



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista



Beatriz Leite Calixto Nascimento

**Avaliação dos parâmetros fisiológicos do camarão marinho *Penaeus vannamei*
exposto ao metal cádmio**

**São Vicente - SP
2023**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista



Beatriz Leite Calixto Nascimento

**Avaliação dos parâmetros fisiológicos do camarão marinho *Penaeus vannamei*
exposto ao metal cádmio**

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

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

Coorientador(a): Me. Juliana Rodrigues da Costa

**São Vicente - SP
2023**

C154a

Calixto, Beatriz Leite

Avaliação dos parâmetros fisiológicos do camarão marinho *Penaeus vannamei* exposto ao metal cádmio / Beatriz Leite Calixto. -- São Vicente, 2023

30 f. : tabs.

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. Crustáceo. 2. Aquicultura. 3. Poluente. 4. Fisiologia. 5. Metabolismo. 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 à minha família por todo suporte e apoio, em especial a minha mãe Evânia Leite Calixto Nascimento, que sempre acreditou em mim e fez o possível para que eu pudesse seguir e alcançar meus objetivos. E ao meu pai, que hoje não está ao meu lado mas sempre foi um dos meus maiores incentivadores e parceiro de conversas sobre o mar.

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

Agradeço aos meus amigos do Laboratório de Aquicultura Sustentável: Matheus, Héllen, Lucilly, Juliana, Bárbara, Ana Carolina, Andressa, Manu. Vocês fazem dos meus dias no laboratório mais feliz e foram meu suporte para que eu não surtasse durante o período do experimento. Serei sempre grata por ter todos vocês na minha vida.

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

1. RESUMO	3
2. ABSTRACT	4
3. INTRODUÇÃO	5
4. MATERIAIS E MÉTODOS	7
4.1 Coleta dos Animais	7
4.2 Exposição dos Animais ao Cádmio em Laboratório	8
4.3 Avaliação da Taxa de Mortalidade	9
4.4 Taxa de Ingestão	9
4.5 Taxa de Egestão	10
4.6 Crescimento	10
4.7 Consumo de Oxigênio e Excreção Nitrogenada	10
4.8 Avaliação do Substrato Energético Oxidado	11
4.9 Avaliação do Índice Hepatosomático	12
4.10 Avaliação da Osmolalidade da Hemolinfa	12
4.11 Análise Estatística	12
5. RESULTADOS	13
5.1 Mortalidade de <i>P. vannamei</i> exposto ao cádmio	13
5.2 Crescimento, Taxa de Ingestão e Egestão, Metabolismo e Excreção Nitrogenada	13
5.3 Tipo de Substrato Energético Oxidado, Índice Hepatosomático e Osmolalidade da Hemolinfa	15
6. DISCUSSÃO	16
6.1 Mortalidade e Relação com o Ciclo de Muda	16
6.2 Metabolismo e Excreção Nitrogenada	17
6.3 Substrato Energético Oxidado, Índice Hepatosomático e Osmolalidade da Hemolinfa	18
7. CONCLUSÃO	19
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

1. RESUMO

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce e *Penaeus vannamei* é o camarão mais cultivado no mundo. São vários os problemas ambientais que atualmente podem colocar a biodiversidade e a aquicultura em risco, como metais, microplástico e mudanças no clima.. No presente trabalho investigamos os efeitos fisiológicos de diferentes concentrações de cádmio na fisiologia de *P. vannamei*. Os animais foram expostos a duas concentrações de cádmio (0,1 mg/L e 0,5 mg/L) ou à água livre do metal (grupo controle) durante 30 dias. Foi avaliada uma malha de processos fisiológicos (mortalidade, crescimento, ingestão, egestão, metabolismo, excreção,, tipo de substrato energético oxidado, índice hepatossomático e osmorregulação). Foi observada uma mortalidade de 30% em ambas as concentrações do metal (0,1 mg/L e 0,5 mg/L), indicando que o cádmio, mesmo que presente em baixas concentrações pode gerar mortalidade, principalmente associada a períodos do ciclo de muda em que o animal se encontra vulnerável, como a pré e a pós muda. Houve uma redução do consumo de oxigênio em mg ind dia⁻¹ na concentração mais baixa do metal (0,1 mg/L), uma redução da excreção de amônia em mg ind dia⁻¹ na concentração mais alta do metal (0,5 mg/L), assim como uma mudança no substrato energético oxidado nos animais expostos a concentração mais alta (0,5 mg/L), oxidando apenas lipídios, indicando que a exposição crônica ao cádmio gera uma alteração dos efeitos fisiológicos de *Penaeus vannamei*.

Palavras chave: Crustáceo; Aquicultura; Poluente; Fisiologia; Metabolismo.

2. ABSTRACT

Aquaculture is one of the fastest growing food production sectors and *Penaeus vannamei* is the most farmed shrimp in the world. There are several environmental problems that can currently put biodiversity and aquaculture at risk, such as metals, microplastics and climate change. In the present study, we investigated the physiological effects of different cadmium concentrations on the physiology of *P. vannamei*. The animals were exposed to two concentrations of cadmium (0,1 mg/L and 0,5 mg/L) or to metal-free water (control group) for 30 days. A range of physiological processes (mortality, growth, intake, outtake, metabolism, excretion, type of oxidized energy substrate, hepatosomatic index and osmoregulation) was evaluated. A mortality of 30% was observed in both concentrations of the metal (0,1 mg/L and 0,5 mg/L), indicating that cadmium, even if present in low concentration, can lead to mortality, mainly associated with periods of the molting cycle in which the animal is vulnerable, such as pre- and post-molting. There was a reduction in oxygen consumption in mg ind day⁻¹ at the lowest concentration of the metal (0,1 mg/L), a reduction in ammonia excretion in mg ind day⁻¹ at the highest concentration of the metal (0,5 mg/L), as well as a change in the oxidized energy substrate in animals exposed to the highest concentration (0,5 mg/L), oxidizing only lipids, indicating that chronic exposure to cadmium, generates an alteration in the physiological effects of *Penaeus vannamei*.

Key-words: Crustacean; Aquaculture; Pollutant; Physiology; Metabolism.

3. INTRODUÇÃO

Dados da FAO de produção de 2020 publicados no ano de 2022 (FAO, 2022) mostram que o cultivo mundial de crustáceos alcançou cerca de 11.2 milhões de toneladas. Peixes de água doce são predominantemente produzidos, seguidos por camarões marinhos. As principais espécies cultivadas são a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*) (Valenti et al., 2021). Camarões marinhos dominam a produção de crustáceos na região costeira (FAO, 2023). *Penaeus vannamei* é o camarão marinho mais cultivado no mundo.

No entanto, são vários os problemas ambientais atualmente que podem colocar a biodiversidade e a aquicultura em risco. Dentre eles elencamos a contaminação da água por metais, micro- e nanoplásticos, medicamentos, drogas ilícitas e mudanças do clima (Valencia-Castañeda et al., 2022; Li et al., 2023; Chen et al., 2021; Fontes et al., 2020; Dayalan et al., 2022). Com o desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas, os metais têm sido um dos principais responsáveis pela contaminação da água e solos, seja pela negligência no tratamento, seja por acidentes cada vez mais frequentes, que propiciam o lançamento de poluentes nos ambientes aquáticos (Nowacki e Rangel, 2019). Metais não essenciais e potencialmente tóxicos representam um grupo especial, pois não são degradados, química ou biologicamente, de forma natural (Rocha, 2009).

Metais que se acumulam em grandes concentrações nos tecidos dos animais podem gerar bioacumulação (Girard, 2016; Ghilardi-Lopes et al., 2012) e biomagnificação, sendo incorporados à cadeia trófica (Klaassen e Watkins III, 2012; Girard, 2016). A bioacumulação consiste na transferência de metais a partir de uma fonte, como a água, os sedimentos e/ou os alimentos, para organismos. A

biomagnificação decorre de um aumento na concentração do metal ao longo da teia alimentar (Trevizani, 2018). Eles são constituídos por elementos com pesos atômicos entre 63,5 e 200,6 e gravidade específica maior que 5,0 (Srivastava e Majumder, 2008). Muitos metais como o sódio, potássio, cálcio, magnésio, cobre e zinco são essenciais para os animais. Outros metais não essenciais, como o cádmio, são tóxicos mesmo presentes em baixas concentrações (Girard, 2016).

O cádmio tem sido usado intensivamente na galvanoplastia e na fabricação de tintas, plásticos, baterias e na indústria de energia nuclear. (Girard, 2016). O cádmio entra no ambiente por processos naturais como intemperismo e erosão de rochas e solos e também por fontes antropogênicas como a mineração, agricultura, atividades urbanas, fluxos de rejeitos de processos industriais, manufatura, lagoas/poços de cinzas de carvão, combustão de combustíveis fósseis, incineração de efluentes (EPA, 2016). Segundo a resolução CONAMA nº 357/2005 em águas salobras de classe 1 o valor máximo para o cádmio é de 0,005 mg/L. Águas salinas de classe 1 podem ser destinadas à aquicultura, pesca, recreação e proteção das comunidades aquáticas. O cádmio tem efeitos tóxicos graves em organismos aquáticos quando presente em quantidades acima do estabelecido (Yu et al., 2016). Alguns pesquisadores evidenciaram o crescimento acima da média de crustáceos expostos a contaminantes (Yu et al., 2016), em especial metais, o que pode evidenciar um fenômeno chamado hormese. Trata-se de uma resposta adaptativa caracterizada por processos biológicos compensatórios após uma interrupção inicial na homeostase (Calabrese e Baldwin, 2002). Em crustáceos é comum respostas relacionadas a um aumento na taxa de crescimento, o que gera um aumento da frequência de mudas (Kmelc e Jerman, 2000). Trabalhos como o de Rodrigues (2022) verificaram que *P. vannamei* cresce até 80% mais quando exposto a 0,1mg/L de cádmio. Neste trabalho também foi

verificado que os animais expostos ao cádmio sofrem 30% de mortalidade durante 30 dias de exposição. Algumas pesquisas têm sugerido que o aumento da frequência de mudas possa ser uma estratégia dos crustáceos para eliminar o excesso de metais por meio do exoesqueleto. Esse é o caso do caranguejo *Minuca burgersi* exposto ao cobre ou chumbo (Ramos e Leite, 2021) e do camarão *Palaemonetes pugio* exposto ao cádmio, zinco ou cobre (Keteles e Fleeger, 2001).

No presente trabalho investigamos os efeitos fisiológicos de diferentes concentrações de cádmio na fisiologia de *P. vannamei*. Os animais foram expostos a duas concentrações de cádmio (0,1 mg/L e 0,5 mg/L) ou à água filtrada livre do metal (grupo controle) durante 30 dias. Foi avaliada uma malha de processos fisiológicos (mortalidade, taxa de ingestão e egestão, metabolismo, excreção, índice hepatossomático, tipo de substrato energético oxidado, osmorregulação).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta dos Animais

Camarões marinhos adultos da espécie *Penaeus vannamei* (machos e fêmeas) foram coletados na fazenda PRIMAR (- 6.225267005366811, -35.139179952868275), no Rio Grande do Norte na cidade de Tibau do Sul. Os animais foram transportados de Natal/RN até Guarulhos/SP por avião. Em seguida, foram transportados para o campus da UNESP em São Vicente, SP, em carro oficial da UNESP. O trajeto total costuma ter cerca de cinco horas e os animais foram acondicionados em sacos de plástico contendo água aerada do local de coleta e acondicionados em caixas de isopor. Os animais foram mantidos em sala úmida do Laboratório de Aquicultura Sustentável durante quatro dias para aclimação antes de se iniciarem os experimentos. Foram aclimatados às condições laboratoriais em

aquários individuais contendo água com salinidade (20S) e temperatura (25°C). Durante esse período, os animais foram alimentados todos os dias com ração comercial para camarão marinho (Guabi, 40% de proteína) com cerca de 7% da sua biomassa (Tabela 1) Todos os camarões utilizados estavam na fase de intermuda. Os experimentos foram realizados com um total de 10 animais por tratamento (N=10).

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

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

4.2 Exposição dos Animais ao Cádmio em Laboratório

De acordo com a Legislação Brasileira as concentrações de cádmio não devem ultrapassar 0,005 mg/L em águas salobras. No entanto, no litoral sul do estado de São Paulo, já foram detectadas concentrações de até 2,5 mg/L em Cubatão (Ortega et al, 2022). Em outras localidades, como o golfo do México, já foram constatadas concentrações de até 0,26 mg/L (Arcega et al. 2021). Segundo dados obtidos por Wu

e Chen (2004), a LC 50 de cádmio em *P. vannamei* em 24h, 48h, 72h e 96h, valores de 2,58, 1,30, 1,14 e 1,07 mg Cd L⁻¹ respectivamente. Os camarões deste trabalho foram expostos a duas concentrações subletais e encontradas normalmente no ambiente do metal cádmio, 0,1 e 0,5 mg/L (Dinâmica). O grupo controle permaneceu em água sem adição do metal. O cádmio foi diluído em água salobra 20S preparada a partir da mistura de água doce com sal marinho (Hiker Ocean Prosea Salt). Os animais foram mantidos em aquários individuais contendo 5L de água sob aeração constante. A cada 3 dias, a água dos aquários foi trocada a fim de evitar o aumento da concentração da amônia e manter o controle da concentração do metal. Os animais foram mantidos durante 30 dias sob tais condições experimentais para avaliação dos parâmetros fisiológicos.

4.3 Avaliação da Taxa de Mortalidade

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

4.4 Taxa de Ingestão

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

freezer. A taxa de ingestão foi determinada pela diferença entre o alimento oferecido e as sobras.

4.5 Taxa de Egestão

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

4.6 Crescimento

Os animais foram pesados no início e no último dia do experimento (30º dia), visando evitar o estresse decorrente da manipulação. No último dia do experimento, eles foram eutanasiados em gelo, secos em papel absorvente, colocados em uma estufa (Estufa Nova Ética) a 60º durante 48 horas e pesados em balança analítica (Metler Toledo Mod. UMX2, precisão de 1 µg).

4.7 Consumo de Oxigênio e Excreção Nitrogenada

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

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

Onde,

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

Co: concentração inicial de oxigênio na câmara (ml

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

(ml O₂/l) V: volume da câmara respirométrica (L)

ΔT : duração do experimento (h)

f: alteração na concentração de oxigênio nas câmaras

controles MS: massa seca do animal (mg)

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

O consumo de oxigênio e a excreção de amônia total foram expressos com taxas individuais ($\text{mg ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e massa seca específica ($\mu\text{g. mg MS}^{-1}$).

4.8 Avaliação do Substrato Energético Oxidado

O tipo de Substrato Energético Oxidado foi calculado por meio da relação atômica O/N que consiste na relação entre os átomos de oxigênio consumidos,

divididos pelos átomos de nitrogênio excretados (Mayzaud e Conover, 1988). De acordo com Mayzaud e Conover (1988), valores entre 3 e 16 indicam um catabolismo de proteínas puras, entre 50 e 60, um catabolismo de lipídios e proteínas e acima de 60, uma predominância no catabolismo de lipídios.

4.9 Avaliação do Índice Hepatosomático

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

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

4.10 Avaliação da Osmolalidade da Hemolinfa

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

4.11 Análise Estatística

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

5. RESULTADOS

5.1 Mortalidade de *P. vannamei* exposto ao cádmio

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

5.2 Crescimento, Taxa de Ingestão e Egestão, Metabolismo e Excreção Nitrogenada

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

O consumo de oxigênio individual dos animais controles foi 63,21 mg O₂ ind⁻¹ dia⁻¹ mas nos animais exposto a 0,1 mg/L de cádmio apresentaram uma redução de cerca de 12%, como apresentado na Tabela 2. Não foram observadas diferenças significativas quanto ao consumo de oxigênio expresso em massa seca específica (Figura 1). A excreção de amônia individual nos animais controles foi 0,62 mg NH₃ ind⁻¹ dia⁻¹ mas nos animais expostos a 0,5mg/L de cádmio houve uma redução de 56% (Tabela 1). A excreção de amônia em massa seca específica nos animais controle foi de 0,014 µg. mg MS⁻¹ mas nos animais expostos a maior concentração de cádmio (0,5mg/L) uma redução de 50% (Figura 2).

Tabela 2. Crescimento (P), Taxas diárias de ingestão (C), defecação (F), relação fezes/ingestão (F/C), metabolismo (R) e excreção (U) de *P. vannamei* mantido em água controle (0mg/L) ou exposto ao cádmio (0,1 mg/L e 0,5 mg/L) durante 30 dias.

Os dados são apresentados como Média \pm Erro Padrão da Média. N = 10. Letras diferentes indicam diferença estatística.

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

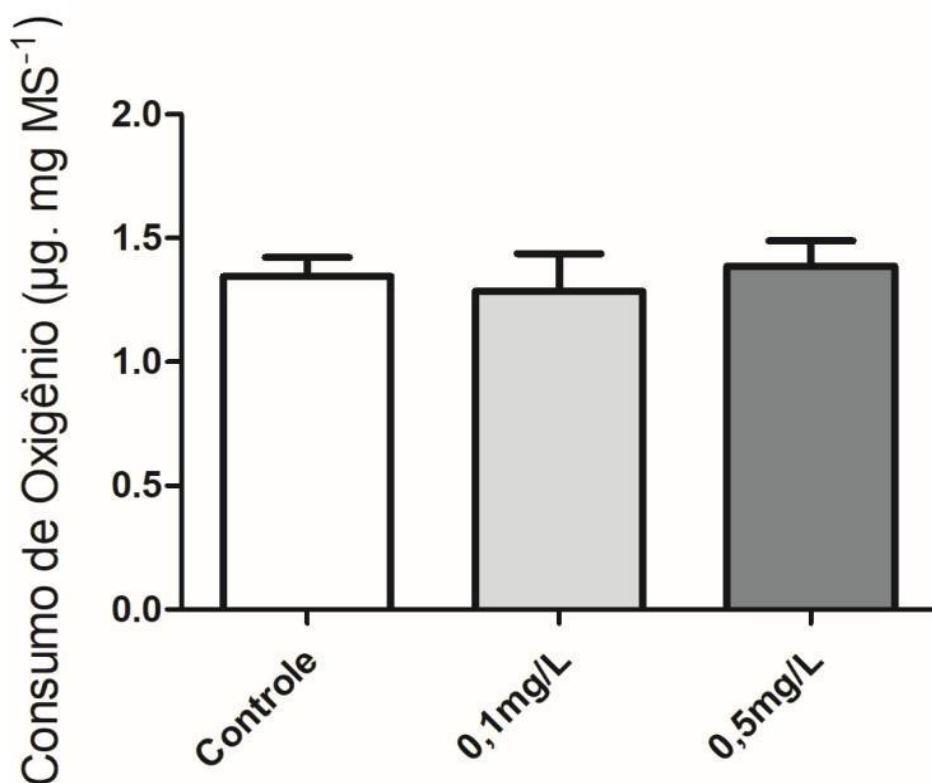


Figura 1. Taxa de consumo de oxigênio em massa seca ($\mu\text{g. mg MS}^{-1}$) do camarão *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de cádmio (controle, 0,1mg/L e 0,5mg/L).

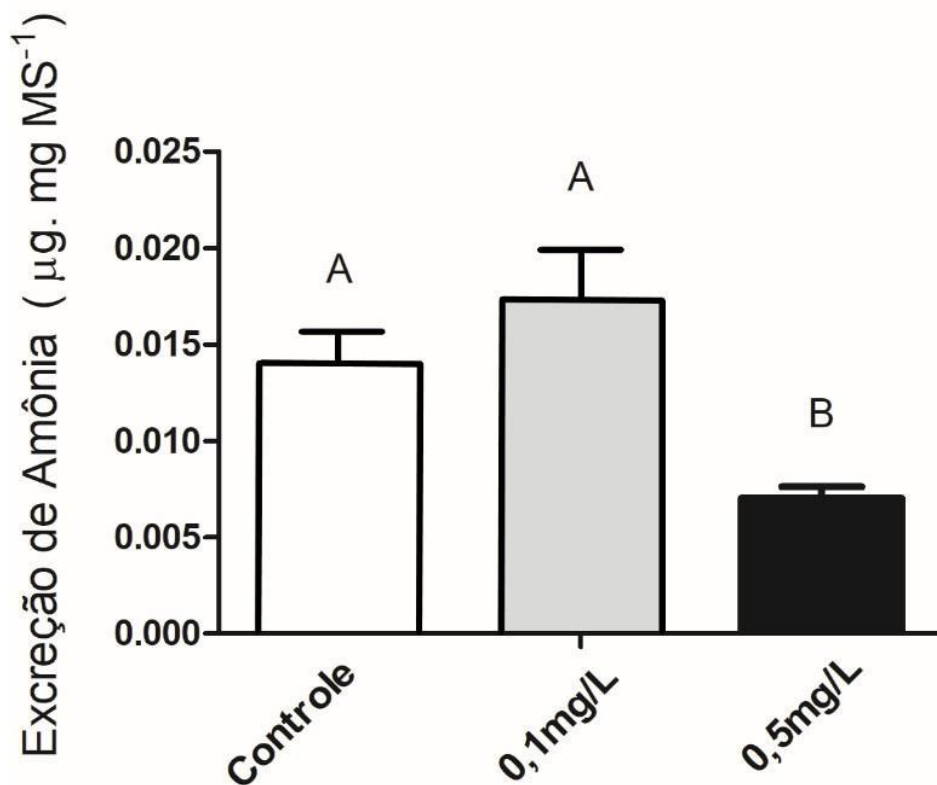


Figura 2. Excreção de amônia em massa seca ($\mu\text{g. mg MS}^{-1}$) do camarão *P. vannamei* exposto a diferentes concentrações de cádmio (controle, 0,1mg/L e 0,5mg/L). Letras diferentes indicam diferença estatística.

5.3 Tipo de Substrato Energético Oxidado, Índice Hepatosomático e Osmolalidade da Hemolinfa

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

Tabela 3. Razão atômica (O:N), índice hepatossomático e osmolalidade da hemolinfa de *P. vannamei* expostos a diferentes concentrações de cádmio, durante 30 dias. Os dados são apresentados como Média \pm Erro Padrão. Letras diferentes indicam

diferença estatística. L (Lipídios) e P (Proteínas).

	0 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
O:N	40,57 ± 2,64 ^A LP	46,15 ± 3,98 ^A LP	102,21 ± 10,54 ^B L
Índice Hepatosomático	4,51 ± 0,25 ^A	4,50 ± 0,28 ^A	4,66 ± 0,17 ^A
Osmolalidade da Hemolinfa (mOsm/Kg água)	663,71 ± 4,78 ^A	649,40 ± 6,37 ^A	660,33 ± 4,56 ^A

6. DISCUSSÃO

6.1 Mortalidade e Relação com o Ciclo de Muda

A exposição ao cádmio parece aumentar a probabilidade de morte em algumas etapas do ciclo de muda dos crustáceos (Tumburu et al, 2012; Arce-Funk et al, 2018) levando em consideração que os animais se encontravam em condições de salinidade ideais para sua sobrevivência que, por ser um animal eurialino se enquadra entre 20-25 (Li et al., 2017). O crescimento dos crustáceos ocorre por um aumento escalonado das dimensões corporais associado à perda periódica do exoesqueleto antigo e a deposição de um mais novo e maior com 2 componentes chave, o aumento em comprimento após a muda e os tempos de intervalo entre as mudas consecutivas, esse processo de eliminação do exoesqueleto antigo é chamado de muda e é regulada por um hormônio conhecido como ecdisona, enquanto o processo de muda completo é conhecido como ecdise (Brusca et al., 2018; Foo, 2023). Durante a pré muda, em muitos crustáceos parte do cálcio é removido da cutícula durante esse período e armazenado dentro do corpo para ser redepositado depois, assim como durante a pós muda, antes que o exoesqueleto esteja endurecido

o animal está mais permeável e portanto mais vulnerável a danos (Brusca et al., 2018). Cada indivíduo tem seus genes únicos que podem afetar seu metabolismo e podem experimentar diferentes condições ambientais, que podem influenciar, por sua vez, sua atual taxa de crescimento (Foo, 2023). O cádmio é conhecido pela sua relativa alta taxa de retenção na biota, com uma meia vida de 25-30 anos em humanos por exemplo, o que também é pertinente para a sua toxicidade (Jefree et al. 2023). Um estudo realizado por Butler e Zou (2021) com *Callinectes sapidus* mostrou que o cádmio se deposita no exoesqueleto dos crustáceos durante a fase de mineralização da pós muda durante o endurecimento da carapaça, provavelmente através do transporte de íons de cádmio por transportadores de cálcio através de um mimetismo iônico do cádmio para o cálcio.

6.2 Metabolismo e Excreção Nitrogenada

O metabolismo é considerado a soma das reações químicas que ocorrem em um organismo e pode ser determinado pelo consumo de oxigênio. A razão pela qual o consumo de oxigênio pode ser usado como uma medida prática da taxa metabólica se deve ao fato de que a quantidade de calor produzido para cada litro de oxigênio usado no metabolismo permanece quase constante, independente do substrato oxidado (Schmidt-Nielsen, 2013). O cádmio pode gerar alterações bioquímicas e disfunções fisiológicas, como na respiração, considerada a atividade fisiológica mais fundamental do metabolismo energético do animal e bom para determinação de toxicidade de metais (Sun et al., 2016; Zhang et al., 2014). Em valores expressos por taxa individual o tratamento exposto à 0,1mg/L de cádmio apresentou redução do consumo de oxigênio, assim como em experimentos realizados com *Exopalaemon carinicauda* (Zhang et al., 2014), *Sinopotamon henanese* (Xuan et al., 2013), *Penaeus indicus* (Chinni et al.) e *Xiphopenaeus kroyeri* (Barbieri et al., 2013). A

alteração do consumo de oxigênio pode ser explicada através da capacidade de transporte de gás pelo tecido, pelo fato de que o metal pode se associar a hemocianina, um pigmento respiratório presente na hemolinfa fazendo com que a função respiratória do pigmento diminua (Xuan et al., 2013).

Os crustáceos são amoniotélicos, ou seja, eliminam amônia por meio de nefrídios e pelas brânquias, onde os processos de filtração e secreção não apenas regulam a eliminação das escórias metabólicas, como também são extremamente importantes para o equilíbrio hídrico e iônico (Brusca et al., 2018). Foi observada uma redução expressiva da excreção de amônia, no tratamento exposto a 0,5 mg/L de cádmio. Essa alteração pode ser observada pois a exposição ao metal pode alterar mecanismos fisiológicos relacionados ao transporte de compostos nitrogenados através das membranas das brânquias que se caracteriza como um órgão multifuncional que realiza uma gama de processos fisiológicos como transporte iônico, balanço ácido-básico e excreção de amônia, e, também é o primeiro órgão a entrar em contato com o ambiente e, portanto, o primeiro a ser atingido pelo poluente (Frias-Espericueta et al., 2008; Henry et al.; 2012). Dados semelhantes de redução da excreção de amônia após a exposição a metais foram encontrados em experimentos realizados com *Penaeus indicus* (Chinni et al., 2002) e *Hyphessobrycon Callistus* (Damato e Barbieri, 2012).

6.3 Substrato Energético Oxidado, Índice Hepatosomático e Osmolalidade da Hemolinfa

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

exposto a 0,5 mg/L de cádmio oxidaram apenas lipídios, mudanças na taxa O:N indicam uma alteração na utilização de energia (Zhang, 2014). Organismos constantemente sujeitos a condições ambientais estressantes podem possuir mecanismos para lidar com fatores que podem ter consequências adversas para o seu fitness e afetar a alocação ótima de energia modulando as demandas de energia para a sobrevivência, bem como as capacidades de assimilação e conversão de energia, entre essas estratégias está o armazenamento e a utilização de reservas de energia. (Sánchez-Paz et al., 2007; Sokolova, 2013).

O índice hepatossomático e a capacidade osmorregulatória do *Penaeus vannamei* não foram afetadas pela exposição ao cádmio em nenhuma das concentrações. O hepatopâncreas é responsável por processos metabólicos importantes relacionados a digestão, ciclo de muda, excreção de metabólitos e detoxificação de metais nos crustáceos, portanto, o índice hepatossomático é uma medida de estresse hepático, podendo ser usado como um indicativo da exposição a um contaminante (Hauser-Davis et al., 2021; Paschoal et al., 2019), como metais, micro e nanoplásticos e mudanças no clima. A osmorregulação é considerada a principal função que mantém o balanço iônico entre os fluidos corporais e o meio aquático externo (Lifat Rahi et al, 2018).

7. CONCLUSÃO

Concluimos que a exposição crônica de *P. vannamei* ao cádmio gera mortalidade associada a fases do seu ciclo de muda, principalmente na pré- e pós-muda, momentos em que o organismo se encontra vulnerável. Além disso evidenciamos que a exposição crônica ao cádmio gera alterações de aspectos fisiológicos do metabolismo, excreção de amônia e utilização de substrato

energético. Por ser um dos crustáceos mais cultivados do mundo a exposição e acumulação de metais no corpo desses organismos são fatores que devem ser levados em consideração pois podem colocar a biodiversidade e aquicultura em risco, além de expor a saúde humana aos riscos da toxicidade deste metal através da sua ingestão.

Os próximos passos a serem realizados são a determinação da concentração de metal da água, corpo e exúvias para estimar se a troca do exoesqueleto é um mecanismo utilizado por esses organismos para a eliminação do excesso de metal do corpo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCE-FUNK, J.; CRENIER, C.; DANGER, M.; BILLOIR, E.; USSEGLIO-POLATERA, P.; FELTEN, V. (2018). High stoichiometric food quality increases moulting organism vulnerability to pollutant impacts: An experimental test with *Gammarus fossarum* (Crustacea: Amphipoda). *Science of the Total Environment*, v. 645, p. 1484-1495.

ARCEGA-CABRERA, F., SICKMAN, J.O., FARGHER, L., HERRERA-SILVERA, J., LUCERO, D., OCEGUERA-VARGAS, I., LAMAS-COSÍO, E., ROBLEDO-ARDILA, P.A. (2021). Groundwater Quality in the Yucatan Peninsula: Insights from Stable Isotope and Metals Analysis. *Groundwater*, v. 59, p. 878–891.

AUGUSTO, A., VALENTI, W. C. (2016). Are there any physiological differences between the male morphotypes of the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Caridea: Palaemonidae)? *Journal of Crustacean Biology*, v. 36, p. 716–723.

AUGUSTO, A., MASUI, D. C. (2014). Sex and reproductive stage differences in the

growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, v. 47, p. 373–388.

AUGUSTO, A., PINHEIRO, A., GREENE, L. J.; LAURE, H. J., e MCNAMARA, J. C. (2009). Evolutionary transition to freshwater by ancestral marine palaemonidae: evidence from osmoregulation in a tide pool shrimp. Aquatic Biology, v. 7, p. 113-123.

BRUSCA, R. C, MOORE, W., SHUSTER, S. M. (2018). Invertebrados. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA.

BUTLER, B.; ZOU, E.; (2021). Cadmium is deposited to the exoskeleton during post-ecdysial mineralization in the blue crab, *Callinectes sapidus*. Science of the Total Environment, v. 798, 149358.

CALABRESE, E. J., BALDWIN, L. A. (2002). Defining hormesis. Human & Experimental Toxicology, v. 21, p. 91-97.

CHEN, L.; GUO, C.; SUN, Z.; XU, J. (2021). Occurrence, bioaccumulation and toxicological effect of drugs of abuse in aquatic ecosystems: A review. Environmental Research, v. 200, 111362.

DAMATO, M.; BARBIERI, E. (2012). Estudo da toxicidade aguda e alterações metabólicas provocadas pela exposição do cádmio sobre o peixe *Hyphessobrycon callistus*. O mundo da saúde, v. 36, p. 574-581.

DAYALAN, V.; KASIVELU, G.; RAGURAMAN, V.; SHARMA, A. N. (2022) Studies on temperature impact (sudden and gradual) of the white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. Environmental Science and Pollution Research.

EPA. Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria: Cadmium. (2016). U.S Environmental Protection Agency. EPA-820-R-16-002.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020 (2020). Sustainability in Action. Rome.

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

FONTES, M. K.; MARANHO, L. A.; PEREIRA, C. D. S. (2020). Review on the occurrence and biological effects of illicit drugs in aquatic ecosystems. Environmental Science and Pollution Research. 27, 30998-31034.

FOO, C. H. (2023). Modeling discontinuous growth in reared *Panulirus ornatus*: A generalized model and Cox proportional hazard model approach. Mathematical Biosciences and Engineering, v. 20, p. 14487-14501.

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

FRÍAS-ESPERICUETA, M. G.; ABAD-ROSALES, S.; NEVÁREZ-VELÁZQUEZ, A. C.; OSUNA-LÓPEZ, I.; PÁEZ-OSUNA, F.; LOZANO-OLVERA, R.; VOLTOLINA, D. (2008). Histological effects of a combination of heavy metals on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. Aquatic Toxicology, v. 89, p. 152-157.

GHILARDI-LOPES, N. P., HADEL, V. F. BERCHEZ, F. (2012). Guia para Educação Ambiental em Costões Rochosos. 1ª edição. Porto Alegre: ARTMED Editora LTDA.

GIRARD, J.E. (2016). Princípios de Química Ambiental. 2ª edição. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda.

HAUSER-DAVIS, R. A.; BORDON, I. C.; KANNAN, K.; MOREIRA, I.; QUINETE, N. (2021). Perfluoroalkyl substances associations with morphometric health indicators in three fish species from differentially contaminated water bodies in Southeastern

- Brazil. Environmental Technology & Innovation, v. 21, 101198.
- HENRY, R. P.; LUCU, C.; ONKEN, H.; WEIHRAUCH, D. (2012). Múltiple function of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Frontiers in physiology*, v. 3.
- KETELES, K. A., FLEEGER, J. W. (2001). The Contribution of Ecdysis to the Fate of Copper, Zinc and Cadmium in Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio* Holthius. *Marine Pollution Bulletin*, v. 42, p. 1397–1402.
- KLAASSEN, C. D., WATKINS III, J. B. (2012). Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange). 2ª edição. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.
- KMECL, P., JERMAN, I. (2000). Biological effects of low-level environmental agents. *Medical Hypotheses*, v. 54, p. 685–688.
- KOROLEFF, F. (1976). Determination of nutrients. *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie Weinheim, p. 1-3.
- LI, E.; WANG, X.; CHEN, K.; XU, C.; QIN, J.G.; CHEN, L. (2017). Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Reviews in Aquaculture*, v. 9, p. 57-75.
- LI, Y.; YE, Y.; RIHAN, N. ZHU, B.; JIANG, Q.; LIU, X.; ZHAO, Y.; CHE, X. (2023). Polystyrene nanoplastics exposure alters muscle amino acid composition and nutritional quality of Pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Science of the Total Environment*, 168904.
- NOWACKI, C. C. B., RANGEL, M.B.A. (2019). Química Ambiental: Conceitos, Processos e Estudo dos Impactos ao Meio Ambiente. 1ª edição. São Paulo: Saraiva Educação S.A.
- LIFAT RAHI, Md; MOSHTAGHI, A.; MATHER, P. B.; HURWOOD, D. A. (2018) Osmoregulation in decapod crustacean: physiological and genomic perspectives.

Hydrobiologia, v. 825, p. 177-188.

ORTEGA, P., VITORINO, H. A., GREEN, S., ZANOTTO, F. P., CHUNG, J. S., MOREIRA, R. G. (2022). Experimental effects of cadmium on physiological response of *Callinectes danae* (Crustacea, Portunidae) from environments with different levels of Cd contamination. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 251.

PASCHOAL, L. R. P.; DE OLIVEIRA, L. J. F.; ANDRIOLI, G. C.; ZARA, F. J. (2019). Dry or wet? What is the best choice to determine gonadosomatic and hepatosomatic indexes in females of *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture Research*, v. 50, p. 3589-3596.

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 B*, v. 188, p. 729–738.

RAMOS, R. A., LEITE, G. R. (2021). Ecdysis as an auxiliary route for the removal of heavy metals in crustaceans: an experimental analysis with fiddler crabs (*Minuca burgersi*). *BioMetals*, v. 35, p. 115–124.

ROCHA, J. C., ROSA, A. H., CARDOSO, A. A. (2009). *Introdução à química ambiental*. 2ª edição. Porto Alegre: Bookman.

RODRIGUES, J. Efeito dos metais na fisiologia de crustáceos e moluscos de interesse econômico. Tese (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual Paulista. São Paulo.

SÁNCHEZ-PAZ, A.; GARCÍA-CARREÑO, F.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; MUHLIA-ALMAZÁN, A.; YEPIZ-PLASCENCIA G. (2007) Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp

(*Litopenaeus vannamei*). Journal of experimental marine biology and ecology, v. 340, p. 184-193.

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

SOARES, M; REZENDE, P.C.; CORREA, N.M.; ROCHA, J.S.; MARTINS, M.A.; ANDRADE, T.C. NASCIMENTO VIEIRA, F. (2020). Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. Aquaculture Reports, v. 17, 100344.

SOKOLOVA, I. M. (2013). Energy-Limited Tolerance to Stress as a Conceptual Framework to Integrate the Effects of Multiple Stressors. Integrative and Comparative Biology, v. 53, p. 597-608.

SRIVASTAVA, N. K., MAJUMDER, C. B. (2008). Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. Journal of Hazardous Materials, v. 151, p. 1–8.

SUN, M.; LI, Y. T.; LIU, Y.; LEE, S. C.; WANG, L. (2016). Transcriptome assembly and expression profiling of molecular responses to cadmium toxicity in hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. Scientific Reports, v.6.

TREVIZANI, T. H. (2018). Bioacumulação e biomagnificação de metais pesados em teias tróficas de estuários do sul-sudeste do Brasil. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo. São Paulo.

VALENCIA-CASTAÑEDA, G.; IBÁÑEZ-AGUIRRE, K.; REBOLLEDO, U. A.; CAPPARELLI, M. V.; PÁEZ-OSUNA, F. (2022). Microplastic contamination in wild shrimp *Litopenaeus vannamei* from the Huizache-Caimanero Coastal lagoon, SE Gulf of California. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v. 109,

p. 425-430.

VALENTI., W. C., BARROS, H. P., MORAES-VALENTI, P., BUENO, G. W.,
CAVALLI, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, v. 19.

TUMBURU, L.; SHEPARD, E. F.; STRAND, A. E.; BROWDY, C. L. (2012). Effects of endosulfan exposure and Taura Syndrome Virus infection on the survival and molting of the marine penaeid shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere*, v.86, p. 912-918.

WILDER, M. N. (2019). Advances in the Science of Crustacean Reproductive Physiology and Potential Applications to New Seed Production Technology. *Journal of Coastal Research*, v. 86, p. 6-10.

WU, J. P., CHEN, H. (2004). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere*, v. 57, p. 1591–1598.

XUAN, R.; WU, H.; LIN, C.; MA, D.; LI, Y.; XU, T.; WANG, L. (2013). Oxygen consumption and metabolic responses of freshwater crab *Sinopotamon henanense* to acute and subchronic cadmium exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 89, p. 29-35.

YANG, W., ZHU, J., ZHENG, C., QIU, H., ZHENG, Z., LU, K. (2018). Succession of bacterioplankton community in intensive shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture systems. *Aquaculture*, v. 497, p. 200–213.

YU, Y., CHEN, S., CHEN, M., TIAN, L., NIU, J., LIU, Y., XU, D. (2016). Effect of cadmium-polluted diet on growth, salinity stress, hepatotoxicity of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Protective effect of Zn(II)–curcumin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 125, p. 176–183.

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

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: BEATRIZ LEITE CALIXTO NASCIMENTO

Título: "Avaliação de Parâmetros fisiológicos do camarão marinho *Penaeus vannamei* exposto ao metal cádmio"

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
MSC. Emanuelle Pereira Borges	Aprovado

PARECER:

A aluna Beatriz apresentou com domínio o trabalho. Os dados obtidos a partir desta pesquisa são importantes para avaliar a fisiologia do animal e como isso afeta a biodiversidade e outros vetores econômicos, como a pesca e aqüicultura.

CONCEITO FINAL:

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

APROVADO

REPROVADO

São Vicente, 08 de dezembro de 2023.



Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto



MSC. Emanuelle Pereira Borges