

HÉLLEN SIQUEIRA LEITE

OS EFEITOS DO MICROPLÁSTICO GLITTER NA FISIOLOGIA DE CRUSTÁCEOS
MARINHO, DIÁDROMO E DULCÍCOLA

SÃO VICENTE

2023

HÉLLEN SIQUEIRA LEITE

OS EFEITOS DO MICROPLÁSTICO GLITTER NA FISILOGIA DE
CRUSTÁCEOS MARINHO, DIÁDROMO E DULCÍCOLA

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à UNESP – Câmpus do Litoral Paulista,
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas,
modalidade Biologia Marinha.

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Silva
Augusto

Co-orientadora: Me. Juliana Rodrigues da
Costa

SÃO VICENTE

2023

L533e Leite, Hellen Siqueira
Os Efeitos Do Microplástico Glitter Na Fisiologia De Crustáceos
Marinho, Diádromo E Dulcícola / Hellen Siqueira Leite. -- São
Vicente, 2023
43 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Biociências, São Vicente
Orientadora: Alessandra Augusto
Coorientadora: Juliana Rodrigues Da Costa

1. Fisiologia. 2. Contaminantes. 3. Crustáceos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Isana Ribas da Silva Leite e Paulo Siqueira Leite, a minha madrinha, Ismara Ribas Silva e a minha avó Valdelice Lima Ribas Silva por terem acreditado em mim e em tudo em que me arriscava entrar, sem ao menos duvidar da minha capacidade. Obrigada por tudo.

À professora Alessandra por ter me dado todo incentivo para realizar meu projeto, mesmo durante a pandemia e auxiliando para que a Bolsa FAPESP viesse, na qual veio em outubro de 2021.

Agradeço imensamente aos amigos do Laboratório de Aquicultura Sustentável: Matheus, Beatriz, Lucilly, Ana Carolina e, principalmente, à Andressa, Manu e Juliana por toda ajuda, companhia, experimentos na pandemia, risadas, discussões e broncas. Levo vocês para vida toda dentro do meu coração.

Agradeço ao professor Dr. Rafael Mendonça (UNESP – IB/CLP) pela ajuda nas coletas de *M. potiuna*, ao CAUNESP e Setor de Carcinicultura pelo fornecimento de *Macrobrachium amazonicum*, à Marina Nautica Cortamar pelo fornecimento de *Penaues vannamei*. Ao IB/CLP/UNESP que deu toda a infraestrutura para a realização do trabalho e também agradeço às meninas da limpeza, principalmente, a Maria e a Nice por manterem o laboratório limpo.

Agradeço a Giovana Gimiliani (USP - IPEN) por identificar a composição do glitter, algo que também foi essencial para a realização do projeto.

Aos amigos de Mauá: Giulia, Vitoria, Lucas, Nycollas e Jady, que por mais que nos víssemos 1 vez ano, nunca deixamos de nos falar e de nos apoiar em tudo.

À FAPESP 2021/08500-9 por financiar meu projeto por 18 meses e, a mim mesmo por me arriscar a cumprir todos os compromissos que me propus a realizar. E acima de tudo, a Deus que sem ele não teria forças o suficiente para seguir em frente com tudo de ruim e de bom que aconteceu diante de mim.

1. RESUMO

Os efeitos dos microplásticos na fisiologia das espécies aquáticas de diferentes gradientes salínicos é uma das grandes preocupações atuais, visto que não está claro se animais possuem vulnerabilidades em diferentes ambientes. Esse trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos desses contaminantes emergentes em uma malha de processos fisiológicos de crustáceos que habitam diferentes ambientes: *Penaeus vannamei* (marinho/estuarino), *Macrobrachium amazonicum* (diádromo) e *Macrobrachium potiuna* (dulcícola). Os animais foram expostos a diferentes concentrações de microplástico do tipo glitter (0, 0,4, 4 e 40 mg/L) durante 10 dias. Todos os experimentos foram realizados em salinidades nas quais os animais são encontrados na natureza. Em *P. vannamei* foi avaliado ainda sua capacidade de recuperar a homeostase após a transferência para a água livre do glitter. A composição do glitter foi determinada por pirólise acoplada à espectrometria de massa. Os mecanismos fisiológicos avaliados foram metabolismo, a excreção de amônia, tipo de substrato energético oxidado, o índice hepatossomático e a osmolalidade da hemolinfa. Os componentes identificados na amostra de glitter foram cloreto de hidrogênio, benzeno, tolueno, antraceno e acrilato de metila. No camarão marinho *P. vannamei* a concentração de glitter e a salinidade afetaram o consumo de oxigênio, sendo que na água mais diluída (20S) o contaminante não apresentou efeito. Em contraste, na espécie diádroma *M. amazonicum* e na dulcícola *M. potiuna*, ocorreram reduções no consumo de oxigênio (respectivamente, -70% e -20%) em baixas salinidades. As alterações no metabolismo não afetaram a capacidade osmorregulatória das espécies. A excreção nitrogenada sofreu alterações pontuais em função da salinidade e/ou presença do glitter, principalmente em animais expostos a 0,4 mg/L. A presença do contaminante causou alterações significativas no tipo de substrato energético oxidado por *P. vannamei* em 30S (trocou carboidrato por lipídios ou proteínas) e *M. potiuna* (trocou carboidrato por proteína), mas não afetou *M. amazonicum*. O índice hepatossomático de *P. vannamei* aumentou (35S) após exposição às maiores concentrações de glitter (4 e 40 mg/L), mas nas demais espécies não observamos alterações. Quando avaliamos a capacidade de *P. vannamei* recuperar a sua homeostase após a transferência para água livre de glitter, notamos que os animais são capazes de recuperar o metabolismo após seis dias, mas não o índice hepatossomático. Concluímos que a presença do microplástico do tipo glitter afeta aspectos importantes da fisiologia energética das três espécies de crustáceos, mas que tais respostas podem ser dependentes da salinidade. Tal efeito da salinidade pode ter relação com a vulnerabilidade das espécies nos diferentes gradientes salínicos que habitam na natureza.

2. ABSTRACT

The effects of microplastics on the physiology of aquatic species of different salt gradients is one of the major current concerns, since it is not clear whether animals have vulnerabilities in different environments. This work aims to evaluate the effects of these emerging contaminants in a mesh of physiological processes of crustaceans that inhabit different environments: *Penaeus vannamei* (marine/estuarine), *Macrobrachium amazonicum* (diadromous) and *Macrobrachium potiuna* (freshwater). The animals were exposed to different concentrations of glitter microplastic (0, 0.4, 4 and 40 mg/L) for 10 days. All experiments were performed in salinities in which animals are found in nature. In *P. vannamei* was also evaluated its ability to recover homeostasis after transfer to water free of glitter. The composition of the glitter was determined by pyrolysis coupled to mass spectrometry. The physiological mechanisms evaluated were metabolism, ammonia excretion, type of oxidized energetic substrate, hepatosomatic index and hemolymph osmolality. The components identified in the glitter sample were hydrogen chloride, benzene, toluene, anthracene and methyl acrylate. In the marine shrimp *P. vannamei* the concentration of glitter and salinity affected the oxygen consumption, and in the more diluted water (20S) the contaminant showed no effect. In contrast, in the diadromous species *M. amazonicum* and in the freshwater *M. potiuna*, there were reductions in oxygen consumption (-70% and -20%) in low salinities. The changes in metabolism did not affect the osmoregulatory capacity of the species. Nitrogen excretion suffered occasional changes as a function of salinity and/ or presence of glitter, especially in animals exposed to 0.4 mg/ L. The presence of the contaminant caused significant changes in the type of oxidized energy substrate by *P. vannamei* in 30S (exchanged carbohydrate for lipids or proteins) and *M. potiuna* (exchanged carbohydrate for protein), but did not affect *M. amazonicum*. The hepatosomatic index of *P. vannamei* increased (35S) after exposure to higher concentrations of glitter (4 and 40 mg/L), but in the other species we did not observe changes. When we evaluated the ability of *P. vannamei* to recover its homeostasis after transfer to water free of glitter, we noticed that the animals are able to recover metabolism after six days, but not the hepatosomatic index. We conclude that the presence of glitter microplastic affects important aspects of the energy physiology of the three species of crustaceans, but that such responses may be dependent on salinity. This effect of salinity may be related to the vulnerability of species in the different salt gradients that inhabit nature

3. INTRODUÇÃO

O plástico é um dos principais poluentes do ambiente marinho, uma vez que sua taxa de deposição nos mares acelerou muito nas últimas décadas (MOORE et al., 2008). O lixo marinho é composto principalmente por plástico, podendo atingir até 95% em algumas áreas (MOORE et al., 2008). Existem cerca de 20 grupos diferentes de plásticos encontrados pelo mundo, todos sendo materiais muito versáteis, baratos, leves, fortes, duráveis, resistentes à corrosão, além de possuírem propriedades de isolamento térmico e elétrico (THOMPSON et al., 2009), como por exemplo o PVC (policloreto de vinila) que é obtido a partir de 56,8% de cloro, proveniente do cloreto de sódio, e 43,2% de insumos provenientes de fontes não renováveis, como o petróleo e o gás natural (RODOLFO JR E MEI, 2007). Além de ser necessária a adição de aditivos à resina de PVC (RODOLFO JR E MEI, 2007), como o antraceno. Assim, a utilização desses polímeros plásticos tem crescido de forma exponencial nas últimas décadas, visto que a população mundial também está aumentando e o consumo e produção de plástico é vantajoso e mais barato para atender a demanda mundial, porém 50% desse material é utilizado apenas uma vez (GALLOWAY et al., 2017). No ambiente aquático, o seu processo de degradação é mais lento, pois os resíduos plásticos flutuantes sofrem diferentes tipos de degradação na presença da luz solar. Visto que, o espectro visível no ambiente aquático facilita a degradação térmica, enquanto a radiação infravermelha leva à oxidação térmica das cadeias poliméricas e o UV é responsável pela fotodegradação através do mecanismo de quebra das ligações (ABRUSCI ET AL., 2011). Esses processos liberam fragmentos de plástico com baixo peso molecular, o que pode resultar em pequenas partículas, conhecidas como mesoplásticos (5–40 mm), microplásticos (1–5000 µm) e nanoplásticos (1–100 nm) (GALLOWAY et al., 2017). Estudos indicam a presença de até 236 bilhões de toneladas de microplásticos no oceano atualmente (KOELMANS et al., 2019).

Os microplásticos podem ser classificados como primários ou secundários (HORTON et al., 2017). Os microplásticos primários são pellets derivados de polipropileno, polietileno ou poliestireno, que é matéria prima plástica comercializada em forma grânulos com 5 mm de diâmetro, nos quais são levados em grandes quantidades ao ambiente marinho, devido a perdas nas etapas de produção, transporte ou transformação, pelos rios, sistemas de esgoto ou de drenagem de águas pluviais (EPA, 1992), além de outros compostos químicos, como emolientes e corantes. Os microplásticos secundários são constituídos por fragmentos de partículas maiores de plásticos, como sacolas, garrafas pets, entre outros (IVAR DO SUL,

2014). As principais fontes de contaminação ambiental por microplásticos incluem liberação acidental de pellets de plástico, descarte inadequado de itens de plástico, perda de equipamentos de pesca, desgaste de pneus, águas pluviais, estações de tratamento de águas residuais, microplásticos de cremes dentais e produtos de limpeza de pele, além de fibras liberadas da lavagem de tecidos sintéticos (AUTA et al., 2017; STOLTE et al., 2015).

Os microplásticos constituem uma classe de contaminantes emergentes preocupantes e estão presentes em quase todos os ecossistemas aquáticos, incluindo oceanos, rios, águas subterrâneas e até regiões polares e abissais (VIVEKANAND et al., 2021). Os efeitos deste contaminante emergente na biologia das espécies aquáticas é uma das grandes preocupações atuais. As interações entre poluentes e os organismos aquáticos podem ocasionar mudanças estruturais e funcionais, resultando em alterações no crescimento (GALLOWAY et al., 2017), reprodução, metabolismo (RIOS-FUSTER et al., 2021), imunologia (ROCHMAN et al., 2014), dentre outros efeitos. Um exemplo de microplástico encontrado no ambiente aquático é o glitter, muito utilizado em projetos de artesanato e como elemento de decoração, no qual é um agravante a mais da poluição por microplástico (TAGG et al., 2019). Trata-se de um microplástico primário com tamanho que varia entre 0,05 à 0,35 mm e resistência de degradação (YU et al., 2018). O glitter é normalmente composto por PVC (policloreto de vinila) ou PET (politereftalato de etileno) e encontrado em diferentes produtos, como cosméticos, tintas corporais, esmaltes e artefato de artesanato, os quais são utilizados em todos os países (TAGG et al., 2019). Tagg et al., (2019) afirmam que o glitter possui grande potencial para ser considerado um indicador qualitativo de microplástico no meio ambiente. Entre os maiores problemas dos microplásticos no ambiente aquático destacam-se: capacidade de adsorção e transporte de contaminantes, como os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), contaminantes altamente tóxicos, como metais, alterações na dinâmica do ecossistema, dispersão de organismos invasores (RIOS, 2007) e problemas relacionados com a sua ingestão acidental.

Estudos anteriores demonstraram que o microplástico causa riscos à biota em diferentes estágios ontogenéticos e em diferentes aspectos da sua biologia (POSSATTO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013; ROCHMAN et al., 2014). Cole et al., (2016) demonstraram o efeito de microesferas de poliestireno na alimentação e fertilidade do copépode *Calanus helgolandicus*, a exposição causou uma menor produção de ovos e diminuição do processo de eclosão, copépodes expostos aos microplásticos alteraram as reservas energéticas ao longo do tempo, os animais sofreram esgotamento de energia (AUTA ET al., 2017). Em períodos

prolongados de exposição ao microplásticos em *N. norvegicus*, focaram os animais a utilizar os estoques de energia, primeiro o glicogênio e depois lipídios (BADEN, 1994). As principais enzimas do metabolismo, principalmente presente na glicólise e ciclo de Krebs, são afetadas pela ingestão de microplástico em *Mytilus galloprovincialis*, no qual podem provocar efeitos adversos que requerem um aumento de produção de energia para manter a homeostase do organismo (DETRE E GALLARDO-ESCARATE, 2017). Larvas de ouriço do mar *Tripneustes gratilla* não apresentaram desenvolvimento larval adequado quando expostas ao microplástico (KAPOSI et al., 2014). Em caranguejos *Calanus maenas* houveram reduções no consumo de alimentos e na disponibilidade de energia para o crescimento da espécie (WATTS et al., 2015), além de redução do sucesso reprodutivo em *Calanus helgolandicus* (COLE et al., 2015).

Visto que, os microplásticos costumam causar lesões no tecido branquial (DING et al., 2018), é possível que a osmorregulação seja afetada e possam ter efeitos diferentes para os indivíduos e para as populações de forma geral de diferentes gradientes salínicos. Uma vez dentro do tecido, os aditivos ou os átomos que estão aderidos na cadeia polimérica do contaminante, podem causar uma barreira e competir com outros íons, como Mg^{+} , Ca^{2+} ou mesmo com o ATP, alterando o funcionamento das proteínas de transporte como a Na^{+}/K^{+} ATPase, conhecida como bomba sódio-potássio (EXLEY et al., 1991). A brânquia é o principal órgão de organismos aquáticos de contado direto com o meio externo, possui varias funções como osmorregulação, respiração, trocas gasosas e excreção nitrogenada. Alterações na regulação iônica em um animal submetido a um estressor ambiental pode ter sido causadas devido à variação de concentração dos principais íons plasmáticos (EXLEY et al., 1991). Em virtude das brânquias participarem de funções primordiais dentro do organismo, as mudanças na qualidade da água podem alterar todos os processos bioquímicos e fisiológicos. Pois, a alteração do principal órgão osmorregulador em animais aquáticos está diretamente ligado a sua regulação iônica (WILCOX E DIETZ, 1998). Alguns contaminantes, como o microplástico, causam efeitos diretos no tecido branquial, mas a resposta pode ocorrer por causa de um mecanismo de defesa ou compensatório do organismo (MACHADO, 1999). Han et al., (2021), verificaram alterações comportamentais, fisiológicas e imunológicas em *P. vannamei* exposto a 1,3 mg/l de microplástico durante 2 horas.

Os estudos sobre os efeitos dos microplásticos na biologia das espécies aquáticas são recentes. No entanto, uma das principais respostas que se busca é sobre seus efeitos nas espécies habitantes de diferentes gradientes salínicos. Nesse sentido, devido ao seu estilo de

vida bentônico e estratégias de alimentação diversificadas, os crustáceos decápodes têm sido amplamente utilizados como modelos em estudos de ecotoxicologia (WALKINSHAW, et al., 2020). Os crustáceos têm um papel importante no funcionamento dos ecossistemas costeiros e teias alimentares marinhas, além de serem importantes para a pesca e aquicultura (BONDAD-REANTASO et al., 2012). Nesse sentido, ainda não se sabe se as espécies marinhas, estuarinas ou dulcícolas possuem diferentes graus de resiliência em função do ambiente que habitam. No entanto, decápodes constituem um grupo chave para estudos comparativos entre diferentes ambientes visto que habitam desde a água salobra e marinha até a água doce. Adicionalmente, algumas espécies são diádromas, migrando entre a água doce e salobra como parte do seu ciclo de vida (AUGUSTO et al., 2007).

No presente trabalho nós usamos como modelo camarões que ocupam diferentes gradientes salínicos na natureza: o camarão marinho *Penaeus vannamei*, o camarão diádromo *Macrobrachium amazonicum* e o dulcícola *Macrobrachium potiuna*. O camarão marinho *P. vannamei* é um organismo interessante para avaliar os efeitos de contaminantes devido a sua ampla distribuição nos ambientes costeiros e estuarinos, importância ecológica nas teias alimentares e na ciclagem biogeoquímica, capacidade de bioacumular (LIU et al., 2007; VALDEZ et al., 2008). Além disso, *Penaeus vannamei* é o camarão marinho mais cultivado no mundo, sendo nativo da região do Oceano Pacífico Oriental, ocorrendo desde o México até o Peru. Sua produção mundial registrou 5.446.216 toneladas em 2020, equivalente a aproximadamente 77% da produção total de camarão mundial, sendo uma espécie com alto valor nutricional e sabor atraente (FAO, 2020). Portanto, além de afetar a biodiversidade, o microplástico pode afetar a produção de alimento. *Macrobrachium amazonicum* é uma espécie endêmica da América do Sul, ocorrendo na Venezuela, Colômbia, Suriname, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Bolívia, Paraguai, Equador, Argentina e Brasil (PILEGGI et al., 2013). Trata-se de uma espécie diádroma que depende da água salobra para completar seu ciclo de vida (COLLART, 1993) e com importância econômica para a pesca e aquicultura (MACIEL & VALENTI, 2009; MORAES-VALENTI & VALENTI, 2007). *Macrobrachium potiuna* é um camarão endêmico da fauna brasileira e que ocorre desde o Espírito Santo ao Rio Grande do Sul (MÜLLER et al., 1991), é uma espécie exclusiva de água doce. A espécie possui interesse comercial porque é frequentemente encontrada em lojas de aquarismo (MÜLLER et al., 1991).

O presente trabalho teve como objetivo comparar os efeitos de diferentes concentrações do microplástico glitter na fisiologia de crustáceos que habitam desde a água

doce até o ambiente marinho. Como os camarões habitam diferentes gradientes salínicos, todos foram mantidos nas salinidades em que são encontrados na natureza. Além disso, foi avaliada a capacidade de *P. vannamei* recuperar sua homeostase fisiológica após a transferência para um ambiente livre de microplástico do tipo glitter.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Coletas dos Crustáceos e Manutenção dos Animais em Laboratório

O camarão marinho *P. vannamei* (cerca de 4,5 gramas) foi coletado em fazendas de camarão marinho no estado de Santa Catarina (26°12'32.3"S 48°44'23.7"W). Adultos dos camarões *M. potiuna* (cerca de 0,5 gramas) e *M. amazonicum* (cerca de 1,5 gramas) foram coletados, respectivamente, em rios de Itanhaém, SP (24°10'09.4"S 46°56'35.7"W) e nos viveiros de carcinicultura do Centro de Aquicultura da UNESP/CAUNESP em Jaboticabal, SP (21°14'19"S 48°17'36"W). Todos os animais foram transportados em caixas de polipropileno contendo água do local de coleta e aeração para o Laboratório de Aquicultura Sustentável do Instituto de Biociências, campus da UNESP, em São Vicente, SP (23° 58'27"S 46° 23'40"W).

Os animais foram aclimatados às condições laboratoriais durante três dias antes de iniciar os experimentos. Durante esse período foram mantidos em aquários individuais, contendo um indivíduo por aquário, alimentados com ração comercial para camarão (Guabi) contendo 35% de Proteína Bruta e fotoperíodo controlado de 12h luz:12h escuro e temperatura de 25°C. *Macrobrachium amazonicum* e *M. potiuna* foram mantidos em água doce, contendo 3L e 500ml de água, e *P. vannamei* foram aclimatados nas respectivas salinidades nas quais ficaram durante o experimento (20S, 30S e 35S), contendo 4L de água em cada aquário. Foram realizados coletas pelo menos 7 animais (N = 7) em cada tratamento..

4.2 Avaliação da Composição do Microplástico

As amostras de glitter foram analisadas quanto ao tipo de polímero utilizando espectrometria de massas por cromatografia em fase gasosa de pirólise (Py-GC/MS) segundo metodologias adaptadas de Gimiliani et al. (2020) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo (IPEN/USP). Cerca de 0,2 mg de amostra foram

transferidos para o amostrador do pirólito com uma espátula de aço inoxidável para o copo de amostra no sistema Py-GC/MS. No sistema GC, a temperatura da coluna iniciou-se a 40°C por 2 min e atingiu 295°C com uma taxa de aquecimento de 20°C min⁻¹ por 13 min. A relação massa-carga no sistema MS foi de 25-200 m/z, e o split aplicado foi de 27 com um impacto de elétrons de 70 eV. Os gases resultantes da queima da amostra foram transferidos por gás portador de hélio através da coluna Ultra ALLOY-5 (não polar), cujas dimensões foram de 30 m de comprimento, 0,25 µm de espessura e 0,25 mm de diâmetro. Um pyrolyzer dos laboratórios da fronteira (modelo EGA/PY-3030D) foi usado com uma micro fornalha na modalidade do único tiro, conectada a um sistema de Shimadzu GC/MS (modelo QP5000). Os gases resultantes da queima foram separados e quantificados utilizando o sistema GC/MS. Paralelamente à análise da amostra, foi realizada uma análise do cloreto de polivinila padrão (PVC). Antes de cada análise, uma amostra em branco foi analisada nas mesmas condições, a fim de determinar qualquer interferência no tempo de retenção da amostra.

4.3 Exposição dos Animais ao Microplástico e Diferentes Salinidades

Após o período de aclimação às condições laboratoriais, os animais foram expostos durante 10 dias a diferentes concentrações de microplástico glitter (0,4mg/L, 4mg/L e 40 mg/L) e os animais controles permaneceram em água livre de glitter (0 mg/L). As diferentes concentrações de glitter avaliadas aqui foram escolhidas conforme estudos realizados por Ping (2018) e representam concentrações reais de microplásticos encontrados no ambiente aquático. O glitter utilizado tinha cerca de 0,08 mm e tinha cor branca. As três espécies estudadas também foram mantidas em salinidades em que são encontradas em seu habitat natural. Dessa forma, o camarão *P. vannamei* foi exposto às salinidades de 20, 30 e 35S, contendo 4L água em cada aquário, *M. amazonicum* foi exposto à água doce e salobra de 10 e 20S, contendo 3L de água em cada aquário e *M. potiuna* apenas à água doce, contendo 500ml em cada aquário (FREIRE et al., 2003; AUGUSTO et al., 2007). Os animais foram mantidos em aquários individuais. As águas doce e marinha foram filtradas em uma bomba à vácuo de ar comprimido (Prismatec) e coleta no Aquário Municipal de Santos (23° 59' 10.7" S 46° 18' 30.1" O) . As salinidades foram obtidas por meio da diluição da água do mar com água doce e conferidas por refratômetro (AquaOcean).

Nos experimentos em que foi avaliada a capacidade de *P. vannamei* recuperar sua homeostase, os animais foram mantidos na salinidade 35 concentração de glitter 4 mg/L

durante 10 dias e na sequência transferidos para água filtrada livre de microplástico durante três, quatro, cinco e seis dias. Após os respectivos períodos, a fisiologia (consumo de oxigênio, excreção de amônia, relação O/N, índice hepatossomático e osmorregulação) foi avaliada.

Durante os experimentos os animais foram mantidos em aquários individuais sob aeração constante, fotoperíodo de 12h luz:12h escuro e alimentados com ração comercial para camarão (Guabi). Todos os experimentos foram realizados com pelo menos 7 animais (N = 7). Todos os camarões estavam no estágio de inter-muda do ciclo de muda.

4.4 Avaliação do Consumo de Oxigênio, Excreção de Amônia e Relação O/N

Após 10 dias de exposição às diferentes concentrações de microplástico, os animais foram colocados individualmente em câmaras respirométricas fechadas (LI et al., 2007; AUGUSTO et al., 2016; RAMAGLIA et al., 2018) para a medição do consumo de oxigênio. As câmaras continham água com as mesmas salinidades e concentrações de microplásticos em que os animais estavam nos aquários. Foram mantidos durante 30 minutos sob aeração, com o intuito de reduzir o estresse ocasionado pela manipulação. Após esse período, a concentração de oxigênio foi mensurada com o auxílio de um oxímetro (monitor e probe YSI, modelos 53 e 5905, respectivamente). A concentração de oxigênio foi medida novamente após 3 horas. Câmaras respirométricas controle, sem animais, foram mantidas nas mesmas condições experimentais e as variações nas concentrações de oxigênio serão calculadas pela diferença entre os valores obtidos no início e no final do experimento.

Após a determinação do consumo de oxigênio, os animais presentes em cada câmara respirométrica foram eutanasiados por congelamento, secos em estufa e pesados (massa seca). O consumo de oxigênio foi expresso como taxa individual ($\text{g O}_2 \text{ ind}^{-1} 24\text{h}^{-1}$) e em função da massa seca ($\text{g O}_2 \text{ mg MS}^{-1} \text{ h}^{-1}$). A taxa respirométrica foi avaliada de acordo com fórmula a seguir:

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

Onde,

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

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

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

V: volume da câmara respirométrica (L)

ΔT: duração do experimento (h)

f: alteração na concentração de oxigênio nas câmaras controles

MS: massa seca do animal (mg)

A excreção de amônia foi determinada pela colorimetria (KOROLEFF, 1976) em amostras de água obtidas das câmaras respirométricas ao final dos experimentos citados acima. Os dados foram apresentados como a soma da amônia não ionizável (NH₃) e ionizável (NH₄⁺), com o consumo de oxigênio, bem como a excreção de amônia foram expressos como taxas individuais (g ind⁻¹ dia⁻¹) e massa seca específica (μg mg⁻¹ massa seca h⁻¹). O substrato energético oxidado foi calculado pela relação atômica O:N dividindo-se o oxigênio consumido (mol) pela amônia excretada (mol) (MAYZAUD & CONOVER, 1988). A relação atômica O:N é utilizada para indicar o tipo de substrato energético que o animal está consumindo (proteína, carboidrato ou lipídio). Taxas abaixo de sete indicam o uso de proteínas, taxas entre 7 e 24 estão relacionadas ao uso de carboidratos e taxas acima de 24 indicam o uso predominante de oxidação de lipídios (MAYZAUD & CONOVER, 1988).

O tipo de substrato energético oxidado que deve predominar nos crustáceos são os carboidratos, visto que sua reserva energética é glicogênio, na qual é uma reserva de energia produzida e armazenada através da transformação dos carboidratos em glicose, pelo hepatopâncreas e nos músculos. (HERREID E FULL, 1988; KUCHARSKI E DA SILVA, 1991; VINAGRE E DA SILVA, 1992). O glicogênio armazenado é um substrato de fácil mobilização e disponibilidade rápida durante vários processos fisiológicos, como: processo de ecdise, osmorregulação, crescimento e períodos de jejum (KUCHARSKI E DA SILVA, 1991; VINAGRE E DA SILVA, 1992).

Macrobrachium potiuna, *M. amazonicum* e *P. vannamei* foram eutanasiados em gelo e o hepatopâncreas foi retirado para avaliação do índice hepatossomático. Respectivamente, os corpos dos animais foram pesados e mantidos em estufa a 60°C por 48h e pesados novamente (peso seco).

4.5 Avaliação do Índice Hepatossomático

O índice hepatossomático está relacionado ao estoque de reservas energéticas oxidadas durante a produção de ATP intracelular, o qual pode ser utilizada para atender a demanda energética em situações de estresse (VOGT, 2019).

O índice hepatossomático foi calculado de acordo com a fórmula a seguir: Índice Hepatossomático = (Peso seco do órgão/ peso seco do animal) X 100.

4.6 Avaliação da Osmolalidade da Hemolinfa

Após os animais serem eutanasiados por congelamento, foram retirados cerca de 20 µl de hemolinfa da região cefalotórax de *P. vannamei*, utilizando-se seringa de insulina e agulha #25-8. A osmolalidade da hemolinfa foi medida em amostras de 10 µl em um micro-osmômetro de pressão a vapor (Wescor, Modelo 5500) na Universidade de São Paulo/USP, campus de Ribeirão Preto. Os resultados são apresentados em mOsm/Kg água.

4.7 Análise Estatística

O efeito do microplástico e da salinidade sobre a fisiologia dos animais foi avaliado por ANOVA de dois fatores (concentrações de glitter e salinidades) seguida pelo teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK), o qual localiza as médias estatisticamente diferentes. Essas análises foram realizadas após as análises das condições de normalidade de distribuição e igualdade de variância, utilizando o programa Sigma Stat e empregando um nível mínimo de significância de $P = 0,05$.

As figuras foram apresentadas através dos dados inseridos no programa Graphpad e, editadas pelo software Inkscape.

5. RESULTADOS

5.1 Composição do Microplástico

Os componentes identificados nas amostras de glitter foram cloreto de hidrogênio, tolueno, antraceno, acrilato de metila e o benzeno, sendo este último em maior quantidade na amostra de glitter (Figura 1).

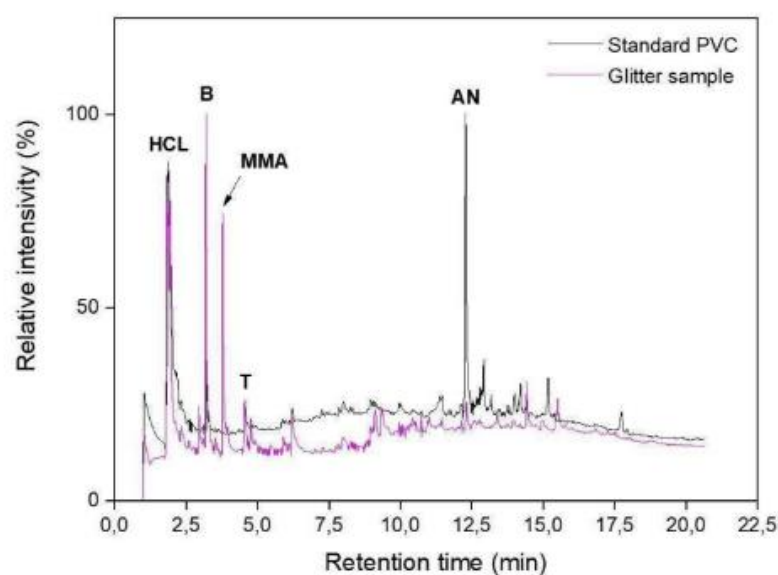


Figura 1 Componentes identificados em 0.2 mg de amostra de microplástico do tipo glitter por pirólise acoplada a espectrometria de massa: HCL: Cloreto de Hidrogênio, B: Benzeno, MMA: Acrilato de Metila, T Tolueno, AN: Antraceno.

5.2 Consumo de oxigênio

O consumo de oxigênio no camarão marinho *P. vannamei*, os efeitos da exposição ao microplástico variaram em função da concentração de glitter e da salinidade, sendo que ocorreram aumentos nas salinidades elevadas de 30S (79%) e 35S (190%) em relação ao controle. Em 20S o glitter não afetou o consumo de oxigênio de *P. vannamei* (Figura 2). No camarão diádromo *M. amazonicum* o glitter causou diminuição do consumo de oxigênio apenas em 10S (~70%) em relação ao controle (Figura 3). No camarão dulcícola *M. potiuna* o consumo de oxigênio diminuiu em todos os animais expostos ao glitter (~20%), independente da concentração (Figura 4).

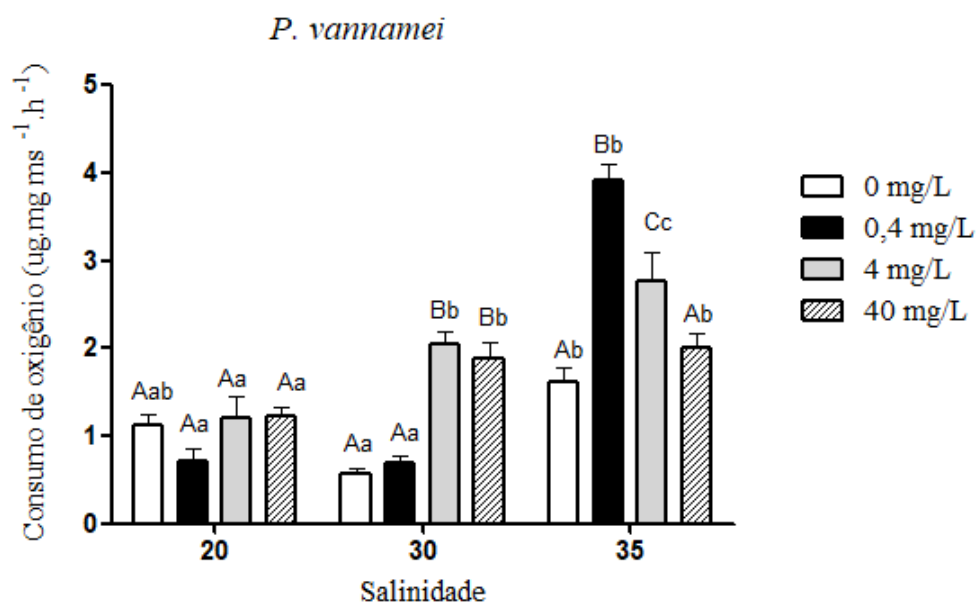


Figura 2: Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Penaeus vannamei*, expostos a diferentes concentrações de microplástico e salinidades. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico, mas mantidos na mesma salinidade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística em animais mantidos em salinidades diferentes, mas expostos a mesma concentração de microplástico. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

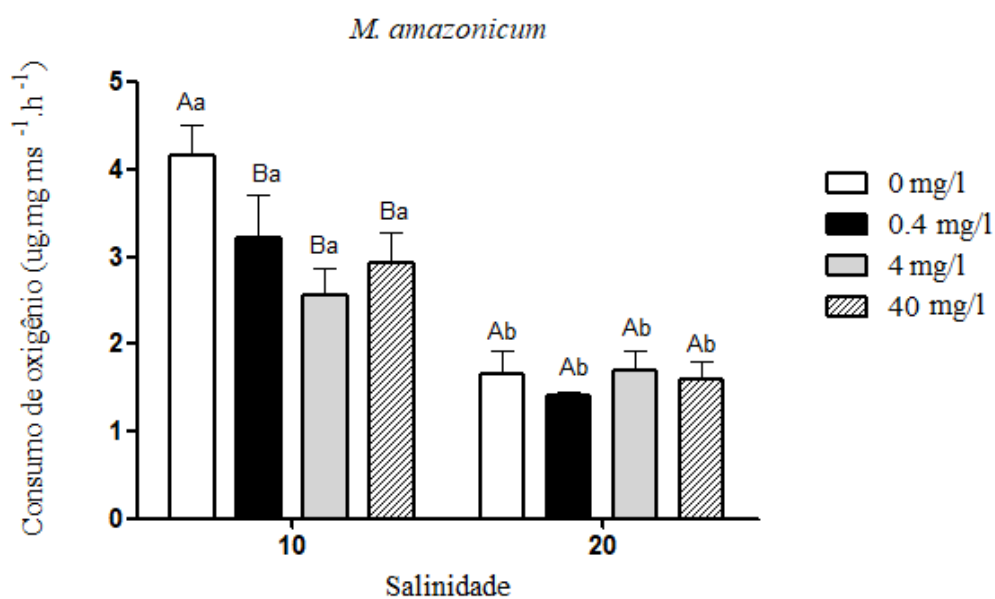


Figura 3: Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Macrobrachium amazonicum* expostos a diferentes concentrações de microplástico e salinidades. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico, mas mantidos na mesma salinidade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística em animais mantidos em salinidades diferentes, mas expostos a mesma concentração de microplástico. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

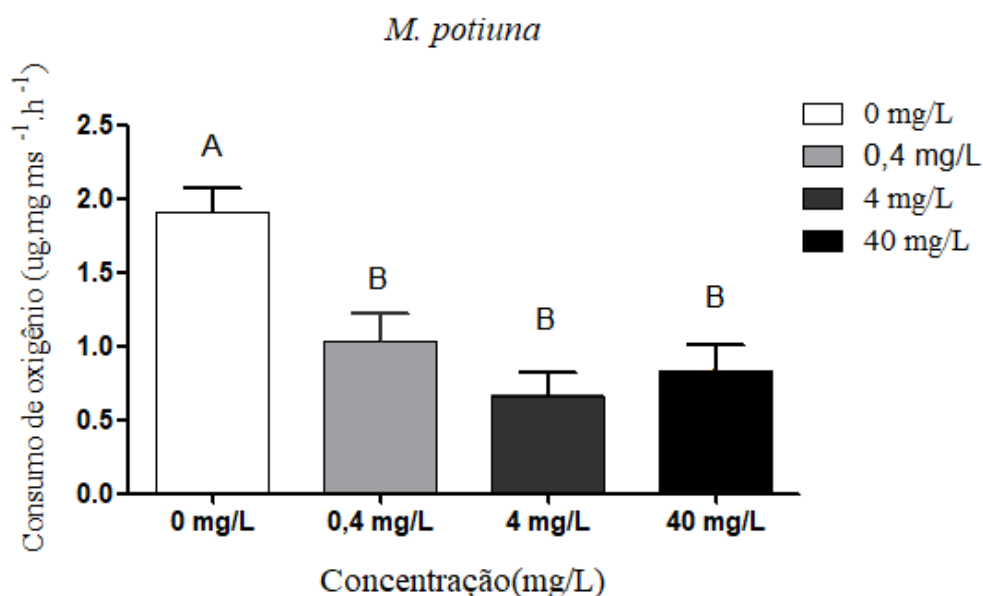


Figura 4: Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Macrobrachium potiuna* expostos a diferentes concentrações de microplástico em água doce. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

O consumo de oxigênio de *P. vannamei* mantido em água controle (sem glitter) foi de $1,6 \pm 0,5 \mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1} , mas aumentou (170%) após 10 dias de exposição ao contaminante. Os animais voltaram a ter o mesmo consumo de oxigênio dos animais mantidos em situação controle apenas no 6º dia ($2,2 \pm 0,4 \mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}), após transferência para água sem glitter (Figura 5).

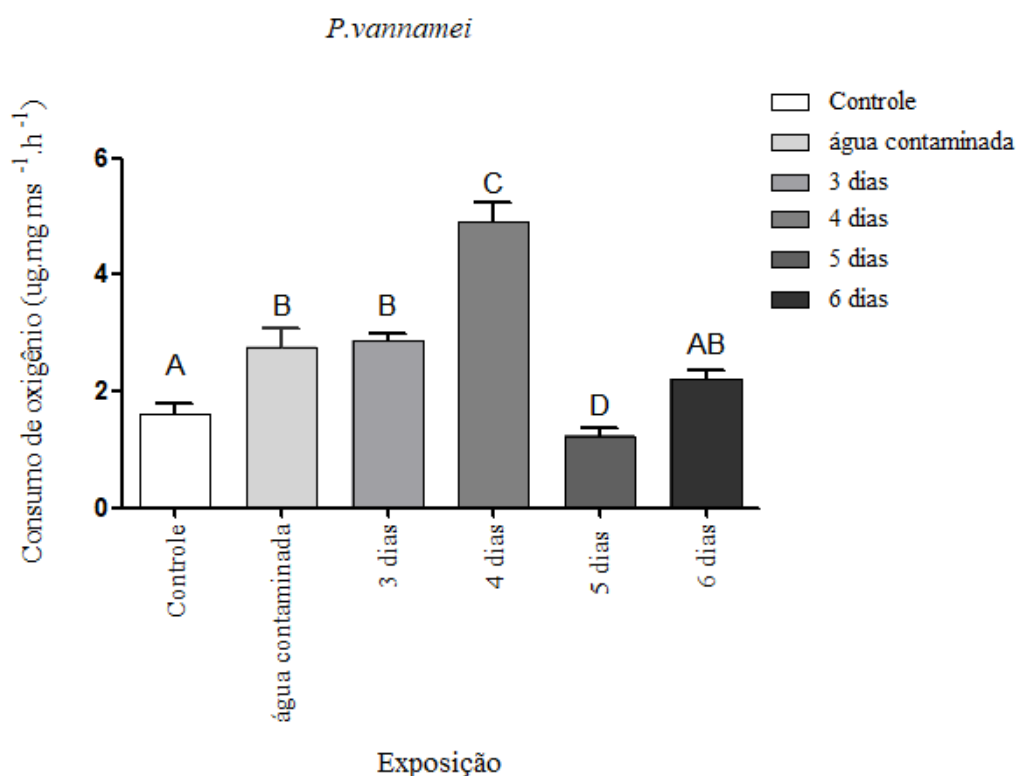


Figura 6: Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos *Penaeus vannamei* mantidos em água sem microplástico (controle), expostos a água contaminada com 4mg/L de microplástico glitter durante 10 dias e transferidos, posteriormente, para água livre de microplástico durante três, quatro, cinco e seis dias. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes dias de exposição a água livre de microplástico glitter ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

5.3 Excreção de Amônia

A excreção de amônia em *P. vannamei* é mostrada na Figura 7, a salinidade elevada de 35S causou aumento na excreção de amônia quando comparada a salinidades 20 e 30(até 1750%) independentemente da presença do glitter. Nessa salinidade, o glitter causou aumento (+120%) na excreção nitrogenada nos animais expostos a 0,4 mg/L. De forma geral, em *M. amazonicum* a excreção nitrogenada aumentou em função da salinidade e oscilou em função da presença do glitter (Figura 8). Em *M. potiuna*, a excreção de amônia apresentou diferença significativa na concentração de 0,4mg/L de glitter em aproximadamente 240% (Figura 9).

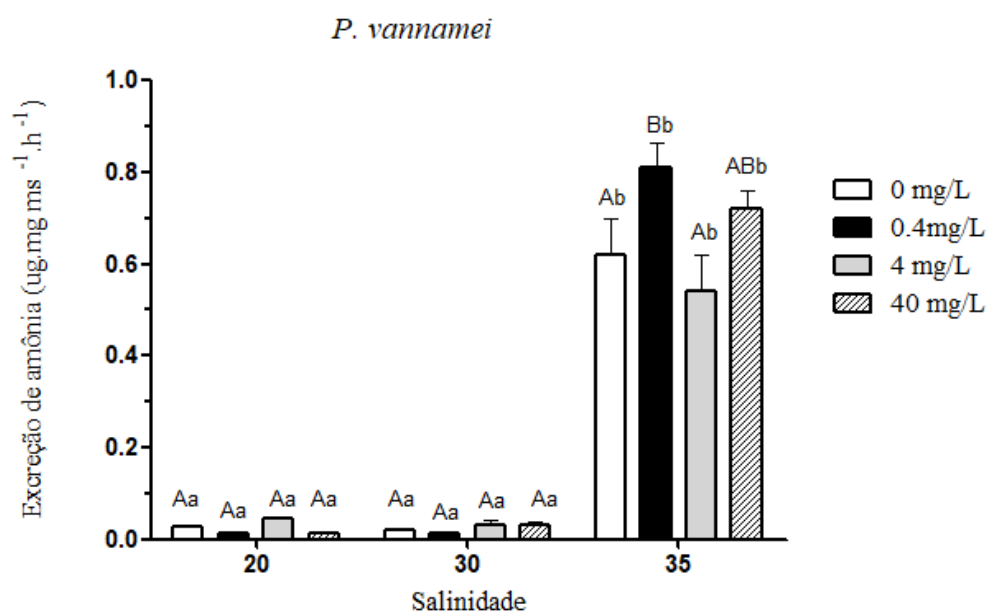


Figura 7: Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Penaeus vannamei*, expostos a diferentes concentrações de microplástico e salinidades. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico, mas mantidos na mesma salinidade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística em animais mantidos em salinidades diferentes, mas expostos a mesma concentração de microplástico. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

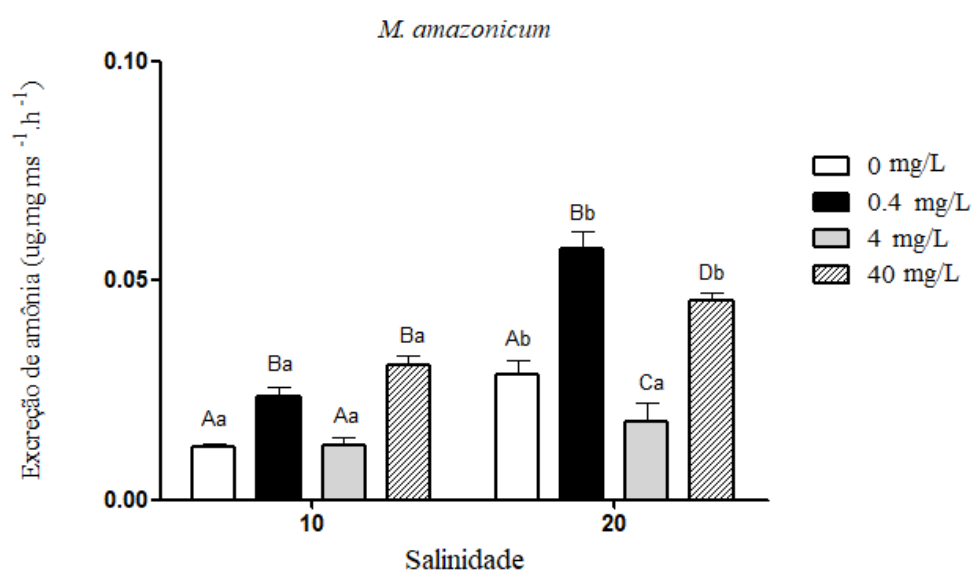


Figura 8: Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Macrobrachium amazonicum* expostos a diferentes concentrações de microplástico e salinidades. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico, mas mantidos na mesma salinidade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística em animais mantidos em salinidades diferentes, mas expostos a mesma concentração de microplástico. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

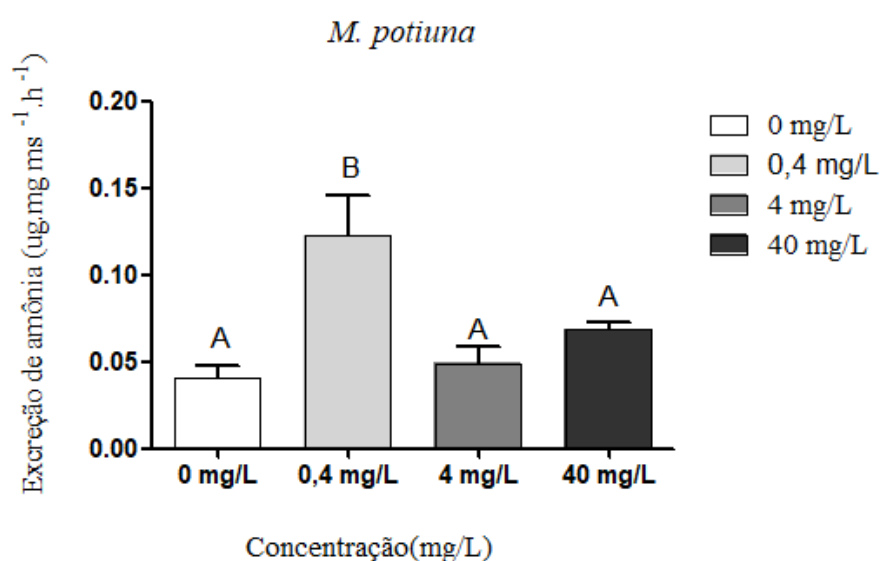


Figura 9: Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Macrobrachium potiuna* expostos a diferentes concentrações de microplástico em água doce. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre animais expostos a diferentes concentrações de microplástico ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P \leq 0.05$).

A excreção de amônia em *P. vannamei* mantido em água controle (sem glitter) foi de $0,62 \pm 0,1 \mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1} , e não houve diferença na excreção de amônia entre animais mantidos em situação controle (água sem microplástico) e com microplástico. As diferenças ocorreram apenas entre os animais expostos ao microplástico e aqueles transferidos para água livre do contaminante após quatro e cinco dias (aumento de aproximadamente 135%).

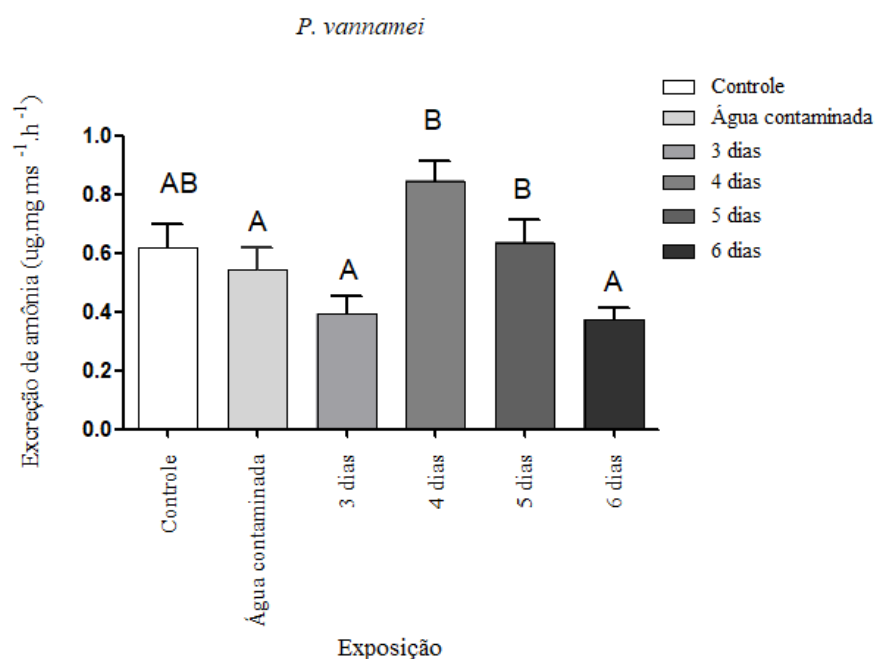


Figura 10: Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) em adultos de *Penaeus vannamei* mantidos em água sem microplástico (controle), anteriormente expostos a água contaminada com 4mg/L de microplástico glitter durante 10 dias e transferidos, posteriormente, para água livre de microplástico durante três, quatro, cinco e seis dias. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre os animais expostos a diferentes condições de exposição. ($M \pm \text{SEM}$, $N = 7$, $P 0,05$).

5.4 Tipo de Substrato Energético Oxidado e Índice Hepatossomático

Em *P. vannamei* o glitter teve efeito no tipo de substrato energético oxidado principalmente na salinidade de 30S, visto que os animais trocaram os carboidratos por lipídios ou proteínas em função da concentração de glitter. Em *M. amazonicum* o tipo de substrato energético mudou principalmente em função da salinidade, predominando lipídios em 10S e carboidratos em 20S. Em *M. potiuna* a exposição ao glitter provocou a troca de carboidrato por proteína, independentemente da concentração do contaminante.

Em *P. vannamei* o índice hepatossomático apresentou oscilações em 20S, mas em 35S aumentou quando os animais foram expostos às maiores concentrações de glitter (4 e 40 mg/L). A transferência desta espécie para água livre de glitter por até seis dias não foi

suficiente para os animais recuperarem a homeostase perdida. De forma geral, em *M. amazonicum* e *M. potiuna* o índice hepatossomático não alterou em função da salinidade ou glitter na água (Tabelas 3 e 4).

Tabela 1: Índice Hepatossomático (IHS) e Tipo de substrato energético oxidado (O/N) no camarão *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de microplásticos (MP).

Concentração de MP	IHS			O/N		
	20S	30S	35S	20S	30S	35S
0 mg/l	5,1 ± 0,4 ^{Aa}	4,3 ± 0,3 ^{ABa}	3,1 ± 0,3 ^{Ab}	17,2 ± 2,8 ^{Aa C}	14,4 ± 3,2 ^{Aa C}	2,8 ± 2,4 ^{Ab P}
0,4 mg/l	3,9 ± 0,4 ^{Ba}	3,6 ± 0,3 ^{Aa}	3,7 ± 0,3 ^{Aa}	16,1 ± 3,7 ^{Aa C}	25,9 ± 2,9 ^{Bb L}	2,8 ± 2,4 ^{Aa P}
4 mg/l	4,8 ± 0,4 ^{Aa}	4,6 ± 0,3 ^{Ba}	5,9 ± 0,3 ^{Bb}	14,7 ± 2,3 ^{Aa C}	31,4 ± 2,9 ^{Bb L}	2,5 ± 2,4 ^{Ab P}
40 mg/l	3,7 ± 0,4 ^{Ba}	5,1 ± 0,3 ^{Bb}	5,1 ± 0,3 ^{Bb}	45,1 ± 2,8 ^{Ca L}	2,1 ± 3,2 ^{Cb P}	1,6 ± 2,9 ^{Aa P}

MP: microplástico. C: carboidrato, P: proteína e L: lipídio. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos na mesma salinidade; valores com letras minúsculas diferentes indicam diferenças em animais mantidos em salinidades diferentes.

Tabela 2: Tipo de substrato energético oxidado (O/N) e Índice hepatossomático (IHS) do camarão marinho *P. vannamei*, expostos a 4 mg/L de glitter durante 10 dias e transferido para água livre deste contaminante durante três, quatro, cinco e seis dias.

Exposição	IHS	O/N
Controle	3,1 ± 0,3 ^A	2,8 ± 2,4 ^{A P}
Água contaminada	5,9 ± 0,3 ^B	2,5 ± 2,4 ^{A P}
3 dias após transferência	4,3 ± 0,2 ^C	4,0 ± 1,2 ^{A P}
4 dias após transferência	5,5 ± 0,4 ^{BC}	3,3 ± 0,4 ^{A P}
5 dias após transferência	5,0 ± 0,2 ^{BC}	1,2 ± 0,2 ^{B P}
6 dias após transferência	4,7 ± 0,5 ^{BC}	3,6 ± 0,5 ^{A P}

P: proteína. Valores com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos em período diferente de exposição. (M ± SEM, N = 7, P 0,05).

Tabela 3: Índice Hepatosomático (IHS) e Tipo de substrato energético oxidado (O/N) no camarão *M. amazonicum* exposto a diferentes concentrações de microplásticos (MP).

Concentração de MP	IHS		O/N	
	10S	20S	10S	20S
0 mg/l	4,8 ± 0,7 ^{Aa}	5,7 ± 0,7 ^{Aa}	186,3 ± 11,4 ^{Aa} L	21,3 ± 8,8 ^{Ab} C
0,4 mg/l	4,8 ± 0,7 ^{Aa}	8,0 ± 0,7 ^{Bb}	71,1 ± 8,8 ^{Ba} L	13,2 ± 9,9 ^{Ab} C
4 mg/l	6,4 ± 0,7 ^{Aa}	4,7 ± 0,7 ^{Aa}	81,4 ± 11,4 ^{Ba} L	44,3 ± 11,4 ^{Ab} L
40 mg/l	5,3 ± 0,7 ^{Aa}	5,4 ± 0,7 ^{Aa}	65,1 ± 8,8 ^{Ba} L	18,8 ± 8,8 ^{Ab} C

MP: microplástico. C: carboidrato, P: proteína e L: lipídio. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos na mesma salinidade; valores com letras minúsculas diferentes indicam diferenças em animais mantidos em salinidades diferentes.

Tabela 4: Índice Hepatosomático (IHS) e Tipo de substrato energético oxidado (O/N) no camarão *M. potiuna* mantido em água doce e exposto a diferentes concentrações de microplásticos (MP).

Concentração de MP	IHS	O/N
0 mg/l	7,7 ± 0,6 ^A	21,6 ± 3,6 ^A C
0,4 mg/l	7,6 ± 0,7 ^A	6,1 ± 1,8 ^B P
4 mg/l	7,6 ± 0,9 ^A	5,7 ± 2,7 ^B P
40 mg/l	7,2 ± 0,5 ^A	3,5 ± 1,4 ^B P

MP: microplástico. P: proteína. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais expostos a diferentes concentrações de microplástico.

5.5 Osmolalidade

A presença do glitter na água não afetou a capacidade osmorregulatória das espécies, as quais permaneceram osmorregulando em todas as salinidades e concentrações do contaminante. *Penaeus vannamei* hiperosmorregulou em 20S e passou a hiporregular em salinidades a partir de 30S, os animais mantidos em 4 mg/L na salinidade 35 houve diferença estatística, com um aumento de 107% na osmolalidade da hemolinfa em relação ao controle. No camarão diádromo *M. amazonicum* mantido em 10S a osmolalidade da hemolinfa aumentou (cerca de 122%) na presença do microplástico. Em *M. potuina* a osmolalidade da hemolinfa em água doce foi de $392,2 \pm 19,2$ mOsm/kg de água e a presença do microplástico na água não alterou estatisticamente esse valor.

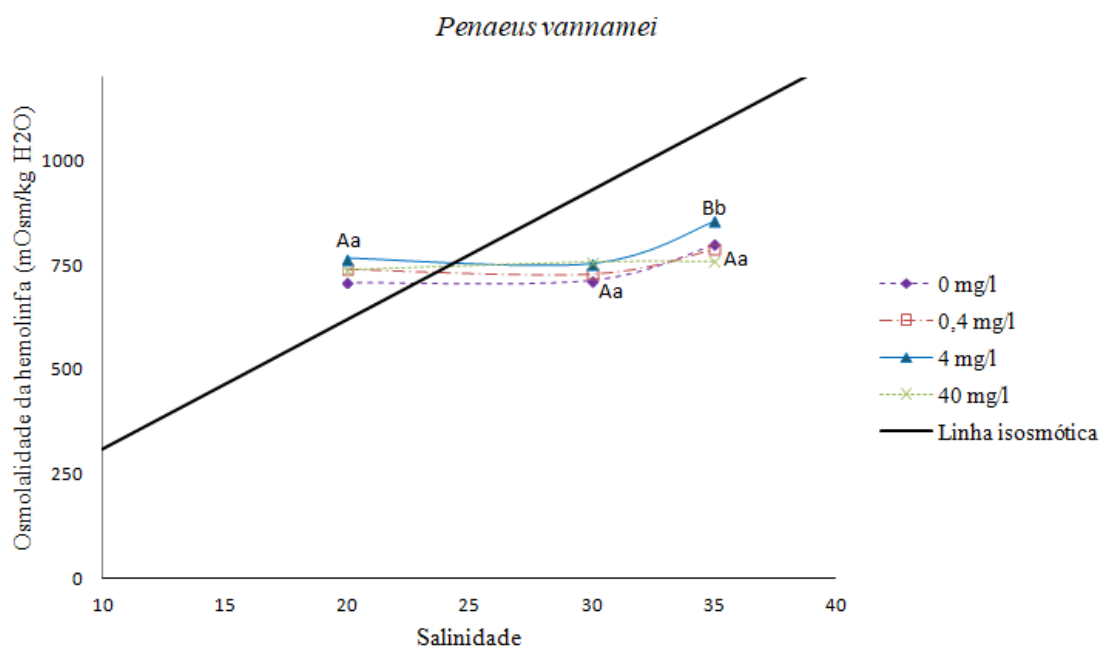


Figura 11: Osmolalidade (mOsm/Kg de água) da hemolinfa dos camarões *Penaeus vannamei*, expostos a diferentes concentrações de glitter. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos na mesma salinidade; valores com letras minúsculas diferentes indicam diferenças em animais mantidos em salinidades diferentes.

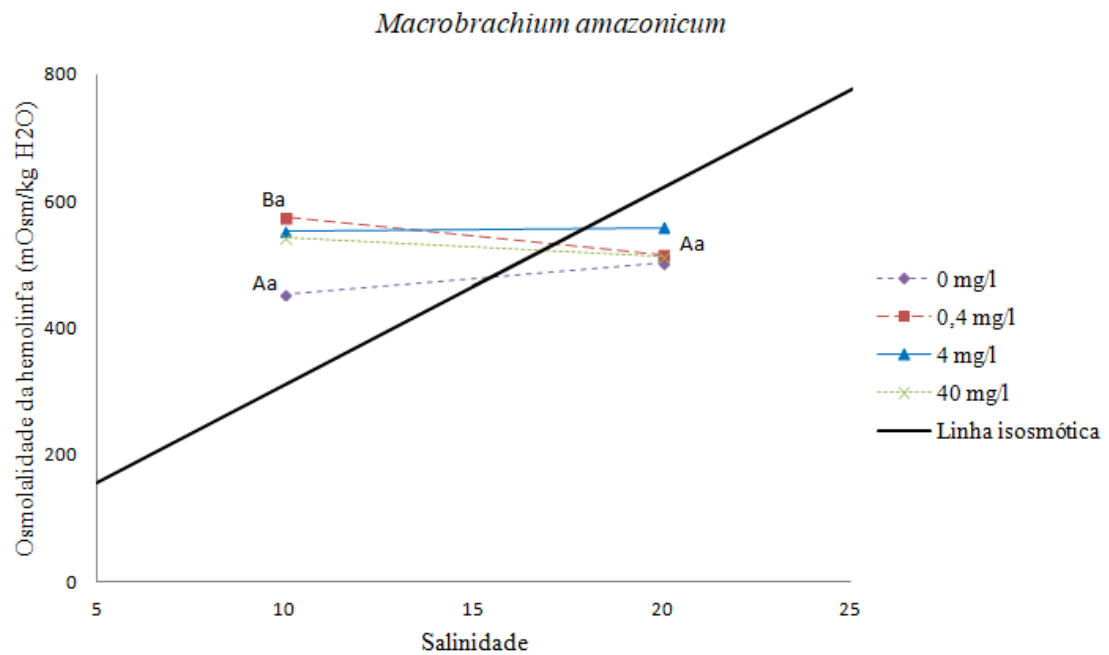


Figura 12: Osmolalidade (mOsm/Kg de água) da hemolinfa dos camarões *Macrobrachium amazonicum* expostos a diferentes concentrações de glitter. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos na mesma salinidade; valores com letras minúsculas diferentes indicam diferenças em animais mantidos em salinidades diferentes.

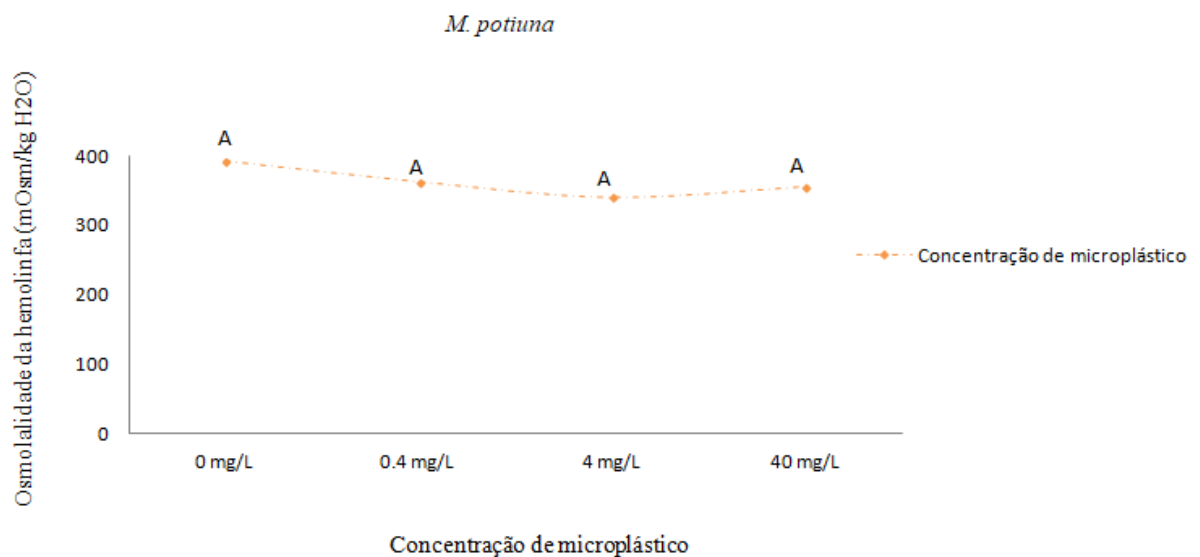


Figura 13: Osmolalidade (mOsm/Kg de água) da hemolinfa dos camarões *Macrobrachium potiuna* expostos a diferentes concentrações de glitter. Os valores com as letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos em água doce.

A transferência para água livre de microplástico não alterou a osmolalidade da hemolinfa de *P. vannamei* mesmo após seis dias de exposição, as quais permaneceram 109% maiores que nos animais controles (Tabela 5).

Tabela 5: Osmolalidade da hemolinfa no camarão marinho *P. vannamei*, expostos a 4mg/L durante 10 dias (água contaminada) e transferido posteriormente para água livre de glitter durante três, quatro, cinco e seis dias. Animais controles permaneceram em água livre de glitter durante todo o período experimental.

Exposição	Osmolalidade
Controle	769,8 ± 31,5 ^A
Água contaminada	836,7 ± 8,0 ^B
3 dias após transferência	847,2 ± 18,7 ^B
4 dias após transferência	836,4 ± 11,2 ^B
5 dias após transferência	843,4 ± 13,3 ^B
6 dias após transferência	850,7 ± 11,4 ^B

Valores com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em animais mantidos em períodos de diferente exposição. Osmolalidade da água de 35S: 1085mOsm/kg água. (M ± SEM, N = 7, P 0,05).

6.DISCUSSÃO

Dados recentes da literatura têm mostrado que os microplásticos podem afetar diferentes aspectos da biologia das espécies aquáticas. Devido a suas características que podem gerar danos físicos nos tecidos e, além de possuir aditivos prejudiciais ao organismo. De acordo com Falasco e De Gusmão (2018), os microplástico podem conter outros contaminantes químicos nocivos, com efeitos de desregulação endócrina. Estes incluem aditivos plásticos, como ftalatos e bisfenol A, cuja ingestão frequente aumenta o potencial de toxicidade gastrointestinal, hepática, reprodutiva e neurotoxicidade nos organismos (FALASCO E DE GUSMÃO, 2018). Na amostra de glitter branco foram identificados aditivos, nos quais incluem cloreto de hidrogênio, tolueno, antraceno, benzeno e acrilato de

metila. Esse ultimo, por exemplo, é fortemente irritante e o contato prolongado com os olhos ou a pele pode causar danos graves. O acrilato de metila é altamente tóxico nas vias gastrointestinais e para as mucosas, mas em contato com pele é moderadamente tóxico (BOYKO E BRYGADYRENKO, 2023). A exposição crônica a esse composto produz lesões nos pulmões, brônquias, fígado, hepatopâncreas e rins em animais experimentais (BOYKO E BRYGADYRENKO, 2023). Além disso, o acrilato de metila oferece um grande risco de explosão quando os seus vapores são expostos ao calor.

Um dos nossos objetivos no presente trabalho foi entender se espécies que vivem em diferentes ambientes salínicos possuem vulnerabilidades diferentes ao microplástico do tipo glitter presente em todos os cursos de água. Nesse sentido, notamos que a salinidade é um fator importante no que tange aos efeitos do glitter na fisiologia das espécies de camarões aqui avaliadas. Também notamos que o camarão marinho *P. vannamei* pode recuperar alguns aspectos da sua fisiologia após ser transferido da água contendo glitter para um ambiente livre do contaminante, embora o índice hepatossomático, um sinalizador do uso das reservas energéticas estocadas, não se recupera após seis dias de experimentos.

O metabolismo é um conjunto de reações químicas que ocorrem no organismo. De forma geral, os crustáceos elevam o consumo de oxigênio diante de situações estressantes a fim de aumentar a obtenção de energia para os mecanismos regulatórios (RAMAGLIA et al., 2018). Essa resposta pode acontecer em crustáceos expostos à salinidades, temperaturas e pHs muito diferentes do seu habitat natural, por exemplo (SETIARTO et al., 2004; BIANCHINI et al., 2008; RAMAGLIA et al., 2018). No entanto, em algumas situações podem ocorrer reduções no consumo de oxigênio devido a ineficiência dos mecanismos responsáveis pela captação de oxigênio nas brânquias (LANNING et al., 2010). Alguns estudos já demonstraram que o metabolismo pode sofrer os efeitos da presença de microplástico no meio ambiente (GALLOWAY, 2015; CHAE E AN, 2017; BERGAMI et al., 2017). Alterações no consumo de oxigênio dos crustáceos podem impactar diretamente outros mecanismos fisiológicos que gastam energia, inclusive a osmorregulação, parâmetro essencial para a sobrevivência das espécies em diferentes gradientes salínicos (CHARMANTIER E SOYEZ, 1994).

No presente trabalho observamos aumentos no consumo de oxigênio quando a espécie marinha (*P. vannamei*) foi exposta a salinidades elevadas e em concentrações mais altas de glitter (30 ou 35S e 4 mg/L ou 40 mg/L). Os aumentos verificados no consumo de oxigênio em *P. vannamei* podem estar relacionados a aumentos do gasto energético a fim de que o

animal possa lidar com a presença do microplástico no corpo. Em caranguejos da espécie *C. maenas* foi visto que o aumento no consumo de oxigênio e na regulação de íons (WATTS et al., 2016). Também observamos reduções no consumo de oxigênio quando a espécie diádroma (*M. amazonicum*) e a dulcícola (*M. potiuna*) são mantidas em água menos salinas e expostas ao microplástico. É possível que as reduções no consumo de oxigênio verificadas aqui estejam relacionadas a lesões branquiais causadas pelo microplástico. Além disso, tais reduções no consumo de oxigênio verificadas em *M. potiuna* e *M. amazonicum* expostos ao microplástico também podem estar relacionadas a alterações no padrão de atividade dos animais e escassez de substrato energético oriundos da alimentação. Em algumas espécies como na espécie de pepino do mar *Holothuria cinerascens* ocorre redução na taxa de ingestão alimentar devido ao acúmulo de microplásticos no tubo digestório e consequente sensação de saciedade (IWALAYE et al., 2021).

Em *Penaeus vannamei*, quando exposto a água livre de microplástico do tipo glitter há recuperação do metabolismo após 6 dias. De acordo com Cerqueira e Fernandes (2002), técnicas de eliminação de um contaminante do ambiente, podem permitir o retorno da homeostase dos animais. Muitas espécies aquáticas conseguem recuperar suas funções fisiológicas após a transferência para um ambiente livre de contaminante. Esse é o caso dos moluscos bivalves que após a transferência de um ambiente contaminado para um ambiente livre de contaminante os animais realizam a depuração e recuperam suas funções metabólicas e funcionais (DE SOUZA et al., 2021), o tempo pode variar em função da espécie e da sua fisiologia. Em fazendas marinhas de bivalves de interesse econômico, essa técnica é bastante empregada para garantir a remoção de impurezas dos animais e evitar intoxicação alimentar pelos consumidores (DE SOUZA et al., 2021). No estudo de Ribeiro et al., (2017) o período de eliminação do contaminante de 7 dias não parece ser suficiente para a eliminação dos microplásticos de poliestireno em *Scrobicularia plana*. Durante esse período, as brânquias de *S. plana* aparentam possuir baixa capacidade de eliminação de poliestireno, sendo o principal órgão de contacto com os microplásticos, enquanto que a glândula digestiva parece eliminar mais facilmente as micropartículas (RIBEIRO et al., 2017). A técnica também é descrita em crustáceos como no estudo de Reyes Chávez (2014), em que foi analisado o processo de acumulação e desintoxicação de chumbo em *Macrobrachium americanum*, o hepatopâncreas e o exoesqueleto desenvolveram um acúmulo crescente de chumbo durante 6 semanas, mas o músculo e a hemolinfa desenvolveram um baixo acúmulo de chumbo durante as quatro

primeiras semanas e a desintoxicação começou a partir da quinta semana (REYES CHÁVEZ, 2014).

Embora as três espécies de camarões estudadas aqui tenham sofrido alterações no consumo de oxigênio, a capacidade osmorregulatória não foi afetada e todos se mantiveram osmorreguladores. A necessidade de manter o volume e a concentração dos solutos nos fluidos do organismo em uma situação de estresse implica ao animal manter a osmorregulação adequada para a manutenção do equilíbrio iônico e osmótico, com o intuito de proteger os tecidos internos contra oscilações do meio externo, apresentando custos metabólicos que podem refletir no consumo de oxigênio (MANTEL E FARMER, 1983). As reduções no consumo de oxigênio em *M. potiuna* e *M. amazonicum* não afetaram a demanda energética relacionadas aos mecanismos de absorção de sal em água menos salina. Algumas alterações pontuais foram observadas em *P. vannamei* e *M. amazonicum*. Em *M. amazonicum* mantido em 20S, salinidade onde a espécie é hiperosmorreguladora, a exposição ao microplástico provocou um aumento da osmolalidade da hemolinfa. A escassez de informações sobre os efeitos dos microplásticos e seus derivados na osmorregulação dificulta uma melhor compreensão de tais achados, mas os resultados sugerem um aumento dos mecanismos de absorção de íons a partir do meio externo, aumento de substâncias que aumentem a pressão osmótica da hemolinfa e/ou redução da permeabilidade à água. Em *P. vannamei*, tal aumento ocorreu apenas na concentração de 4 mg/L de microplástico, ocasião em que também foi verificado aumento do consumo de oxigênio, porém ela não retorna a situação controle ($769,8 \pm 31,5$ mOsm/kg de água) quando exposta a 6 dias em água livre de microplástico ($850,7 \pm 11,4$ mOsm/kg de água). Trabalhos futuros deverão investigar o fluxo de íons através das membranas e a integridade dos epitélios transportadores de íons em espécies expostas ao microplástico.

Em alguns animais aquáticos como organismos bentônicos, corais, plâncton, peixes e grandes mamíferos marinhos (SHARMA E CHATTERJEE, 2017) os microplásticos afetam a taxa de ingestão, porque esses poluentes se acumulam temporariamente no sistema digestório dando a sensação de saciedade (IWALAYE et al., 2021). Em outros organismos, a presença dos microplásticos pode afetar a absorção intestinal de nutrientes. Chae et al., (2019), observaram que de nanoplásticos alteraram rotas bioquímicas e nutricionais de *P. vannamei*, prejudicando a absorção dos alimentos. Murphy e Quinn (2018) observaram que a ingestão por microplástico em *Hydra attenuata* induz malformações e reduz a resposta funcional do organismo, porém sem mortalidade. Tais alterações na taxa de ingestão e absorção de

nutrientes poderiam causar alterações metabólicas relacionadas ao tipo de substrato energético oxidado nas mitocôndrias. De forma geral, no presente trabalho foram verificadas alterações no tipo de substrato energético oxidado pelas três espécies de camarões. Nesse sentido, *P. vannamei* (apenas em 30S) e *M. potiuna* trocaram o substrato energético carboidrato por proteínas e/ou lipídios em função da presença do glitter na água mas *M. amazonicum* alterou o tipo de substrato energético principalmente em função da salinidade. Embora as proteínas sejam relatadas como fator primordial para a construção de tecidos, em várias espécies de crustáceos elas são oxidadas para obtenção de energia. Esse é o caso de espécies como o lagostin *Procambarus clarkii* (SILVA-CASTIGLIONI et al., 2015) e *M. amazonicum* (AUGUSTO E VALENTI, 2016). Por outro lado, a troca por lipídios pode estar associada a um maior suprimento de energia necessário para os mecanismos regulatórios ativos.

A excreção de amônia também pode ser alterada em função de uma alteração metabólica como, por exemplo, aumentos no catabolismo de aminoácidos que participam da via neoglicogênica ou devido ao uso de aminoácidos como efetores osmóticos. Aqui nós observamos que a excreção de amônia sofreu alterações pontuais nas três espécies estudadas, aumentando principalmente em animais expostos à concentração de 0,4 mg/l de microplástico. Em relação *P. vannamei*, a amônia não foi alterada após exposição ao glitter, mas no 4º e 5º dia de transferência para a água sem contaminante, a excreção aumentou, retornando no 6º dia. É possível que *P. vannamei* tenha aumentado sua taxa de ingestão alimentar no 4º e 5º dia de exposição à água livre de glitter (XU et al., 2020). Como uma energia considerável é consumida para resistir ao estresse ambiental, os organismos aquáticos devem ajustar seu metabolismo energético para suportar as funções metabólicas normais (KYEONG et al., 2019).

O hepatopâncreas é o maior órgão metabólico de armazenamento de nutrientes e fornecimento de energia, e exerce funções vitais para os camarões como, por exemplo, digestão, absorção de nutrientes, reserva e fornecimento de energia para o crescimento, reprodução e metabolismo (CHEN, 2020). A redução do índice hepatossomático pode ocorrer durante períodos em que os animais usam o estoque armazenado, no jejum, escassez de alimentos e reduções na assimilação dos nutrientes. O índice hepatossomático também é considerado um indicativo de condição metabólica e, valores baixos pode ser consequência de uma alta demanda de ATP, induzida pela exposição a contaminantes, na qual utiliza das reservas de energia armazenadas como glicogênio hepático, levando à redução do peso do órgão (ARAÚJO et al., 2018; MACEDA-VEIGA et al., 2012). Em *P. vannamei*, ocorreram

aumentos e reduções do índice hepatossomático, principalmente, em animais expostos às maiores concentrações de glitter (4 e 40 mg/l). Tal perda da homeostase não foi recuperada após a transferência para a água livre de microplástico por seis dias. É possível que o período tenha sido insuficiente para o retorno do tamanho do órgão. Para Adams e Ryon (1994), em ambientes poluídos o aumento do índice hepatossomático pode estar associado ao aumento da atividade do órgão, que induz a ocorrência de hiperplasia e hipertrofia nos hepatócitos, elevando o peso do órgão. No entanto, não pode ser excluída a possibilidade do acúmulo de microplástico e seus derivados no hepatopâncreas, o que aumentaria sua massa quando pesado.

7. CONCLUSÃO

Podemos concluir que a exposição a diferentes concentrações de microplástico do tipo glitter afeta diferentes parâmetros fisiológicos (metabolismo, excreção nitrogenada, substrato energético e osmolalidade) das espécies estudadas e que a salinidade tem um efeito importante nos efeitos deste poluente. Além disso, o glitter contém outras substâncias tóxicas como o acrilato de metila que é um composto químico volátil, altamente irritante do sistema gastrointestinal e mucosas. Os dados mostram que *P. vannamei*, uma espécie encontrada no ambiente marinho/estuarino, parece sofrer maiores impactos da exposição ao microplástico quanto é mantida em água mais salina (35S), mas os camarões *M. amazonicum* (diádromo) e *M. potiuna* (dulcícola) sofrem efeitos dos microplásticos quando mantidos em água menos salina. No entanto, *P. vannamei* consegue recuperar o metabolismo seis dias após a transferência para água livre de microplástico e o período de seis dias foi insuficiente para a retomada do índice hepatossomático, um importante órgão relacionado como estoque de energia nos decápodes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUSCI, C., PABLOS, J.L., CORRALES, T., LÓPEZ-MARÍN, J., MARÍN, I. and CATALINA, F., (2011). 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.

- ADAMS, S. M.; RYON, M. G. A. (1994). Comparison of health assessment approaches for evaluating the effects of contaminant-related stress on fish populations. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, v. 3, p. 15-25.
- AUGUSTO, A., VALENTI, W. C. (2016). Are there any physiological differences between the male morphotypes of the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (*Caridea: Palaemonidae*) *Journal of Crustacean Biology*, 36(5):716-23.
- AUGUSTO, A., GREENE, L. J., LAURE, H. J., & MNAMARA, J. C. (2007). The ontogeny of isosmotic intracellular regulation in the diadromous, freshwater palaemonid shrimps, *Macrobrachium amazonicum* and *M. olfersi* (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology*, 27(4), 626-634.
- AUTA, H. S.; EMENIKE, C.; FAUZIAH, S. H. (2017). Distribuição e importância dos microplásticos no ambiente marinho: uma revisão das fontes, destino, efeitos e possíveis soluções. *Environment International*, v. 102, p. 165-176.
- ARAÚJO, F. G.; MORADO, C.N, PARENTE, T.T.E.; PAUMGARTTEN, F.J; GOMES, I.D. Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (*Pimelodus maculatus* Lacepede, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, p. 351-359,
- AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S. H. (2017). Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution*, v. 231, p. 1552-1559.
- BADEN, S. P.; DEPLEDGE, M. H.; HAGERMAN, L. (1994). Glycogen depletion and altered copper and manganese handling in *Nephrops norvegicus* following starvation and exposure to hypoxia. *Marine Ecology Progress Series*, v 1, p. 65-72.
- BERGAMI, E.; PUGNALINIA, S., VANNUCCINIA, M. L.; MANFRA, L.; FALERI, C.; SAVORELLI, F.; DAWSON, K. A.; CORSIA, I. (2017). Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana*. *Aquatic Toxicology*, v. 189, p.159-169.
- BHANDIWAD, J. S. (2011). The effects of salinity and temperature on the transparency of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *Journal of Experimental Biology*, v. 214, n. 5, p. 709-716.

- BHUYAN, M.D. (2022) Effects of Microplastics on Fish and in Human Health. *Frontiers in Environmental Science*, v 10, p. 250.
- BIANCHINI, A.; LAUER, M. M.; NERY, L. E. M.; COLARES, E. P.; MONSERRAT, J. M.; DOS SANTOS FILHOS, E. A. (2008). Biochemical and physiological adaptations in the estuarine crab *Neohelice granulata* during salinity acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 151, n. 3, p. 423-436.
- BONDAD-REANTASO, M. G.; SUBASINGHE, R. P.; JOSUPEIT, H.; CAI, J.; ZHOU, X. (2012). The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: past, present and future. *Journal of invertebrate pathology*, v. 110, n. 2, p. 158-165.
- BORJA, A.; ELLIOTT, M.. (2019). So when will we have enough papers on microplastics and ocean litter?. *Marine Pollution Bulletin*, v. 146, 312-316.
- BOYKO, O.; BRYGADYRENKO, V.(2023). Survival of Nematode Larvae *Strongyloides papillosus* and *Haemonchus contortus* under the Influence of Various Groups of Organic Compounds. *Diversity*, v. 15, n. 2, p. 254.
- CHAE, Y.; AN, Y. J. (2017). Effects of micro- and nanoplastics on aquatic ecosystems: current research trends and perspectives. *Marine Pollution Bulletin*, v. 124, p. 624- 632.
- CHAE, Y.; KIM, D.; CHOI, M. J.; CHO, Y.; AN, Y. J. (2019). Impact of nano-sized plastic on the nutritional value and gut microbiota of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* via dietary exposure. *Environment International*, v. 130, p. 104848.
- CHEN, Q.; LV, W.. JIAO, Y.; LIU, Z.; LI, Y.; CAI, M.; ZHAO, Y. (2020). Effects of exposure to waterborne polystyrene microspheres on lipid metabolism in the hepatopancreas of juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Aquatic Toxicology*, v. 224, p. 105497.
- CHARMANTIER, G.; SOYEZ, C. (1994) Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 178,n. 2, p. 233-246.
- CLARK, J. R.; COLE, M.; LINDEQUE, P. K.; FILEMAN, E.; BLACKFORD, J.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. (2016). Marine microplastic debris: a targeted plan for understanding and quantifying interactions with marine life. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 14, n. 6, p. 317-324.

- COLE, M; LINDEQUE, P; FILEMAN, E; HALSBAND C, GALLOWAY, TS. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. Environmental Science & technology, v. 49, n. 2, p. 1130-1137.
- DE SOUZA, R. V.; SUPLICY, F. M.; NOVAES, A. L. T. (2021). Depuração de moluscos bivalves. Boletim Didático, v 1, n. 160, p. 1 - 73.
- DING, J.; ZHANG, S.; RAZANAJATOVO, R. M.; ZOU, H.; ZHU, W. (2018). Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental Pollution, v. 238, p. 1-9.
- DÉTRÉE, C.; GALLARDO-ESCÁRATE, C. (2017). Polyethylene microbeads induce transcriptional responses with tissue-dependent patterns in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Journal of Molluscan Studies, v. 83, n. 2, p. 220-225.
- EGNEW, N. RENUKDAS, N.; ROMANO, N.; KELLY, A. M.; LOHAKARE, J.; BISHOP, W. M.; SINHA, A. K. (2021). Physio-biochemical, metabolic nitrogen excretion and ion-regulatory assessment in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) following exposure to high environmental iron. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 208, p. 111526.
- EPA. Plastics Pellets in the Aquatic Environment: Sources and recommendations (1992). Final Report. Washington: EPA/842-B-92-010. Disponível em: <http://globalgarbage.org/13%20EPA%20Plastic%20Pellets.pdf> acesso em: 09/07/2023
- EXLEY, C.; CHAPPELL, JS; BIRCHALL, JD (1991). Um mecanismo para toxicidade aguda de alumínio em peixes. Journal of Theory Biology, v. 151, n. 3, p. 417-428.
- FAO -Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). The state of world fisheriesand aquaculture. Disponível em: <https://www.fao.org/3/ca9229en/CA9229EN.pdf> acesso em: 30/06/2023
- FALASCO, C. F.; DE GUSMÃO, L. F.. (2018). 163- Avaliação da Presença de Microplásticos em Sais de Origem Marinha do Brasil, v. 1, p. 572.
- FREIRE, C. A.; CAVASSIN, F.; RODRIGUES, E. N.; TORRES, A. H.; MCNAMARA, J. C. (2003). Adaptive patterns of osmotic and ionic regulation, and the invasion of fresh water by the palaemonid shrimps. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 136, n. 3, p. 771-778.

GALGANI, F.; FLEET, D.; VAN FRANEKER, J. A.; KATSANEVAKIS, S.; MAES, T.; MOUAT, J.; JANSSEN, C. (2010). Marine strategy framework directive-task group 10 report marine litter. Office for Official Publications of the European Communities. Scientific and Technical Reports, v. 1. p 1-57.

GALLOWAY, TS.; COLE, M.; LEWIS, C. (2017). Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem. *Nature ecology & evolution*, v. 1, n. 5, p. 1-8.

GALLOWAY, TS. (2015). Micro- and Nano-plastics and Human Health. In: Melanie Bergmann M, Gutow L, Klages M, editores. *Marine Anthropogenic Litter*. Springer International Publishing, p. 343-366.

GIMILIANI, G. T.; FORNARI, M., REDÍGOLO, M. M.; BUSTILLOS, J. O. W. V.; DE SOUZA ABESSA, D. M.; 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 Studies in Chemical and Environmental Engineering*, v. 2, p. 100020.

HERREID, C.F., FULL, R.J. (1998). Energetics and locomotion. Macmahon, B. (ed), *Biology of Land Crabs*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 337-377.

HORTON, A. A.; A.; WALTON, A.; SURGEON, D. J.; LAHIVE, E.; SVENDSEN, C (2017). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the total environment*, v. 586, p. 127-141.

IVAR DO SUL, J. A., COSTA, M. F., FILLMANN, G. (2014). Microplastics in the pelagic environment around oceanic islands of the Western Tropical Atlantic Ocean. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 225, p.1-13.

IWALAYE, O. A.; MOODLEY, G. K.; ROBERTSON-ANDERSSON, D. V.. (2021). 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.

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

- KUCHARSKY, L. C. R.; Da Silva, R. S. M. (1991). Effect of composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, v. 99, p. 215-218.
- LE ROY, A.; MAZUÉ, G. P.; METCALFE, N. B.; SEEBACHER, F. (2021). Diet and temperature modify the relationship between energy use and ATP production to influence behavior in zebrafish (*Danio rerio*). *Ecology and evolution*, v. 11, n. 14, p. 9791-9803.
- LI, E., CHEN, L., ZENG, C., CHEN, X., YU, N., LAI, Q., QIN, J. G. (2007). Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*, v. 265, p. 385–390.
- LIU, Y.; WANG, W. N.; WANG, A. L.; WANG, J. M.; SUN, R. Y. (2007). Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. *Aquaculture*, v. 265, n. 1-4, p. 351-358,
- KAPOSI, K., MOS, B., KELAHER, B.P., DWORJANYN, S.A. (2014). Ingestion of microplastic has limited impact on marine larva. *Environmental Science & Technology*, v. 48, p. 1638–1645.
- KYEONG, D.; KIM, J., SHIN, Y.; SUBRAMANIAM, S.; KANG, B. C.; SHIN, E. H.; NAM, B. H. (2019). Expression of heat shock proteins in thermally challenged Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Genes*, v. 11, n. 1, p. 22.
- MACEDA-VEIGA, A.; MONROY, M.; SOSTOA, A. (2012). Metal bioaccumulation in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) in a Mediterranean River receiving effluents from urban and industrial wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 76, p. 93-101.
- MACIEL, Cr. R.; VALENTI, W. C. (2009). Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. *Nauplius*, v. 17, n. 2, p. 61-79.
- MACHADO, M. R. (1999). Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. *Journal of Health Sciences, Londrina*, v. 1, n. 1, p. 63–76.
- MANTEL, L. H.; FARMER, L. L. (1983). Osmotic and ionic regulation. *Internal Anatomy and Physiological regulation*, v. 5, p. 53-161.
- MAYZAUD, P., CONOVER, R.J. (1988). O:N atomic ratio as a tool to describe Zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series*. Oldendorf, v. 45, p. 289–302.

- MENG, J.; WANG, T., LI, L.; ZHANG, G.(2018). Inducible variation in anaerobic energy metabolism reflects hypoxia tolerance across the intertidal and subtidal distribution of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine environmental research*, v. 138, p. 135-143.
- MONTAGNER, C. C.; DIAS, M. A., PAIVA, E. M.; VIDAL, C.(2021). Microplásticos:Ocorrência Ambiental e Desafios Analíticos. *Química Nova*, v. 44, p. 1328-1352.
- MOORE, C. J.; MOORE, S. L.; LEECASTER, M. K.; WEISBERG, S. B. (2001). A comparison of plastic and plankton in the North Pacific central gyre. *Marine pollution bulletin*, v. 42, n. 12, p. 1297-1300
- MORAES-VALENTI, P. M.C; VALENTI, W. C. (2007). Effect of intensification on grow out of the Amazon River prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 38, n. 4, p. 516-526.
- MÜLLER, Y.M.R.;CARPES, S. (1991). *Macrobrachium potiuna* (Müller): aspectos do ciclo reprodutivo e sua relação com parâmetros ambientais (*Crustacea, Decapoda, Palaemonidae*). *Revta. Bras. Zool.* v. 9, p. 81-86.
- MURPHY, F.; QUINN, B. (2018). The effects of microplastic on freshwater *Hydra attenuate* feeding, morphology e reproduction. *Environmental pollution*, v. 234, p. 487-494.
- ODINETZ-COLLART, O. (1993). Ecologia e potencial pesqueiro do camarão-canela, *Macrobrachium amazonicum*, na Bacia Amazônica. *Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia*, v. 2, p. 147-166.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, A., HYLLAND, K. & GUILHERMINO, L. (2013). Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecological Indicators*, v. 34, p. 641-647.
- PÉQUEUX, A. (1995). Osmotic regulation in crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, n 15, p.1-60.
- PILEGGI, L. G.; Magalhães, C.; BOND-BUCKUP, G.; MANTELATTO, F. L.(2013). New records and extension of the known distribution of some freshwater shrimps in Brazil. *Revista mexicana de biodiversidad*, v. 84, n. 2, p. 563-574.

- 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.
- PINHEIRO, L.C.; OLIVEIRA, G.T. (2016). Seasonal variation in metabolic parameters and body condition indices in male and female of the crayfish *Parastacus brasiliensis promatensis* (Crustacea, Decapoda). *Marine and Fresh Water Behavior and Physiology*, v. 53, n. 3, p. 113-129.
- POSSATTO, F. E., BARLETTA, M., COSTA, M. F., IVAR DO SUL, J. A.; DANTAS, D. V. (2011). Plastic debris ingestion by marine catfish: An unexpected fisheries impact. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p.1098-1102.
- RAMAGLIA, A. C., CASTRO, L. M., AUGUSTO, A. (2018). Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. *Journal of Comparative Physiology*, v. 188, p. 729-738.
- REGNAULT, M. (1987). Nitrogen Excretion in Marine and Fresh-Water Crustacea. *Biological reviews*, v. 62, n. 1, p. 1-24.
- RE, AD., DIAZ F., SIERRA E., GÓMEZ-JOMÉNEZ, S. (2004). Consumo de oxigênio, excreção de amônio e capacidade osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinações de temperatura e salinidade. *Ciencias Marinas*, v. 30, n. 3, p. 443-453.
- REYES CHÁVEZ, J.. (2014). Toxicidad y bioacumulación del plomo en *Macrobrachium americanum*.
- RIOS-FUSTER, B.; ARECHAVALA-LOPEZ, P.; GARCÍA-MARCOS, K.; ALOMAR, C.;COMPA, M.; ÁLVAREZ, E.; DEUDERO, S. (2021). Experimental evidence of physiological and behavioral effects of microplastic ingestion in *Sparus aurata*. *Aquatic Toxicology*, v. 231, p. 10573.
- RIOS, L.M., MOORE, C., JONES, P.R. (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 54, n. 8.
- ROCHMAN, C. M.; KUROBE, T.; FLORES, I.; TEH, S. J. (2014). Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed

chemical pollutants from the marine environment. *Science of the Total Environment*, v. 493, p. 656-661.

RODOLFO JR, A.; MEI, L.H. (2007). Mecanismos de degradação e estabilização térmica do PVC: a review. *Polímeros*, v. 17, p. 263-275,

SETIARTO, A.; AUGUTO STRUSSMANN, C., TAKASHIMA, F.; WATANABE, S.; YOKOTA, M (2004). Short-term responses of adult kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicas* (Bate) to environmental salinity: osmotic regulation, oxygen consumption and ammonia excretion. *Aquaculture Research*, v. 35, n. 7, p. 669-677.

SHARMA, S.; CHATTERJEE, S. (2017). Microplastic pollution, a threat to marine ecosystem and human health: a short review. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, p. 21530-21547,

SILVA-CASTIGLIONI, D.; VALGAS, A.A.N.; MACHADO, I.D.; FREITAS, B.S.; OLIVEIRA, G.T. (2015). Effect of different starvation and refeeding periods on macromolecules in the haemolymph, digestive parameters, and reproductive state in *Aegla platensis* (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. v. 49, n. 1, p. 27-45.

STOLTE, A.; FORSTER, S.; GERDTS, G.; SCHUBERT, H. (2015). Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 99, n. 1-2, p. 216-229.

TAGG, A.S.; IVAR DO SUL, J. A. I. (2019). Is this your glitter? An overlooked but potentially environmentally-valuable microplastic. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, Editorial Board, v. 146, pp. 50-53.

THABET, R.; AYADI, H.; KOKEN, M.; LEIGNEL, V. (2017). Homeostatic responses of crustaceans to salinity changes. *Hydrobiologia*, v. 799, p. 1-20.

THOMPSON, R. C.; SWAN, S. H., MOORE, C. J., VOM SAAL, F. S. (2009). Our plasticage. *Philosophical Transactions of the Royal Society B – Biological Sciences*, v. 364, n.1526.

VALDEZ, G.; DÍAZ, F., RE, A. D.; SIERRA, E. (2008). Efecto de la salinidad sobre la fisiología energética del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Hidrobiológica*. v. 18, n. 2, p. 105-115.

- VINAGRE, AS., DA SILVA, R.S.M. (1992). Effects of starvation on the carbohydrate and lipid metabolism in crab previously maintained on a high protein or carbohydrate-rich diet. *Com. Biochem. Physiol.*, v.102, n 3, p. 579-583.
- VIVEKANAND, A. C.; MOHAPATRA, S.; TYAGI, V. K. (2021). Microplastics in aquatic environment: Challenges and perspectives. *Chemosphere*, v. 282, p. 131151.
- Vogt, G. (2019). Functional cytology of the hepatopancreas of decapod crustaceans. *Journal of morphology*, v. 280, n 9, p. 1405-1444.
- WALKINSHAW, C.; LINDEQUE, P. K.; THOMPSON, R.; TOLHURST, T.; COLE M. (2020). Microplastics and seafood: lower trophic organisms at highest risk of contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 190, p. 110066.
- WANG, Z; QU, Y; YAN, M; LI, J; ZOU, J; FAN, L. (2019). Physiological Responses of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* to Temperature Fluctuation in Low-Salinity Water. *Frontiers in physiology*, v. 10, p. 1025.
- WATTS, AJ, URBINA, MA; CORR, S; LEWIS, C; GALLOWAY, TS. (2015). Ingestion of plastic microfibers by the crab *Carcinus maenas* and its effect on food consumption and energy balance. *Environmental science e technology*, v. 49, n. 24, p. 14597-14604.
- WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. (2016). Effect of microplastic on the gills of the shore crab *Carcinus maenas*. *Environmental Science & Technology*, v. 50, n. 10, p. 5364-5369.
- WILCOX, S. J., DIETZ, T. H. (1998). Salinity tolerance of the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771)(*Bivalvia, Dreissenidae*). *The Nautilus*, v. 111, n 4, p.143-148.
- WONG, J. K. H.; LEE, K. K.; TANG, K. H. D.; YaAP, P. S. (2020). Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. *Science of the total environment*, v. 719, p. 137512.
- WORM, B., LOTZE, H. K.; JUBINVILLE, I.; WILCOX, C.; JAMBECK, J. (2017). Plastic as a persistent marine pollutant. *Annual Review of Environment and Resources*, v. 42, p126.
- YU, Y; ZHOU, D; LI, ,; ZHU C. (2018). Advancement and challenges of microplastic pollution in the aquatic environment: a review. *Water, air, & soil pollution*, v. 229, p. 118.

XU, B.; LIU, F.; CRYDER, Z.; HUANG, D.; LU, Z., HE, Y.; XU, J. (2020). Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate—a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 50, n. 21, p. 2175-2222.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: HÉLLEN SIQUEIRA LEITE

Título: "Os efeitos do microplástico glitter na fisiologia de crustáceos marinhos, dulcícolas e diádromos"

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
Dra. Guacira de Figueiredo Eufrazio	Aprovado
MSC. Juliana Rodrigues da Costa	Aprovado

PARECER:

A discente apresentou bem seus resultados e respondeu a perguntas muito bem.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Héllen Siqueira Leite** obteve o seguinte conceito:



APROVADO



REPROVADO

São Vicente, 06 de julho de 2023.

[Assinatura]

Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto

[Assinatura]
Dra. Guacira de Figueiredo Eufrazio

[Assinatura]
MSC. Juliana Rodrigues da Costa