco (Zn)	54,774±9,754 ^A	73,464±15,629 ^B

4. Discussão

Nosso estudo demonstrou que a fisiologia das ostras pode ser diferente dependendo do local de coleta. Observamos que as ostras oriundas da Baixada Santista apresentaram maiores variações dos parâmetros fisiológicos avaliados. Por outro lado, as ostras coletadas em Cananéia apresentaram maior concentração de metais em suas conchas, provavelmente devido à atividade mineradora na região que, embora encerrada a quase 30 anos, ainda parece influenciar a biologia das espécies locais.

Metabolismo e Excreção Nitrogenada

No geral, os metais possuem efeitos que podem alterar a homeostase dos moluscos, como por exemplo, alimentação, crescimento, locomoção e comportamento reprodutivo, metabolismo e excreção (Gendy et al, 2021). Nesse sentido, a avaliação do metabolismo de espécies expostas a estressores

constitui um bom parâmetro para entender a biologia geral dos organismos. O metabolismo pode ser avaliado de várias formas, mas principalmente por meio do consumo de oxigênio. Diante de situações estressantes o consumo de oxigênio costuma aumentar como forma de elevar o fornecimento de energia para os mecanismos fisiológicos que gastam ATP. Nos animais aquáticos, como os moluscos, as trocas gasosas entre o meio externo e o animal são realizadas através das brânquias (Dame & Kenneth, 2011). De forma geral, não observamos diferenças entre o consumo de oxigênio entre as ostras da Baixada Santista e de Cananéia. No entanto, nas ostras recém coletadas da Baixada Santista o consumo de oxigênio foi 66% maior. Tal aumento pode ter ocorrido devido à presença de diversos poluentes na água do local de coleta, como metais, fármacos, drogas ilícitas, resíduos industriais, domésticos e portuárias (Gimiliani et al, 2020). Tal resposta também ocorre em ostras como *Crassostrea gasar* (Laning et al, 2006) e *Ostrea edulis* (Fabra et al., 2021) expostas a poluentes como o cádmio e microplásticos, respectivamente. No entanto, como as ostras da Baixada Santista mantidas no laboratório com água do local de coleta não apresentaram esse elevado consumo oxigênio, duas hipóteses podem ser elencadas. A primeira delas é que o efeito de algum contaminante ou a sinergia de vários deles possa ter sido amenizada após três dias no laboratório. A segunda hipótese é que o elevado consumo de oxigênio nas ostras recém coletadas da Baixada Santista se deva ao estresse provocado pela pesca, manejo e transporte para o laboratório. Estas ostras estavam fixadas em costão rochoso e o manuseio para retirada é mais invasivo quando comparado ao das ostras de Cananéia, que permanecem em travesseiros de cultivos e são facilmente coletadas. Este é um viés metodológico da biologia experimental

pouco explorado na literatura. Se por um lado é importante que se avalie a fisiologia de animais recém coletados a fim de que se determine as condições reais do ambiente de coleta, por outro lado tais respostas podem estar associadas ao estresse oriundo da coleta e não do ambiente. São necessários experimentos futuros com diferentes grupos de animais a fim de que se estabeleça em quais grupos o manejo afeta os parâmetros fisiológicos avaliados. Em épocas de elevada contaminação ambiental e mudanças climáticas globais, estabelecer uma metodologia confiável e que reflita os efeitos reais das alterações ambientais é de suma importância.

A amônia é o principal produto excretado por animais aquáticos (Freire et al., 2008) e a sua excreção está diretamente relacionada ao catabolismo de aminoácidos. Diversos fatores podem influenciar a taxa de excreção, como por exemplo, a salinidade, pH, qualidade da água, dieta e a presença de poluentes (Zha et al, 2022). As ostras da Baixada Santista que foram expostas à água preparada com sal marinho em laboratório (controle) apresentaram um aumento de 220% na excreção de amônia quando comparada aos demais animais. Tal resposta pode indicar um aumento do catabolismo proteico (turnover proteico), o uso de aminoácidos livres como fonte de energia (neoglicogênese) e/ou aumento da ingestão proteica na ausência de contaminantes. Como essa resposta foi observada apenas nas ostras da Baixada Santista, é possível que a dieta à base de fitoplâncton possa ter sido um fator importante em tal resposta. Portanto, alterações na dieta no que tangem a concentração de proteína bruta, valor energético e demais nutrientes podem ter influenciados desde a taxa de ingestão até a absorção de nutrientes. Já foram observadas alterações na excreção nitrogenada de outros moluscos quando estavam em ambientes com

altos níveis de contaminantes, como a ostra *Crassostrea gigas* (Jiang, et al, 2021) e o mexilhão azul *Mytilus edulis* (Xu et al, 2023).

Além disso, diferentes respostas fisiológicas em animais da mesma espécie que habitam diferentes ambientes podem ocorrer devido à plasticidade morfológica, bioquímica genética e comportamental. Por exemplo, ostras *Crassostrea virginica* coletadas em vários locais na Baía de Chesapeake são menos tolerantes a variações de salinidade que populações coletadas na Costa Atlântica. Tal diferença no grau de eurialinidade parece estar associada a diferenças no pool de aminoácidos dos músculos e branquiais das diferentes populações (Pierce et al., 1992).

Osmorregulação

De forma geral, é descrito que as ostras do gênero *Crassostrea* são osmoconformadoras, ou seja, não possuem capacidade de regular a osmolalidade da sua hemolinfa (Deaton, 2008). Animais osmoconformadores usam efetores osmóticos como os aminoácidos livres para manter o seu volume celular razoavelmente constante e em condições compatíveis com a vida (Capello et al, 2019). Ostras de ambiente evoluíram em um ambiente sujeito a grandes variação de salinidade, porém, poluentes como os metais podem afetar a sua homeostase osmótica (Amado et al., 2012, Morabito et al., 2013 , Torre et al., 2013) Por exemplo, ostras *C. rhizophorae* podem perder sua capacidade de regulação do volume celular quando expostas a ambientes contaminados (Nóbrega, 2018). Além disso, outros animais também alteraram sua capacidade osmorregulatória em função de poluente no meio em que estavam, como o peixe *Mugil cephalus* expostos ao níquel (Jasim et al, 2022) e o molusco *Barbatia*

decussate com presença de metais não essenciais em seus tecidos (Khoei, A., 2022).

No presente trabalho observamos que as ostras *C. brasiliiana* são capazes de osmorregular a osmolalidade da hemolinfa. As ostras coletadas na Baixada Santista em água salobra de 25S são isosmóticas ao meio externo mas aquelas mantidas durante três dias no laboratório com água produzida com sal marinho e considerada livre de poluentes tornaram-se hipo-osmorreguladoras. As ostras de cultivo de Cananéia mantidas em 20S hipososmorregularam a osmolalidade da hemolinfa em todas as situações experimentais. Esses são dados interessantes porque ostras são frequentemente caracterizadas como animais osmoconformadores e *C. brasiliiana* gasta energia oriunda da dieta para manter a osmolalidade da hemolinfa inferior à do meio externo. No entanto, no presente trabalho não conseguimos comparar a capacidade osmorregulatória das duas populações de *C. brasiliiana* porque as ostras foram coletadas em salinidade diferentes e isso deve afetar a osmolalidade da hemolinfa.

Concentração de Metais nas conchas de *C. brasiliiana*

Finalmente, observamos que a concentração de metais nas conchas das duas populações de *C. brasiliiana* são diferentes, sendo que as ostras coletadas em Cananéia possuem uma concentração de aproximadamente 36% maior. Embora seja difícil discutir sobre tais diferenças sem termos os resultados do corpo mole, sedimento e água – os quais estão em análise, algumas observações podem ser consideradas.

Segundo Tramonte, 2014, a mineração que ocorria na região até a década de 90 não possuíam controle sobre os possíveis impactos que poderiam gerar

no ambiente. Por exemplo, a usina mineradora Plumbum, que existia na região, lançou os resíduos da sua mineração nas águas do rio Ribeira durante aproximadamente 40 anos. Com isso, o material se depositou nos sedimentos da extensão no rio e estuário sem nenhum tipo de tratamento (Di Giulio et al, 2008). Desta forma, mesmo após 30 anos o fechamento dessas mineradoras, vestígios dos minérios que eram lançados na região ainda podem permanecer nas águas e sedimento e estando em contato com a biodiversidade, como as ostras. É importante salientar que, como são dados preliminares, não é possível fazer muitas comparações, já que, para a pesca e aquicultura são essenciais os dados de concentrações de metais presentes nos sedimentos, nas águas e, principalmente, nos tecidos dos animais, visto que é a parte utilizada na alimentação de humanos.

No geral, a poluição por metais pode afetar diretamente a produtividade e a maricultura em todo mundo, já que, caso a água utilizada no processo de produção esteja contaminada por esses metais, pode ocorrer perda da biodiversidade e a transmissão para os seres humanos através do consumo dos animais contaminados. Os metais possuem muitos efeitos negativos à saúde humana, como lesões prostáticas, fraturas ósseas, disfunção renal, hipertensão, anemia, cólica gastrointestinal e vários tipos de câncer (Zhao et al, 2012).

Conclusão

Concluimos que as diferentes populações de *C. brasiliensis* apresentam algumas características fisiológicas diferentes como consumo de oxigênio imediatamente após a coleta, excreção nitrogenada após manutenção em água

controle, perfil osmorregulatório e concentração de metais nas conchas. Destacamos que o elevado consumo de oxigênio em ostras recém coletadas da Baixada Santista pode estar relacionado ao estresse provocado pela captura dos animais. Isso indica que animais coletados em locais onde o manejo é menos estressante possa servir como melhores modelos para estudo da fisiologia de animais recém capturados. Também destacamos a presença da osmorregulação em *C brasiliiana*, uma característica pouco comum em ostras do gênero *Crassostrea*.

Referências

Almeida, JS, Meletti, PC, & Martinez, CB (2005). Efeitos agudos de sedimentos retirados de um córrego urbano sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos do peixe neotropical *Prochilodus lineatus*. *Biochemistry and Physiology Comparative Part C: Toxicology & Pharmacology* , 140 (3-4), 356-363. Camargo e Martinez, 2006

Azevedo , LD Salgado. Variação espacial e temporal da biodisponibilidade de metais na região estuarina do Complexo Estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia, sudeste do Brasil. *Rev. Agro. Emb.* , 12 (2019) , pp. 1043-1066 , 10.17765 / 2176-9168.2019v12n3p1043-1066

Camargo, M. M., & Martinez, C. B. (2006). Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. *Environmental toxicology and pharmacology*, 21(1), 61-69. Morabito et al., 2013

Cappello, T., Maisano, M., Giannetto, A., Natalotto, A., Parrino, V., Mauceri, A., & Spanò, N. (2019). Pen shell *Pinna nobilis* L.(Mollusca: Bivalvia) from different peculiar environments: adaptive mechanisms of osmoregulation and neurotransmission. *The European Zoological Journal*, 86(1), 333-342.

Catharino, MGM, Vasconcellos, MBA, Kirschbaum, AA et al. Estudo de biomonitoramento passivo e biomarcador de efeito em ostras *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819: Mollusca, Bivalvia) nos Estuários de Santos e Cananéia no Estado de São Paulo, Brasil. *J Radioanal Nucl Chem* 303 , 2297–2302 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10967-014-3720-y>

Deaton, L. (2008). Osmotic and ionic regulation in molluscs. In *Osmotic and Ionic Regulation* (pp. 107-133). CRC Press.[Sokolova et al., 2012](#)

DI GIULIO, G. M, PEREIRA, N. M., FIGUEIREDO, B. R. 2008. O papel da mídia na construção social do risco: o caso Adrianópolis, no Vale do Ribeira. *Hist. Cienc. Saúde-Man.*, v.15, n.2, p. 293-311.

Ding, J., Sun, C., He, C., Li, J., Ju, P., & Li, F. (2021). Microplastics in four bivalve species and basis for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Science of the Total Environment*, 782, 146830.

Do Amaral, V. S., & Simone, L. R. L. (2014). Revision of genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(4), 811-836.

El-Gendy, K. S., Gad, A. F., & Radwan, M. A. (2021). Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assessment: A review. *Environmental Research*, 193, 110558.

Fabra, M., Williams, L., Watts, J. E., Hale, M. S., Couceiro, F., & Preston, J. (2021). The plastic Trojan horse: Biofilms increase microplastic uptake in marine filter feeders impacting microbial transfer and organism health. *Science of the Total Environment*, 797, 149217.

Gimiliani, G.T., Fornari, M., Redígolo, M.M., Bustillos, J.O.W.V., Abessa, D.M.S., Pires, M.A.F., 2020. Simple and cost-effective method for microplastic quantification in estuarine sediment: A case study of the Santos and São Vicente Estuarine System. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 2, 100020. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100020>

Gouveia, N., Oliveira, C.R.M., Martins, C.P., Maranhão, L.A., Seabra Pereira, C.D., de Orte, M.R., Harayashiki, C.A.Y., Almeida, S.M., Castro, I.B., 2019. Can shell alterations in limpets be used as alternative biomarkers of coastal contamination? *Chemosphere* 224, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.122>

Jasim, S. A., Golgouneh, S., Jaber, M. M., Indiaminov, S. I., Alsaikhan, F., Hammid, A. T., ... & Norbakhsh, M. (2022). Effects of short-term exposure to the heavy metal, nickel chloride (NiCl₂) on gill histology and osmoregulation components of the gray mullet, *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 258, 109361.

Kershaw, P. (2015). *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment*. International Maritime Organization.

Khoei, A. J. (2022). Seasonal heavy metal accumulations in the bivalve *Barbatia decussata* and their relationships with water quality and the metal-induced

biochemical biomarkers. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(11), 16103-16112.

Lannig, G., Flores, J. F., & Sokolova, I. M. (2006). Temperature-dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: pollution reduces temperature tolerance in oysters. *Aquatic toxicology*, 79(3), 278-287.

Liu, J., Cao, L., & Dou, S. (2019). Trophic transfer, biomagnification and risk assessments of four common heavy metals in the food web of Laizhou Bay, the Bohai Sea. *Science of the total environment*, 670, 508-522.

Madgett, AS, Yates, K., Webster, L., McKenzie, C., & Moffat, CF (2021). A concentração e biomagnificação de metais traço e metalóides em quatro níveis tróficos em uma rede alimentar marinha. *Boletim de Poluição Marinha*, 173, 112929.

Markich, SJ (2021). Sensibilidade embrionária/larval comparativa de bivalves marinhos australianos a dez metais: uma disjunção entre fisiologia e filogenia. *Science of The Total Environment*, 789, 147988.

Morabito, R., Marino, A., & La Spada, G. (2013). Heavy metals affect regulatory volume decrease (RVD) in nematocytes isolated from the jellyfish *Pelagia noctiluca* Part A Molecular & integrative physiology.

Mukherjee, AG; Wanjari, UR; Renu, K.; Vellingiri, B.; Gopalakrishnan, AV Metal pesado e toxicidade reprodutiva induzida por metalóides. *Ambiente. Tóxico. Pharmacol.* **2022**, 92, 103859.

Nóbrega, A. M. C. S. N. Capacidade de regulação de volume celular de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) de dois ambientes estuarinos da paraíba. Trabalho de

Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Ciências Biológicas do Campus V da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Área de concentração: Fisiologia Animal Comparada. João Pessoa, 2018.

Oyarzún, PA, Toro, JE, Nuñez, JJ, Suárez-Villota, EY, & Gardner, JP (2021). Mexilhões azuis do complexo de espécies *Mytilus edulis* da América do Sul: A aplicação de modelos de delimitação de espécies à variação de sequências de DNA. *PloS um* , 16 (9), e0256961.

Ribeiro, V.V., Harayashiki, C.A.Y., Ertaş, A., Castro, Í.B., 2021a. Anthropogenic litter composition and distribution along a chemical contamination gradient at Santos Estuarine System—Brazil. *Regional Studies in Marine Science* 46, 101902. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101902>

Sokolova, I. M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G., & Sukhotin, A. A. (2012). Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine environmental research*, 79, 1-15.

Tan, K., Sun, Y., Zhang, H., & Zheng, H. (2022). Efeitos da proliferação de algas nocivas sobre a imunidade fisiológica, e resistência ao estresse ambiental dos bivalves: foco especial no envenenamento paralítico por moluscos e envenenamento diarrético por moluscos. *Aquicultura* , 739000.

Torre, A., Trischitta, F., & Faggio, C. (2013). Effect of CdCl₂ on regulatory volume decrease (RVD) in *Mytilus galloprovincialis* digestive cells. *Toxicology in Vitro*, 27(4), 1260-1266. Deton, 2008

Velusamy, Sasireka, et al. "A review on heavy metal ions and containing dyes removal through graphene oxide-based adsorption strategies for textile wastewater treatment." *The Chemical Record* 21.7 (2021): 1570-1610.

Wang, X.; Wang, W. Os três 'B' de mercúrio de peixe na China: Bioacumulação, biodinâmica e biotransformação. *Ambiente. Poluir.* **2019** , 250 , 216–232.

Xu, M., Zhang, Y., Cao, S., Li, Y., Wang, J., Dong, H., & Wang, Y. (2023). A simulated toxic assessment of cesium on the blue mussel *Mytilus edulis* provides evidence for the potential impacts of nuclear wastewater discharge on marine ecosystems. *Environmental Pollution*, 316, 120458.

Zha, S., Tang, Y., Shi, W., Liu, H., Sun, C., Bao, Y., & Liu, G. (2022). Impacts of four commonly used nanoparticles on the metabolism of a marine bivalve species, *Tegillarca granosa*. *Chemosphere*, 296, 134079.