

LUCILLY LUIZA SANTOS

Os efeitos combinados de *heat waves* e microplásticos sobre a fisiologia de um caranguejo (*Leptuca uruguayensis*) estuarino

São Vicente, SP
2024

LUCILLY LUIZA SANTOS

Os efeitos combinados de *heat waves* e microplásticos sobre a fisiologia de um caranguejo (*Leptuca uruguayensis*) estuarino

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel, junto ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas com habilitação em Gerenciamento Costeiro, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus do Litoral Paulista.

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Silva Augusto

Coorientadora: Me. Juliana Rodrigues da Costa

São Vicente, SP
2024

S237e

Santos, Lucilly Luiza

Os efeitos combinados de heat waves e microplásticos sobre a fisiologia de um caranguejo (*Leptuca uruguayensis*) estuarino / Lucilly Luiza Santos. -- São Vicente, 2024

30 p.

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

Orientadora: Alessandra da Silva Augusto

Coorientadora: Juliana Rodrigues da Costa

1. Aquecimento global. 2. Crustáceos. 3. Poluente. 4. Temperatura. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a todas as mulheres de minha família, em especial à minha mãe Jussara Aparecida, minha avó Aparecida Penha e minhas tias Cátia, Sônia e Simone, por serem pilares e fonte inesgotável de amor e inspiração para mim.

Agradeço a meu pai, José Antônio, a meu padrasto, Domício Freitas, e a meus irmãos Vinícius e Matheus, por todos os momentos de descontração, risadas e carinho imenso.

Agradeço à professora Alessandra por me acolher em seu laboratório durante todo o tempo, e por todo o apoio e atenção que me foi depositado durante a execução do projeto.

Agradeço imensamente aos queridos amigos do Laboratório de Aquicultura Sustentável: Bárbara, Beatriz, Héllen, Matheus, Emanuelle e Juliana por todo o suporte emocional, inesgotáveis horas de companhia, risadas, pausas do café da tarde e por me inspirarem durante todo o tempo, muito obrigada por toda a luz que me foi fornecida durante todo o tempo.

Agradeço aos amigos de vida que fiz na UNESP, e que tornaram minha jornada mais leve e feliz: Ana Louzã, Ana Clara, Andressa, Bruno, Caio, Gabriel, Júlia, Laura, Manuela, Pietra, Stella, Thomas e Vitor Lopes.

Agradeço a minhas queridas amigas de São Paulo, Gabi e Helô, por todo o suporte e por sempre acreditarem em mim.

Agradeço a UNESP por todo o suporte para a realização do trabalho, e pela formação. Por fim, agradeço a Deus e a todos os companheiros de luz que me guiaram durante a vida, e a mim, por minha ambição e vontade.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3. RESULTADOS	14
3.1 Mortalidade	14
3.2 Consumo de Oxigênio	14
3.3 Excreção de Amônia	14
3.4 Índice hepatossomático, hidratação do tecido e osmolalidade da hemolinfa	15
4. DISCUSSÃO	16
Mortalidade de <i>L. uruguayensis</i>	16
Consumo de oxigênio e excreção de amônia	17
Osmolalidade e Índice hepatossomático	19
5. CONCLUSÃO	20
6. BIBLIOGRAFIA	20

1. Resumo

A ocorrência de ondas de calor no ambiente aquático tem se tornado cada vez mais frequente no mundo, sendo consideradas uma das principais ameaças decorrentes do aquecimento global. O aumento na temperatura da água e do ar afeta diretamente as regiões costeiras, impactando a fisiologia de diversas espécies que dependem dessas condições para a manutenção de sua sobrevivência. Paralelamente, a contaminação por microplásticos também representa uma séria ameaça aos manguezais, já que essas partículas de origem antrópica podem penetrar nos tecidos e órgãos dos organismos que habitam esse ambiente, provocando diversas alterações na homeostase desses seres. Dados recentes demonstram que, quando em conjunto a temperaturas extremas, os microplásticos causam efeitos negativos nas funções fisiológicas das espécies expostas. No presente estudo, investigamos os efeitos combinados das *Heat waves* e do microplástico do tipo PET na fisiologia do caranguejo estuarino *Leptuca uruguayensis*. Os animais foram expostos a duas temperaturas (27 e 31 °C) e concentrações de microplásticos (40 mg/L e 0mg/L de microplástico). Os animais controles permaneceram na temperatura de 27°C e água livre de microplástico. Após 10 dias de exposição, nós avaliamos uma malha de processos fisiológicos (metabolismo, excreção nitrogenada, osmorregulação, índice hepatossomático e grau de hidratação do tecido). Nós não observamos mortalidade nos animais. Também não foram vistas diferenças estatísticas significativas no consumo de oxigênio dos crustáceos. No entanto, as alterações na excreção de amônia (cerca de 83%), no índice hepatossomático (50%) e a perda da capacidade osmorregulatória ocorreram apenas nos animais expostos ao microplástico e à temperatura de 31°C, uma simulação de heat wave. Tais alterações citadas indicam que o microplástico, quando em combinação aos eventos de temperatura extrema, possuem grande capacidade de alterar a homeostase de *Leptuca uruguayensis*. Aqui tais alterações estão relacionadas à energética e a capacidade osmorregulatória, um dos principais parâmetros fisiológicos que determina a distribuição das espécies na natureza.

Palavras-chave: Aquecimento global, Crustáceos; Poluente; Temperatura.

2. ABSTRACT

The presence of heat waves in the aquatic environment has become increasingly frequent worldwide, and is considered one of the threats generated by global warming. The increase in water and air temperature affects coastal regions, affecting the physiology of several species that inhabit and depend on this important factor for the maintenance of their life. At the same time, contamination by microplastics also presents a threat to mangroves, since these particles from anthropic sources penetrate into tissues and organs of organisms resident in the environment, bringing a range of changes in homeostasis of the inhabitants of the site. Recent data show that when combined with extreme temperatures, microplastics cause negative effects on the physiological functions of exposed species. In the present study, we investigated the combined effects of heat waves and PET microplastic on the physiology of the estuarine crab *Leptuca uruguayensis*. The animals were exposed to three treatments (27°, 40 mg/L of microplastic; 31° and 0 mg/L; 31° and 40 mg/L) and control group (27° and 0 mg/L) for 10 days, where we evaluated several physiological processes (metabolism, nitrogen excretion, osmoregulation, hepatosomatic index and degree of tissue hydration). We did not observe mortality in the animals. Nor were significant statistical differences in oxygen consumption of crustaceans. However, the changes in ammonia excretion (about 83%), hepatosomatic index (50%) and loss of osmoregulatory capacity occurred only in animals exposed to microplastic and temperature of 31° C, a heat wave simulation. These changes indicate that the microplastic, when combined with extreme temperature events, have great ability to alter the homeostasis of *Leptuca uruguayensis*. Here such changes are related to the energetic and the osmoregulatory capacity, one of the main physiological parameters that determines the distribution of species in nature.

Keywords: Global warming; Crustacean; Pollution; Temperature.

1. INTRODUÇÃO

Os manguezais são ambientes de transição relevantes em diversos aspectos dado suas propriedades climáticas e ecológicas. Dentre tais características destacam-se a assimilação de carbono atmosférico (Santos, 2021), o fornecimento de serviços ecossistêmicos tais como a pesca, o turismo local, a proteção da zona costeira (Dias, 2024) e a capacidade de guarnecer verdadeiros berçários para a prole de diversos organismos aquáticos (Aguiza et al., 2024). Os manguezais sofrem os efeitos da ação antropomórfica por serem um ecossistema localizado próximo a regiões urbanas. Dentre os desafios, podemos elencar a poluição por microplásticos e as ondas de calor, conhecidas como "heat waves", intensificadas em decorrência do aquecimento global (Smale et al., 2019). Atualmente, não há um consenso que aborde, de maneira universal, a definição das ondas de calor (Raha e Ghosh., 2020), no entanto, pode-se entender uma *heat wave* como uma anomalia climática, que apresenta como principal característica o aumento da temperatura local por um determinado período de tempo (Kotharkar e Ghosh., 2021)

De acordo com o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2023) as ondas de calor estão sendo registradas com maior frequência a cada ano, inclusive em ambientes aquáticos, sendo um fator de preocupação relevante para as espécies que habitam zonas estuarinas e costeiras, especialmente os organismos ectotérmicos. Tratam-se de animais que dependem do ambiente externo para regular a temperatura corporal e estão constantemente em seu limite térmico porque são comumente expostos a variações de temperatura extremas (Leung et al., 2023). Marochi et al., (2022) verificaram que a superfície da água da região costeira do município de São Vicente, SP, sofreu um aumento de 0,85°C nos últimos 38 anos, denotando que, ainda que as espécies possam ter plasticidade adaptativa. O constante aumento da temperatura, somado aos períodos de ondas de calor intensas que atingem a região costeira, podem prejudicar a capacidade de adaptação das espécies, expondo-as aos efeitos das mudanças climáticas (Vienna, 2020).

Os dados da literatura mostram que vários parâmetros fisiológicos podem ser afetados por temperaturas extremas, dentre eles destacam-se o metabolismo, a excreção nitrogenada e o crescimento. Capparelli et al., (2024) demonstraram que durante um evento de heat wave, o caranguejo de mangue *Leptuca speciosa*

apresentou comportamento de agregação, e em condições laboratoriais, apresentou limites térmicos que variaram entre 40,2° e 42°, resistência térmica considerada insuficiente para suportar as temperaturas extremas. Monteiro et al., (2023) verificaram que as ondas de calor causam maiores danos, e maior mortalidade em organismos larvais e juvenis. Ainda, um estudo de Pham et al., (2023) demonstraram que, quando expostos ao efeito de ondas de calor, o mexilhão *Mytilus californianus* demonstrou entraves nas funções digestivas do corpo, apresentando menor atividade enzimática de amilase e digestão de carboidrase durante o período de exposição (Pham et al., 2023).

Além das mudanças climáticas, os manguezais estão sujeitos a outros tipos de poluentes, como a presença de microplásticos (Meera et al., 2021). Os microplásticos são tidos como o produto da degradação do plástico, classificado em duas categorias principais de acordo com o tamanho e destinação, sendo microplásticos primários e secundários (Pisani et al., 2022). Os microplásticos primários são aqueles propositalmente criados com o tamanho original (1–5000 µm) e adicionados em produtos de consumo como cosméticos, corantes e fibras (Tagg e Ivar., 2019; Geng et al., 2024). Microplásticos secundários são provenientes de fontes primárias degradadas, tais como sacolas, garrafas plásticas, equipamentos de proteção individual (EPI), máscaras protetoras etc. (Abassi et al., 2020). O plástico é capaz de se degradar em partículas menores devido a ação dos ventos, ondas, raios UV etc. (Abrusci et al., 2022). Ainda, estes plásticos podem ser degradados em partículas menores, conhecidas como nanoplásticos, cujo tamanho é inferior a 1 µm (Stapleton, 2021). Essas partículas adentram os corpos aquáticos principalmente por conta de atividades humanas, como a pesca, aquicultura, turismo etc. (Duis e Coors., 2016).

Estudos têm demonstrado que o microplástico é capaz de afetar a fisiologia de diversas espécies. Em *Daphnia carinata* a exposição ao microplástico induz apoptose, estresse oxidativo, danos mitocondriais e alta mortalidade (Jiang et al., 2023). No camarão marinho *Penaeus vannamei* a exposição a micro-fibras (MF's) de plástico do tipo PET (0, 50, e 500 MFs/ml) induz lesões no hepatopâncreas e estresse oxidativo (Hsieh et al., 2021; Songsak et al., 2022). Em *Artemia parthenogenetica*, o microplástico inibe a taxa de crescimento e causa alterações na microbiota intestinal (Li et al., 2021). No caranguejo *Minuca ecuadoriensis* o inseticida malatião tem sua toxicidade aumentada pelo microplástico polietileno, causando alta mortalidade (Villegas et al., 2022). Dentre os órgãos afetados pela

presença de microplásticos, as brânquias se destacam como um dos mais notáveis. Truchet et al., (2023) verificou que as brânquias foram o órgão que mais apresentou acúmulo de partículas plásticas em caranguejos, como *Leptuca uruguayensis*, *Leptuca festae*, *Minuca equadoriensis*, *Macrophthalmus convexus*, dentre outros, destacando-se fibras de plástico das classes Polipropileno (PP), Poliamida (PA) e Politereftalato de etileno (PET), o que sugere que os crustáceos acumularam microplásticos do tipo denso em maior quantidade. Considerando que os microplásticos comumente lesionam o tecido branquial (Ding et al., 2018), é esperado que as múltiplas funções exercidas por esse órgão sejam comprometidas, uma vez que as brânquias são órgãos que possuem papel indispensável na manutenção de diversos processos fisiológicos, atuando na osmorregulação da hemolinfa, excreção de compostos nitrogenados, transporte iônico e regulação ácido-base. (Freire et al., 2008).

Os caranguejos-chama-marés são conhecidos como engenheiros ecossistêmicos porque revolvem o substrato dos manguezais em um processo conhecido como bioturbação, alterando a distribuição da matéria orgânica e promovendo dessa maneira a produtividade do solo (Capparelli et al., 2022). No litoral de São Paulo, *Leptuca uruguayensis* ocorre, predominantemente, em áreas sombreadas pela vegetação local, o que conseqüentemente as mantém protegidas do sol e da dessecação causada por altas temperaturas (Checon e Costa., 2017). Da Silva Vianna et al., (2020) verificaram por meio de análises fisiológicas, que o consumo de oxigênio e excreção de amônia de *L. uruguayensis* são parâmetros que foram consideravelmente mais afetados por temperaturas altas que os parâmetros de *Leptuca leptodactyla*, uma outra espécie de chama-maré simpátrica. Os autores sugerem que tal vulnerabilidade se deve ao microhabitat que esses animais habitam, uma vez que no local de coleta observado, o caranguejo *L. uruguayensis* estava localizado em locais cobertos, sugerindo então que o animal era protegido da ação do sol devido a vegetação local.

As partículas de microplástico representam ameaça, não somente devido sua capacidade de lesionar ou obstruir tecidos e órgãos, mas porque, quando em contato com altas temperaturas, o microplástico é capaz de impulsionar seus efeitos na fisiologia dos organismos, como demonstrado em pepinos-do mar da espécie *Holothuria cinerascens* (Iwavalaye et al., 2021), crustáceos (Yin et al., 2022), peixes (Wootton et al., 2021), e outras. Notando que, os efeitos da toxicidade causada pela poluição de microplásticos na fisiologia de animais aquáticos e semi-terrestres

podem ser alavancados em decorrência de variações climáticas, incluindo eventos de *heat waves*, observar estes efeitos combinados e quais suas consequências na fisiologia das espécies torna-se necessário. Para tanto, neste trabalho, avaliamos o efeito de temperaturas elevadas referentes às ondas de calor extremas (*heat waves*) e microplásticos do tipo tereftalato de polietileno (PET) na fisiologia (metabolismo, excreção e osmorregulação) de *Leptuca uruguayensis*, um caranguejo habitante de regiões estuarinas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta, transporte e aclimação

Cerca de 44 caranguejos machos foram coletados de maneira aleatória no Portinho, situado na Praia Grande, SP (23°59'26.0"S 46°24'19.2"W) e transportados em caixas contendo água do local de coleta e aeração constante para o Laboratório de Aquicultura Sustentável do Instituto de Biociências, (UNESP) localizado em São Vicente, SP(23°58'16.7"S 46°23'40.4"W). As coletas ocorreram durante o final do mês de junho, em eventos de maré baixa. Para as coletas, utilizamos o método de escavação das tocas dos animais, com auxílio de pás.

Os animais foram aclimatados durante quatro dias visando a redução do estresse causado pelo transporte e manipulação. Durante o período de aclimação, os caranguejos foram distribuídos em 4 aquários, com 6 litros em cada, contendo aeração, salinidade (30S) e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro. Os animais foram mantidos em temperatura ambiente do laboratório, tanto no ar, quanto na água. Durante esse período, foram alimentados com ração comercial para camarão (Guabi) com 40% de proteína bruta uma vez ao dia. Foram selecionados 11 indivíduos para cada experimento (N=11), com peso médio de $157 \pm 5,58$ mg.

3.2 Exposição dos animais ao microplástico e diferentes temperaturas

Após o período de aclimação os animais foram transferidos para aquários contendo 6 litros de água na mesma salinidade do local de coleta (30 S), sob aeração constante e com acesso ao ambiente aéreo por meio de tijolos espalhados dentro dos aquários. As temperaturas foram obtidas e controladas com uso do equipamento full gauge(Mt-512e 2Hp) acoplados a termostatos (Hopar Quartz

H-386). Cada aquário comportou 11 caranguejos. Os animais foram divididos em quatro tratamentos:

G1 (controle): temperatura de 27° e 0 mg/L microplástico

G2: temperatura de 27° e 40 mg/L microplástico

G3: temperatura de 31° e 0 mg/L microplástico

G4: temperatura de 31° e 40 mg/L microplástico

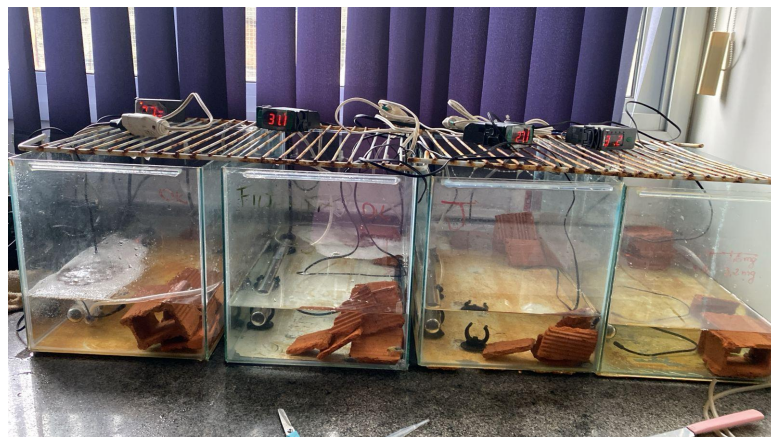


Figura 1: Imagem dos tratamentos do experimento, demonstrando que os animais possuíam acesso ao ambiente aéreo.

O período experimental foi de 10 dias e o microplástico utilizado foi o polietileno tereftalato (PET) (Polysciences, Inc). A água dos aquários foi filtrada em uma bomba a vácuo de ar comprimido (Prismatec). Durante esse período os animais foram alimentados com ração comercial para camarão (Guabi, 40% de proteína bruta) uma vez ao dia. A temperatura escolhida para a exposição dos animais foi baseada em amostragens vistas em campo dura, durante eventos de ondas de calor, e de dados do IPCC (2023). As concentrações de microplástico escolhidas foram baseadas em concentrações que são encontradas na natureza (Yu Ping et al., 2018)

3.3 Análises Fisiológicas

A) Avaliação da Taxa de Mortalidade

A sobrevivência dos animais foi verificada durante os 10 dias subsequentes do experimento, duas vezes ao dia, entre 08:00 e 18:00. O critério para a taxa de mortalidade seguiu a metodologia de Cowles e Bogert (2006) onde um caranguejo

seria considerado morto caso não conseguisse se endireitar durante 30 segundos após ser virado de cabeça para baixo, ou permanecesse imóvel após uma perturbação com o uso de pinças.

B) Avaliação do Consumo de Oxigênio

Ao final de 10 dias de exposição, os animais foram colocados individualmente em câmaras respirométricas contendo 50 mL de água na mesma temperatura e salinidade do tratamento, e então, submetidos a um período de aclimação de 30 minutos com aeração constante, visando reduzir o estresse causado pelo manejo. Esse é o período suficiente de aclimação à câmara a fim de que o consumo de oxigênio e excreção de amônia não sejam alterados devido ao estresse de manipulação (Vianna et al., 2020). Após este período, a aeração foi removida e o oxigênio foi medido com auxílio de um oxímetro (monitor e probe YSI, modelos 53 e 5905, respectivamente) e então, as câmaras foram seladas. Após 4 horas a concentração de oxigênio foi medida novamente, e então, o consumo de oxigênio foi avaliado pela relação inicial e final dos valores obtidos, de acordo com a seguinte fórmula: $TR = \{[(Co - Cf) \cdot V/\Delta T] - f\}MS$

Onde,

TR: taxa respirométrica ($\mu g O_2/mg MS/h$)

Co: concentração inicial de oxigênio na câmara ($ml O_2 /l$)

Cf: concentração final de oxigênio na câmara ($ml O_2 /l$)

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)

C) Análise de Excreção de Amônia

A excreção de amônia foi avaliada pelo método de colorimetria (Koroleff, 1983), em amostras de água obtidas das câmaras respirométricas (~50 mL) ao final dos experimentos de consumo de oxigênio mencionados acima. A análise da concentração de amônia total foi conduzida pela comparação dos resultados entre as amostras e a câmara de controle, que não contém nenhum animal. A quantificação da concentração de amônia foi realizada utilizando a técnica colorimétrica descrita por Koroleff (1983).

O consumo de oxigênio e a excreção de amônia total foram apresentados em termos de taxas individuais, expressas em gramas por indivíduo por hora ($\text{g ind}^{-1} \text{h}^{-1}$), e em termos de massa seca específica, que é a quantidade de miligramas por grama de peso seco por hora ($\text{mg g}^{-1} \text{peso seco h}^{-1}$).

Posteriormente, os animais foram eutanasiados em gelo. Foram retiradas as brânquias e o hepatopâncreas para futuras análises histológicas e enzimáticas e, em seguida, foram pesados e mantidos em estufa a 60°C por 48 horas. Foram então pesados novamente, para obtenção do peso seco.

D) índice hepatossomático

O hepatopâncreas dos caranguejos foi dissecado e pesado, colocado em estufa a 60°C durante 48h e pesado novamente. O restante do corpo também foi secado e pesado. O índice hepatossomático (IHS) foi avaliado pela fórmula abaixo:

$$\text{IHS} = (\text{peso do órgão seco}) / (\text{peso seco do animal}) \times 100$$

E) Hidratação do tecido

Os valores de hidratação tecidual dos animais referem-se ao músculo retirado do quelípodo maior dos animais. Uma porção foi dissecada com auxílio de pinças histológicas e colocada em papel alumínio pesado previamente. Posteriormente, o excesso de umidade do músculo removido foi retirado com papel absorvente, e a amostra foi pesada em uma balança de precisão (Bel engineering, modelo: S2202H). As amostras foram secas em estufa por 48 h, a 60°C , e então, foram pesadas novamente. A diferença entre o peso úmido e seco correspondeu à hidratação tecidual (em percentual).

F) Análise de osmolalidade da hemolinfa e capacidade osmorregulatória

Após a eutanásia por congelamento, com auxílio de seringas de insulina, foram retirados cerca 20 μl de hemolinfa da base do quelípodo de *L. uruguayensis*. A osmolalidade da hemolinfa foi medida em amostras de 10 μl em um

micro-osmômetro de pressão a vapor (Wescor, Modelo 5500). Os resultados são apresentados em mOsm/Kg água.

4.4 Análise estatística

Os efeitos da temperatura e do microplástico na fisiologia foram avaliados por uma ANOVA de 2 fatores (temperatura e concentração de microplástico). Para localizar as médias estatisticamente diferentes foi utilizado o teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK). Optando por um nível de significância mínimo de $p \leq 0,05$, as análises foram conduzidas utilizando o software Sigmastat 3.5. A apresentação das figuras foi elaborada com base nos dados integrados ao programa Graphpad, mantendo o nível de significância estipulado em $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Mortalidade

Não houve nenhuma mortalidade dos animais durante os 10 dias do experimento, em nenhum dos tratamentos.

3.2 Consumo de Oxigênio

O consumo de oxigênio em *L. uruguayensis* não apresentou alterações com diferenças estatísticas significativas em nenhum dos tratamentos aos quais os animais estavam expostos (Figura 1).

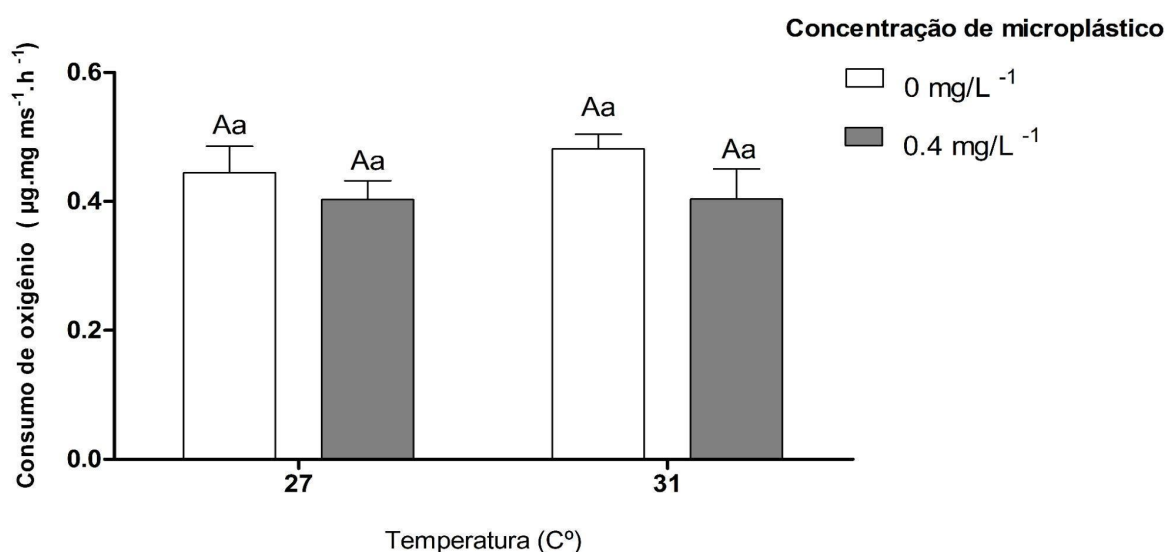


Figura 1: Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) de *Leptuca uruguayensis* mantidos em diferentes temperaturas (27° e 31°) e concentração de microplástico (0 e 40 mg/L). Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os animais mantidos na mesma temperatura. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre animais mantidos em diferentes temperaturas e mesma concentração de microplástico.

3.3 Excreção de Amônia

Embora em animais expostos a 31°C exista uma tendência à redução da excreção nitrogenada após a exposição ao microplástico (Figura 2), essa diferença não foi confirmada estatisticamente. Entretanto, ao comparar apenas os animais expostos ao microplástico, observou-se uma redução de 83% na excreção nitrogenada em 31 °C.

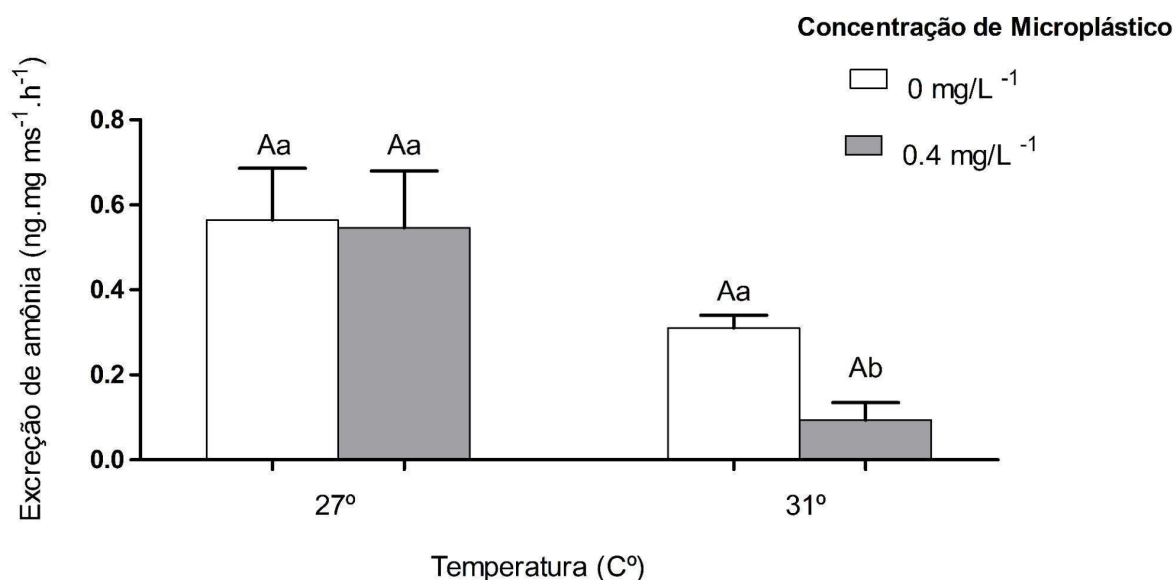


Figura 2: Excreção de amônia (ng mg^{-1} massa seca h^{-1}) de *Leptuca uruguayensis* mantidos em diferentes temperaturas (27 e 31°) e concentração de microplástico (0 e 40 mg/L). Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os animais mantidos na mesma temperatura. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre animais mantidos em diferentes temperaturas e mesma concentração de microplástico.

3.4 Índice hepatossomático, hidratação do tecido e osmolalidade da hemolinfa

Em animais expostos a 31°C o índice hepatossomático sofreu redução de aproximadamente 50% (Tabela 1). Embora o grau de hidratação do tecido muscular não tenha apresentado diferenças, a osmolalidade da hemolinfa aumentou no tratamento em que foram expostas à *heat waves* (31°C) e microplásticos (40 mg/L), o que os aproximou da osmoconformidade e perda da capacidade osmorregulatória. Nos animais mantidos a 31°C sem a presença do microplástico a capacidade osmorregulatória foi de $772,3 \pm 20,84$., passando a $901,3 \pm 20,84$ após exposição ao poluente.

Tabela 1: Índice hepatossomático, osmolalidade da hemolinfa (mOsm/kg água) e grau de hidratação (%) do tecido muscular de *Leptuca uruguayensis* exposta a diferentes concentrações de microplástico e temperaturas por 10 dias. Os dados são apresentados como Média ± Erro Padrão.

	27°C		31°C	
	0 mg/L	40 mg/L	0 mg/L	40 mg/L
Índice Hepatossomático	$1,7 \pm 0,3^{Aa}$	$2,4 \pm 0,3^{Aa}$	$2,1 \pm 0,2^{Aa}$	$1,0 \pm 0,3^{Bb}$
Hidratação	$76,3 \pm 3,2^{Aa}$	$67,1 \pm 3,7^{Aa}$	$70,4 \pm 3,2^{Aa}$	$73,8 \pm 2,8^{Aa}$
Osmolalidade	$874 \pm 25,52^{Aa}$	$824,7 \pm 20,84^{Aa}$	$772,3 \pm 20,84^{Aa}$	$901,3 \pm 20,84^{Bb}$

Osmolalidade da água (30S): 930 mOsm/Kg água. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os animais mantidos na mesma temperatura. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre animais mantidos em diferentes temperaturas e mesma concentração de microplástico.

4. DISCUSSÃO

A poluição por microplásticos e as alterações climáticas têm sido importante objeto de estudo, devido ao crescente risco que oferecem para as mais diversas esferas biológicas (Sunil et al., 2024). Aqui nós verificamos que os microplásticos

afetam a fisiologia de *L. uruguayensis* principalmente quando os animais são expostos à temperatura de 31°C. Dentre os mecanismos afetados estão o metabolismo, a excreção nitrogenada, o índice hepatossomático e a osmolalidade da hemolinfa, parâmetros importantes relacionados à energética e distribuição das espécies na natureza.

Mortalidade de *L. uruguayensis*

Leptuca uruguayensis é uma espécie estuarina que enfrenta diferentes alterações abióticas em seu habitat natural. Apesar de verificarmos alterações em vários parâmetros fisiológicos após exposição ao microplástico e/ou temperatura, não foram registradas mortes durante os 10 dias do experimento. Visto que a região de coleta constitui ambientes degradados por ações antrópicas, podemos hipotetizar que os animais coletados já possuísem alguma adaptação para lidar com os agentes estressores aos quais foram submetidos. Em relação a exposição a microplásticos, alguns dados semelhantes foram encontrados por Pichardo-Casales et al., (2024), que demonstraram que a exposição por 56 dias ao microplástico do tipo Polietileno não causou mortalidade em *Minuca rapax*, um caranguejo chama-maré também habitante de manguezais. Os autores teorizaram que a baixa mortalidade pode ser explicada devido a rapidez com que as partículas do contaminante eram eliminadas nas fezes e no exoesqueleto durante a ecdise, ainda que houvesse danos ao sistema digestório. Outros estudos apontam que o microplástico por si, também não causou a mortalidade em diferentes crustáceos, como demonstram Brennecke et al., (2015) com o caranguejo *M. rapax*, Villegas et al., em 2022, utilizando o crustáceo *Minuca equadoriensis* e Capparelli et al., (2023) com o caranguejo *Minuca vocator*.

Os efeitos de ondas de calor também podem afetar os organismos em vários níveis da organização biológica incluindo a desnaturação proteica (Mora et al., 2001). Neste trabalho, não foram obtidas mortalidades de *L. uruguayensis* nos tratamentos expostos às ondas de calor. Dados semelhantes foram observados no estudo de Madeira et al., (2018), em que os crustáceos costeiros expostos aos efeitos de *heat waves* não apresentaram mortalidades. Siegle et al., (2022) também observou que o copépodo *Tigriopus californicus* quando exposto aos efeitos das *heat waves* também não apresentaram mortalidades, no entanto, os autores ressaltaram a gravidade dos impactos subletais que as ondas de calor possuíam

sobre a fisiologia dos animais, uma vez que obtiveram como resultado uma menor reprodução, com menos náuplios por ninhada. Desta maneira, é possível inferir que, mesmo com a ausência de mortalidades, as ondas de calor e a presença de microplásticos causam impactos na fisiologia dos crustáceos, ainda que não ocorra a mortalidade por si.

Consumo de oxigênio e excreção de amônia

Microplásticos e elevadas temperaturas podem afetar o metabolismo de crustáceos (Vianna et al., 2020; Zhang et al., 2023). O metabolismo é caracterizado como o conjunto total de reações que ocorrem no corpo de um organismo, onde a energia resultante é armazenada em formado de adenosina trifosfato (ATP), que é utilizada para a manutenção de diversos processos fisiológicos dos organismos (De Nava e Raja., 2022). A taxa metabólica dos animais pode ser inferida por meio do consumo de oxigênio, este que, em resposta a situações estressoras, pode ser alterado, aumentando ou reduzindo a sua de consumo (Ramaglia et al., 2018).

Neste trabalho, não observamos alterações estatísticas no consumo de oxigênio de *L. uruguayensis* em nenhum dos tratamentos aos quais estavam expostos. A taxa metabólica dos animais foi mensurada simulando um ambiente de maré alta, logo, os animais encontravam-se submersos. São escassos os trabalhos que abordam mecanismos de ajuste das taxas metabólicas de caranguejos com respiração bimodal (Vianna et al., 2018). Em seu estudo, Henry (1994) aponta que os crustáceos que possuem respiração aérea facultativa apresentam facilidade em manter a captação de oxigênio de maneira eficiente fora do ambiente aquático por curtos períodos de tempo, no entanto, conforme a exposição ao ar é prolongada, os animais começam a consumir seus estoques de hemolinfa. Como observamos que *L. uruguayensis* apresentou queda na capacidade osmorregulatória, podemos inferir a hipótese de que estes animais, devido estresse causado pelos tratamentos, direcionaram a energia, outrora disponível, para processos vitais, como a manutenção do metabolismo basal e do consumo de oxigênio, em detrimento da homeostase osmótica.

A amônia é um composto altamente tóxico excretado pelas brânquias dos organismos aquáticos, cuja origem é proveniente do catabolismo de aminoácidos e proteínas. Microplástico e temperaturas elevadas podem afetar o metabolismo e a

ingestão proteica e, conseqüentemente, a excreção nitrogenada (Vianna et al., 2018; Zhang et al., 2023). Além disso, alterações na osmorregulação podem afetar o catabolismo de aminoácidos livres porque estes são usados como efetores osmóticos (Augusto et al., 2007). Aqui nós observamos que *L. uruguayensis* apresentou reduções na excreção de amônia dos tratamentos em que estavam expostas aos efeitos dos microplásticos e altas temperaturas. Efeitos semelhantes foram observados em outros crustáceos, em que altas temperaturas induziram uma menor excreção de amônia como *Daphnia magna* (Nash et al., 2022), *Leptuca uruguayensis* e *L. leptodactyla* (Vianna et al., 2020). É possível que, além da possibilidade do microplástico ter danificado o tecido branquial responsável pela excreção, a temperatura também tenha sido um fator limitante porque altas temperaturas impõem desafios fisiológicos aos organismos, muitas vezes, limitando suas taxas metabólicas e, conseqüentemente, a produção de resíduos metabólicos (Lefevre., 2016). Além disso, os animais perderam a capacidade osmorregulatória quando expostos ao microplástico e temperatura elevada, o que os torna osmoconformadores dependentes de aminoácidos livres para a osmorregulação. A literatura tem mostrado que alterações ambientais decorrentes de mudanças climáticas como acidificação oceânica (Ramaglia et al., 2018), temperatura elevada (Principe et al., 2018) e poluentes (Capparelli et al., 2023) podem afetar a capacidade dos animais osmorregularem. A perda da capacidade osmorregulatória de *L. uruguayensis* exposta ao microplástico e à temperatura de 31°C sugere que houve uma redução da capacidade de secreção de íons através das membranas semi-permeáveis, tornando-a uma espécie osmoconformadora. Nesse sentido, animais osmoconformadores são dependentes da regulação do volume celular para evitar fluxos de água e íons em seu corpo e em crustáceos os aminoácidos livres são os principais efetores osmóticos deste processo (Augusto et al., 2007; Podblieski et al., 2022). A perda da capacidade osmorregulatória implica maior gasto energético com a regulação do volume celular em comparação aos animais que possuem capacidade osmorregulatória. Portanto, as respostas anteriormente discutidas aqui e que incluem redução mais discreta do metabolismo e menor excreção de amônia em animais expostos ao microplástico em 31°C podem estar relacionadas à perda da capacidade osmorregulatória de *L. uruguayensis*.

Osmolalidade e Índice hepatossomático

Existem lacunas na literatura quanto a influência do microplástico na osmolalidade de crustáceos. Watts., et al (2016) notaram em seu estudo que, no caranguejo *Carcinus maenas*, a exposição ao poliestireno afetou a troca iônica dos animais, causando alteração na osmolalidade da hemolinfa. Capparelli et al., (2023) verificou o efeito contrário no caranguejo *Minuca rapax*, em que o microplástico não afetou a osmolalidade da hemolinfa dos animais. Uma hipótese que justifica a perda da capacidade osmorregulatória de *L. uruguayensis* é que o microplástico causou danos nas brânquias uma vez que estes órgãos são responsáveis pelo transporte e balanço de íons (Freire et al., 2008) É provável que a interação entre temperatura-microplásticos cause efeitos que alteram a fisiologia dos animais, no entanto, são necessários estudos futuros para uma melhor compreensão desta relação.

O hepatopâncreas é um órgão multifuncional, cujas funções dividem-se entre a absorção de nutrientes, digestão intracelular, estocagem de energia e produção enzimática, que pode sofrer com alterações ambientais, tais como as alterações climáticas ou a presença de contaminantes (Roszer, 2014; Ramaglia et al., 2018; Hauser-Davis et al., 2021). No presente trabalho, *L. uruguayensis* apresentou reduções no índice hepatossomático nas condições mais desafiadoras, que envolviam a sinergia entre ondas de calor e microplástico. Em resposta a fatores estressores, os organismos podem utilizar diversos mecanismos para manter a homeostase corporal. Entre esses mecanismos, destaca-se a alocação e o uso de reservas energéticas para atender às demandas do organismo (Vogt, 2019). Sendo assim, é provável que os caranguejos tenham utilizado suas reservas energéticas estocadas para manter a homeostase (Sokolova, 2013). Reduções semelhantes em temperaturas mais quentes também foram evidenciadas por Vianna (2020).

5. CONCLUSÃO

Concluimos que embora os animais não apresentem mortalidade quando expostos ao microplástico e a temperatura elevada, alguns parâmetros fisiológicos sofreram alterações. Portanto, visto que os microplásticos constituem um dos poluentes emergentes de maior preocupação no ambiente aquático, nossos resultados sugerem que seus efeitos podem ser potencializados em temperaturas elevadas como aquelas de heat waves. Finalmente, destacamos a importância de

considerar a interação entre múltiplos estressores em estudos ecológicos e ambientais.

6. BIBLIOGRAFIA

Abrusci, C., Pablos, J. L., Corrales, T., López-Marín, J., Marín, I., & Catalina, F. Biodegradation of photo-degraded mulching films based on polyethylenes and stearates of calcium and iron as pro-oxidant additives. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 65, n. 3, p. 451-459, 2011.

Aguaiza, C., Mumby, P. J., Rastoin-Laplane, E., Aburto-Oropeza, O., & Salinas-De-León, P. Mangroves as nursery habitats for Galapagos reef fishes. *Marine Ecology Progress Series*, v. 747, p. 99-115, 2024.

AUGUSTO, Alessandra; GREENE, Lewis Joel; MCNAMARA, John Campbell; et al. The Ontogeny of Isosmotic Intracellular Regulation in the Diadromous, Freshwater Palaemonid Shrimps, *Macrobrachium Amazonicum* and *M. Olfersi* (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology*, v. 27, n. 4, p. 626–634, 2007.

Augusto, A., Pinheiro, A. S., Greene, L. J., Laure, H. J., & McNamara, J. C. Evolutionary transition to freshwater by ancestral marine palaemonids: evidence from osmoregulation in a tide pool shrimp. *Aquatic Biology*, v. 7, n. 1-2, p. 113-122, 2009.

Augusto, Alessandra; MASUI, Douglas Chodi. Sex and reproductive stage differences in the growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Marine and freshwater behaviour and physiology*, v. 47, n. 6, p. 373-388, 2014.

Augusto, Alessandra; VALENTI, Wagner C. Are there any physiological differences between the male morphotypes of the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* (*Caridea: Palaemonidae*)?. *Journal of Crustacean Biology*, v. 36, n. 5, p. 716-723, 2016.

Brennecke, D., Ferreira, E. C., Costa, T. M. Appel, D., da Gama, B. A., & Lenz, M.. Ingested microplastics (> 100 µm) are translocated to organs of the tropical fiddler crab *Uca rapax*. Marine pollution bulletin, v. 96, n. 1-2, p. 491-495, 2015.

Capparelli, M. V. Dzul-Caamal, R., Rodríguez-Cab, E. M., Borges-Ramírez, M. M., Rendón-von Osten, J., Beltran, K., ... & Rosas, C. Synergistic effects of microplastic and lead trigger physiological and biochemical impairment in a mangrove crab. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 276, p. 109809, 2024.

Capparelli, M. V., Pérez-Ceballos, R., Suárez-Mozo, N. Y., & Moulatlet, G. M. Tolerance and behavioral responses of crabs in disturbed mangroves during a heatwave event. Marine Pollution Bulletin, v. 200, p. 116165, 2024.

Checon, Helio Herminio; Costa, Tânia Marcia. Fiddler crab (Crustacea: Ocypodidae) distribution and the relationship between habitat occupancy and mouth appendages. Marine Biology Research, v. 13, n. 6, p. 618-629, 2017.

Cowles, Raymond Bridgman; Bogert, Charles Mitchill. Preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. Iguana, v. 13, n. 1, p. 53-60, 2006.

da Silva Vianna, B., Miyai, C. A., Augusto, A., & Costa, T. M. Effects of temperature increase on the physiology and behavior of fiddler crabs. Physiology & Behavior, v. 215, p. 112765–112765, 2020.

De Nava, Arturo Sánchez López; RAJA, Avais. Physiology, Metabolism. In: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2022.

Dias, Reinaldo. Impactos climáticos em ecossistemas costeiros. Revista Sociedade Científica, v. 7, n. 1, p. 426-454, 2024.

Ding, J., Zhang, S., Razanajatovo, R. M., Zou, H., & Zhu, W. Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental pollution, v. 238, p. 1-9, 2018.

Duis, Karen ; Coors, Anja. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. Environmental Sciences Europe, v. 28, n. 1, 2016.

Freire, Carolina A.; Onken, Horst; McNamara, John C. A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 151, n. 3, p. 272-304, 2008.

Geng, C., Gao, Y., Zhang, H., Xue, D., Shan, H., Wang, B., ... & Zhao, J. Microplastic migration in porous media at various scales: a review. Environmental Chemistry Letters, v. 22, n. 2, p. 691-713, 2024.

Greenaway, Peter; Nakamura, Tamo. Nitrogenous excretion in two terrestrial crabs (*Gecarcoidea natalis* and *Geograpsus grayi*). Physiological zoology, v. 64, n. 3, p. 767-786, 1991.

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

Henry, Raymond P. Morphological, behavioral, and physiological characterization of bimodal breathing crustaceans. American Zoologist, v. 34, n. 2, p. 205-215, 1994.

Hsieh, S. L., Wu, Y. C., Xu, R. Q., Chen, Y. T., Chen, C. W., Singhania, R. R., & Dong, C. D. Effect of polyethylene microplastics on oxidative stress and histopathology damages in *Litopenaeus vannamei*. Environmental pollution, v. 288, p. 117800, 2021.

Koroleff F. Determinação de amônia. Em, Grasshoff K., Erhardt M. e Kremling K. (eds.), Métodos de análise da água do mar. 2ª Edição. Verlag Chemie, Weinheim. pp.150-157, 1983.

Kotharkar, Rajashree ; Ghosh, Aveek. Review of heat wave studies and related urban policies in South Asia. *Urban Climate*, v. 36, p. 100777, 2021.

Lee, H., Calvin, K., Dasgupta, D., Krinner, G., Mukherji, A., Thorne, P., Zommers, Z. Climate change 2023: synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. The Australian National University, 2023.

Leung, Brian Kai Hin; Hui, Tin Yan; Williams, Gray A. Behavioural adaptation to heat stress: shell lifting of the hermit crab *Diogenes deflectomanus*. *Journal of Thermal Biology*, v. 113, p. 103476, 2023.

Madeira, C., Leal, M. C., Diniz, M. S., Cabral, H. N., & Vinagre, C. Thermal stress and energy metabolism in two circumtropical decapod crustaceans: Responses to acute temperature events. *Marine Environmental Research*, v. 141, p. 148–158, 2018.

Marochi, M. Z., De Grande, F. R., Pardo, J. C. F., Montenegro, Á., & Costa, T. M. Marine heatwave impacts on newly-hatched planktonic larvae of an estuarine crab. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 278, p. 108122–108122, 2022.

Monteiro, M., de Castro, S. L., Marques, S. C., Freitas, R., & Azeiteiro, U. M.. An emergent treat: Marine heatwaves-Implications for marine decapod crustacean species-An overview. *Environmental Research*, v. 229, p. 116004, 2023.

Mora, C., & Ospina, A. Tolerance to high temperatures and potential impact of sea warming on reef fishes of Gorgona Island (tropical eastern Pacific). *Marine Biology*, v. 139, p. 765-769, 2001.

Nash, N., Klymasz-Swartz, A. K., Nash, M. T., Sachs, M., Yoon, G. R., & Weihrauch, D. Impact of heatwaves and environmental ammonia on energy metabolism, nitrogen excretion, and mRNA expression of related genes in the indicator model system *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, v. 249, p. 106225, 2022.

Nashami Alnajar; Jha, Awadhesh N ; Turner, Andrew. Impacts of microplastic fibres on the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, v. 262, p. 128290–128290, 2020.

Oladimeji Ayo Iwavalaye; Ganas Kandasamy Moodley; Deborah Vivienne Robertson-Andersson. Water Temperature and Microplastic Concentration Influenced Microplastic Ingestion and Retention Rates in Sea Cucumber (*Holothuria cinerascens* Brandt, 1835). *Ocean Science Journal*, v. 56, n. 2, p. 141–155, 2021.

Pichardo-Casales, B., Vargas-Abúndez, J. A. Moulatlet, G. M., & Capparelli, M. V.. Feces and molting as microplastic sinks in a mangrove crab. *Marine Pollution Bulletin*, p. 116410, 2024.

Pham, T., Hong, H. C., Swig, B., German, D. P., & Connor, K. M. Elevated aerial temperature modulates digestive enzyme activities in *Mytilus californianus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 265, p. 110825, 2023.

Podbielski, I., Schmittmann, L., Sanders, T., & Melzner, F. Acclimation of marine invertebrate osmolyte systems to low salinity: a systematic review & meta-analysis. *Frontiers in Marine Science*, v. 9, p. 934378, 2022.

Principe, Silas C.; AUGUSTO, Alessandra; COSTA, Tânia Marcia. Differential effects of water loss and temperature increase on the physiology of fiddler crabs from distinct habitats. *Journal of Thermal Biology*, v. 73, p. 14-23, 2018.

Rabari, V., Patel, H., Ali, D., Yadav, V. K., Patel, A., Sahoo, D. K., & Trivedi, J. Ingestion and polymeric risk assessment of microplastic contamination in commercially important brachyuran crab *Portunus sanguinolentus*. *Frontiers in Marine Science*, v. 10, p. 1286782, 2023.

Raha, Sohini; Ghosh, Sujit K. Heatwave duration: Characterizations using probabilistic inference. *Environmetrics*, v. 31, n. 5, p. e2626, 2020.

Ramaglia, Andressa Cristina; Mantovani, Leandro ; AUGUSTO, Alessandra. Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. *Journal of Comparative Physiology B*, v. 188, n. 5, p. 729–738, 2018.

Röszer, Tamás. The invertebrate midintestinal gland (“hepatopancreas”) is an evolutionary forerunner in the integration of immunity and metabolism. *Cell and Tissue Research*, v. 358, p. 685-695, 2014.

Santos, I. R., Burdige, D. J., Jennerjahn, T. C., Bouillon, S., Cabral, A., Serrano, O., Tamborski, J. J. The renaissance of Odum's outwelling hypothesis in 'Blue Carbon'science. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 255, p. 107361, 2021.

Smale, D. A., Wernberg, T., Oliver, E. C., Thomsen, M., Harvey, B. P., Straub, S. C., Moore, P. J. Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. *Nature Climate Change*, v. 9, n. 4, p. 306–312, 2019.

Siegle, M. R., Taylor, E. B., & O'Connor, M. I. Heat wave intensity drives sublethal reproductive costs in a tidepool copepod. *Integrative Organismal Biology*, v. 4, n. 1, p. obac005, 2022.

Sokolova, Inna M. Energy-limited tolerance to stress as a conceptual framework to integrate the effects of multiple stressors. *Integrative and comparative biology*, v. 53, n. 4, p. 597-608, 2013.

Stapleton, P. A. Microplastic and nanoplastic transfer, accumulation, and toxicity in humans. *Current opinion in toxicology*, v. 28, p. 62-69, 2021.

Niemcharoen, Songsak., Haetrakul, T., Palić, D., & Chansue, N. Microplastic-Contaminated Feed Interferes with Antioxidant Enzyme and Lysozyme Gene Expression of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Leading to Hepatopancreas Damage and Increased Mortality. *Animals*, v. 12, n. 23, p. 3308–3308, 2022.

Meera, S. P., Bhattacharyya, M., Nizam, A., & Kumar, A. A review on microplastic pollution in the mangrove wetlands and microbial strategies for its remediation. *Environmental science and pollution research international*, v. 29, n. 4, p. 4865–4879, 2021.

Sunil, S., Bhagwat, G., Vincent, S. G. T., & Palanisami, T. Microplastics and climate change; the global impacts of a tiny driver. *The Science of The Total Environment*, v. 946, p. 174160–174160, 2024.

Tagg, Alexander S ; Ivar, Juliana A. Is this your glitter? An overlooked but potentially environmentally-valuable microplastic. *Marine Pollution Bulletin*, v. 146, p. 50–53, 2019.

Truchet, D. M., Buzzi, N. S., Moulatlet, G. M., & Capparelli, M. V. Macroecotoxicological approaches to emerging patterns of microplastic bioaccumulation in crabs from estuarine and marine environments. *Science of The Total Environment*, v. 870, p. 161912–161912, 2023.

Varley, D. G.Greenaway, Peter. Nitrogenous excretion in the terrestrial carnivorous crab *Geograpsus grayi*: site and mechanism of excretion. *Journal of Experimental Biology*, v. 190, n. 1, p. 179-193, 1994.

Velloso Capparelli, M., Martínez Colón, M., Lucas Solis, O. E., Valencia Castañeda, G., Celis-Hernández, O., Ávila, E., & Massaine Moulatlet, G.et al. Can the bioturbation activity of the fiddler crab *Minuca rapax* modify the distribution of microplastics in sediments?. *Marine Pollution Bulletin*, v. 180, p. 113798, 2022.

Villegas, L., Cabrera, M., Moulatlet, G. M., & Capparelli, M. The synergistic effect of microplastic and malathion exposure on fiddler crab *Minuca ecuadoriensis* microplastic bioaccumulation and survival. *Marine Pollution Bulletin*, v. 175, p. 113336–113336, 2022.

Vogt, Günter. Functional cytology of the hepatopancreas of decapod crustaceans. *Journal of morphology*, v. 280, n. 9, p. 1405-1444, 2019.

Ximena González Pisani; Julieta Sturla Lompré; Pires, Adilia; et al. Plastics in scene: A review of the effect of plastics in aquatic crustaceans. *Environmental research*, v. 212, p. 113484–113484, 2022.

Xing, Y., Zhu, X., Duan, Y., Huang, J., Nan, Y., & Zhang, J. Toxic effects of nitrite and microplastics stress on histology, oxidative stress, and metabolic function in the gills of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Marine pollution bulletin, v. 187, p. 114531–114531, 2023.

Xing, Y., Zhu, X., Duan, Y., Huang, J., Nan, Y., & Zhang, J. Toxic effects of nitrite and microplastics stress on histology, oxidative stress, and metabolic function in the gills of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Marine Pollution Bulletin, v. 187, p. 114531–114531, 2023.

Yin, J., Li, J. Y., Craig, N. J., & Su, L. Microplastic pollution in wild populations of decapod crustaceans: A review. Chemosphere, v. 291, p. 132985–132985, 2022.

Zhang, S., Wu, H., & Hou, J. Progress on the effects of microplastics on aquatic crustaceans: a review. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 6, p. 5523, 2023.

Ping, Y.; Liu, Z.; Wu, D.; Chen, M., Lv, W.; Zhao, Y. (2018). Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. Aquatic Toxicology, v. 200, p. 28-36.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: LUCILLY LUIZA SANTOS

Título: "Os efeitos combinados de Heat waves e microplásticos sobre a fisiologia do caranguejo estuarino (*Leptuca uruguayensis*)"

Orientador: Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto	Aprovado
Dr. Fernando Rafael de Grande	Aprovado

PARECER:

A aluna Lucilly L. Santos apresentou um trabalho inovador sobre o efeito combinado da aumento de temperatura e dos microplásticos sobre o caranguejo estuarino. O trabalho está bem redigido e tem grande potencial para publicação. A aluna respondeu todas as perguntas da banca adequadamente. Consideramos a aluna aprovada.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Lucilly Luiza Santos** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 06 de dezembro de 2024.



Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto



Dr. Fernando Rafael de Grande

