



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



MATHEUS DA SILVA ARAÚJO

EFEITOS DO MICROPLÁSTICO PET NA FISIOLOGIA DE ANIMAIS
AQUÁTICOS BIOTURBADORES: UM ESTUDO NO CARANGUEJO
CHAMA-MARÉ *LEPTUCA THAYERI*

SÃO VICENTE

2023



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



MATHEUS DA SILVA ARAÚJO

EFEITOS DO MICROPLÁSTICO PET NA FISIOLOGIA DE ANIMAIS
AQUÁTICOS BIOTURBADORES: UM ESTUDO NO CARANGUEJO
CHAMA-MARÉ *LEPTUCA THAYERI*

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.

Orientadora: Profa Dra. Alessandra da Silva Augusto

Co-orientadora: Dra. Andressa Cristina
Ramaglia da Mota

SÃO VICENTE

2023

A663e	<p>Araújo, Matheus da Silva</p> <p>Efeitos do microplástico PET na fisiologia de animais aquáticos bioturbadores: um estudo no caranguejo chama-maré <i>Leptuca thayeri</i> / Matheus da Silva Araújo. -- São Vicente, 2023</p> <p>33 p. : tabs., fotos</p>
	<p>Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente</p> <p>Orientadora: Alessandra da Silva Augusto</p> <p>Coorientadora: Andressa Cristina Ramaglia</p>
	<p>1. Poluente. 2. Crustáceos. 3. Metabolismo. 4. Fisiologia. I. Título.</p>

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, Roseli da Silva e Everaldo de Araújo, por terem me auxiliado e me apoiado durante todos esses anos de graduação, o apoio de vocês foi fundamental.

Agradeço à professora Alessandra por ter me aceitado no laboratório e também por ter aceitado me orientar, sua ajuda na concepção do projeto foi o primeiro passo para a realização deste trabalho.

Agradeço a todos os meus amigos do Laboratório de Aquicultura Sustentável: Beatriz, Ana, Hellen, Juliana, Lucilly, Emanuelle, Bárbara e principalmente à Andressa, que também foi minha co-orientadora. A companhia de vocês sempre tornava os dias mais fáceis, agradeço muito por toda a ajuda.

Agradeço também aos meus amigos da minha turma: Ana Luiza, Ana Caroline, Ana Carolina, Annick, Diana, Eduardo, Gabriela, Gustavo, Laena, Sabrina Vargas e Thomas. Todas as risadas e momentos de desabafos foram essenciais para a continuação deste trabalho.

Ao Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal e especialmente ao Alexandre e ao Caio por também terem auxiliado na coleta.

Por fim, gostaria de agradecer ao Instituto de Biociências do Câmpus Litoral Paulista da UNESP por fornecer toda a estrutura necessária ao Laboratório de Aquicultura Sustentável, onde esse trabalho foi realizado.

1. RESUMO

Os efeitos do microplástico na fisiologia de animais bioturbadores de manguezal ainda não são bem explicados. Esse trabalho teve como objetivo analisar o efeito da contaminação por microplástico no caranguejo semi-terrestre *Leptuca thayeri*, uma espécie estuarina e que habita a zona entre-marés, podendo estar sujeito a contaminação através do sedimento e do ciclo de marés. Também analisamos a capacidade dos organismos recuperarem a homeostase perdida após serem transferidos para um ambiente livre de microplástico. Diversos mecanismos fisiológicos como o metabolismo, a excreção de amônia, o tipo de substrato energético oxidado e a osmorregulação foram analisados após 10 dias de exposição dos animais a 40 mg/L de microplástico de politereftalato de etileno (PET). Os caranguejos foram mantidos nas salinidades onde podem ser encontrados em seu habitat (20, 25, 30, 35 e 40). A exposição ao microplástico causou alterações no metabolismo dos animais que aumentou cerca de 53% e 63% nas salinidades 20 e 25, respectivamente e diminuiu cerca de 50% nas salinidades 30, 35 e 40. A diminuição do consumo de oxigênio causou uma perda na capacidade osmorregulatória na salinidade 30, mas de forma geral os animais permaneceram hiper-reguladores nas salinidades 20 e 25, e hipo-reguladores nas salinidades 35 e 40. A excreção de amônia não foi alterada pela presença do microplástico. O tipo de substrato energético oxidado também sofreu alterações nas salinidades 25 e 30. Na salinidade 25, os animais deixaram de oxidar apenas proteínas e passaram a oxidar uma mistura de lipídios e proteínas, enquanto na salinidade 30 os animais começaram a oxidar apenas proteínas ao invés de proteínas e lipídios. Em um segundo experimento, os animais expostos ao microplástico foram transferidos para um ambiente controle (água filtrada sem a inclusão do microplástico) para verificarmos a capacidade dos animais de recuperar a homeostase perdida, apenas na salinidade 25, pois foi a salinidade onde os efeitos do microplásticos foram mais acentuados. Os animais são capazes de recuperar seu metabolismo, mas não conseguem recuperar as alterações causadas no seu tipo de substrato energético oxidado. Podemos concluir que a exposição ao microplástico do tipo PET pode causar alterações em mecanismos importantes para a biologia dos caranguejos chama-maré, pois afetam a obtenção de energia e a osmorregulação dos animais, que é um mecanismo extremamente importante para animais que vivem em regiões onde há variação de salinidade.

Palavras chave: Poluente, crustáceos, metabolismo, fisiologia.

2. ABSTRACT

The effects of microplastics on the physiology of bioturbator mangrove organisms are not well understood. This work aimed to analyze the effect of microplastic contamination on the semi-terrestrial crab *Leptuca thayeri*, a estuarine species that inhabit the intertidal zone and thus might be subject to contamination through the sediment or the tidal cycle. We also analyzed the organism's capacity to recover its homeostasis after being transferred to an environment free of microplastic. Physiological mechanisms such as the metabolism, ammonia excretion, type of oxidized energetic substrate and osmoregulation were measured after a ten-day exposure to 40 mg/L of polyethylene terephthalate (PET) microplastic. The animals were kept in salinities where they can be found in their natural habitat (20, 25, 30, 35 and 40). The exposure to microplastic caused alterations in the metabolism, which had an increase of 53% and 63% in salinities 20 and 25, respectively, and decreased around 50% in salinities 30, 35 and 40. The decrease in oxygen consumption caused a loss of the osmoregulatory capacity at salinity 30, but in general animals remained hyper-regulators at salinities 20 and 25, and hypo-regulators at salinities 35 and 40. Ammonia excretion was not affected by microplastic exposure. The oxidized energetic substrate also suffered alterations at salinities 25 and 30. At salinity 25, animals stopped oxidizing only proteins and started oxidizing a mixture of proteins and lipids, while at salinity 30 they stopped oxidizing a mixture of proteins and lipids, and started oxidizing only proteins. In a second experiment, the animals exposed to microplastic were transferred to a control environment (with filtered water without microplastic inclusion) to verify the animals' capacity to recover its lost homeostasis, but only at salinity 25, because microplastic effects were more pronounced at this salinity. The crabs are able to recover their metabolism, but can not recover the alterations caused in their type of oxidized energetic substrate. Therefore, we can conclude that the exposure to PET microplastic can cause alterations on important mechanisms for the organism's biology, since they affect their energy gain and osmoregulation, which is an extremely important mechanism for animals that live in environments with salinity variations.

Keywords: Pollutant, crustaceans, metabolism, physiology.

3. INTRODUÇÃO

Os crustáceos decápodes são animais pertencentes ao filo Arthropoda, que compreende os animais mais abundantes na Terra. São compostos principalmente por organismos bentônicos e que possuem uma ampla distribuição. Apesar de serem primariamente organismos marinhos, estes animais se adaptaram e invadiram ambientes de água salobra, água doce e até mesmo o ambiente terrestre através de diversas estratégias fisiológicas (Pisani et al., 2022). São organismos de importância econômica, uma vez que servem para consumo humano. Também são de extrema importância ecológica por conta de sua participação na cadeia trófica (Zhang et al., 2023). Espécies filtradoras, detritívoras e seus estágios larvais podem entrar em contato com partículas de microplásticos e nanoplásticos, enquanto espécies predadoras também podem entrar em contato com este contaminante através de bioacumulação (Haegerbaeumer et al., 2019; Pisani et al., 2022).

Os caranguejos chama-marés são habitantes da zona entre-marés, e possuem uma ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais nos estuários, lagunas e manguezais (Thurman et al., 2013). Durante a maré alta, esses animais se refugiam em suas tocas escavadas no solo. Os machos também deixam as tocas para realizar um comportamento de corte, onde fazem um movimento de aceno com a quela maior para atrair as fêmeas (How et al., 2008). No Brasil, foram descritas dez espécies de chama-marés, que podem ser encontradas principalmente em estuários, lagunas e baías protegidas (Thurman et al., 2013). Possuem uma preferência por habitats com substrato de areia, silte ou argila, podendo ser observados na região entre marés. São animais eurialinos, e toleram uma grande variedade de salinidade, desde 1 a 42 (Thurman et al., 2013).

Os caranguejos chama-marés são animais detritívoros e se alimentam de partículas orgânicas que encontram ao revirar o sedimento. São classificados como engenheiros ecossistêmicos por realizarem o processo de bioturbação, processo que afeta a distribuição de nutrientes no sedimento de áreas de manguezais (Kristensen et al., 2008). A bioturbação de ambientes aquáticos é realizada por animais que diretamente ou indiretamente afetam as matrizes dos sedimentos. A escavação, ventilação, ingestão e defecação de partículas são mecanismos que contribuem para a bioturbação (Pan et al., 2022; Capparelli et al., 2022). Durante o processo de bioturbação a matéria orgânica e os microrganismos são deslocados dentro da matriz sedimentar, portanto,

eles estimulam o metabolismo microbiano, degradação de matéria orgânica e o ciclo de nutrientes, assim como a produtividade da flora (Gribsholt et al., 2003; Nielsen et al., 2003; Kristensen & Alongi, 2006; Penha-Lopes et al., 2009). A bioturbação permite a ventilação de tocas para fins respiratórios e alimentação (Grow, Schutte, Roberts, 2022). Portanto, durante o processo de bioturbação esses animais podem ter um contato muito acentuado e frequente com o microplástico, um contaminante emergente típico de manguezais, ao revirar o sedimento.

Os manguezais são ambientes de extrema importância por conta de sua alta produtividade e grande biodiversidade. No entanto, são ambientes que sofrem grande pressão antropogênica como desmatamento e deposição de resíduos poluentes que degradam esse habitat. Entre os principais poluentes dos manguezais estão os resíduos sólidos, como o plástico (Cordeiro & Costa, 2010). Áreas de manguezais já se tornaram grandes regiões de despejo de plástico, que adentram o ecossistema tanto pelo ambiente terrestre quanto pelo ambiente marinho (Deng et al., 2021). Os microplásticos são partículas sólidas com tamanhos variando entre 5mm e 1 μm (Andrady, 2011) e podem ser degradados em partículas ainda menores, denominadas de nanoplásticos que possuem tamanho inferior a 1 μm (Stapleton, 2021). O tereftalato de polietileno (PET) é um polímero termoplástico e um dos tipos de plástico mais utilizados atualmente por sua aplicabilidade no meio têxtil como fibras para roupas e também na produção de embalagens, como sacolas, garrafas plásticas e filmes (Andrady, 2009). O aumento estimado da produção de PET para 2022 foi de 87,16 milhões de toneladas métricas (Urbanek et al., 2021).

Os estudos com microplásticos vem crescendo muito nos últimos anos e já apontam a presença e acúmulo dessas partículas em ostras *Crassostrea virginica* e no caranguejo *Panopeus herbstii* (Waite et al., 2018). Por meio da bioturbação, o caranguejo chama-maré *Minuca rapax* é capaz de redistribuir o microplástico encontrado no sedimento e o acúmulo deste contaminante nessa espécie já foi observado (Capparelli et al., 2022). Os microplásticos também podem atuar como vetores para metais não-essenciais como Hg, Al, Ni, Cr, Pd, Fe e As. Eles já foram observados na superfície de microplásticos encontrados em ostras *Crassostrea gasar* (Vieira et al., 2021). Em um estudo de Villegas (2022), foi evidenciado que o organofosfato malatião causa uma grande mortalidade em caranguejos *Minuca ecuadoriensis* juntamente com

o microplástico, o que sugere que a partícula corrobora para o alastramento desse composto dentro dos tecidos do caranguejo (Villegas et al., 2022). Em juvenis do caranguejo *Eriocheir sinensis*, a contaminação por microplástico causa estresse oxidativo no hepatopâncreas, evidenciado pela presença de enzimas antioxidantes, o que sugere que a quantidade de espécies reativas de oxigênio pode aumentar na exposição ao microplástico (Ping et al., 2018).

Dentre os órgãos que podem ser afetados pelos microplásticos, as brânquias merecem destaque por serem uma interface entre o meio interno dos animais e o externo. Trata-se de um órgão multifuncional responsável pela respiração, osmorregulação, excreção e regulação do pH (Freire, Onken, McNamara, 2008; Henry et al., 2018). Visto que os microplásticos costumam causar lesões no tecido branquial (Ding et al., 2018), é possível que as funções fisiológicas exercidas pelas brânquias sejam impactadas pelos microplásticos. 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. Essa resposta pode acontecer em crustáceos expostos à salinidades, temperaturas e pHs diferentes do seu habitat natural (Setiarto et al., 2004; Bianchini et al., 2008; Ramaglia et al., 2018). Alguns estudos já demonstraram que o metabolismo pode sofrer efeitos da presença de microplástico no meio ambiente (Chae E An, 2017; Bergami et al., 2017; Isinibilir et al., 2020; Shi et al., 2022). Mudanças no consumo de oxigênio em crustáceos podem impactar diretamente outros mecanismos fisiológicos que demandam gastos de energia, como a osmorregulação, parâmetro essencial para a sobrevivência das espécies em diferentes gradientes de salinidade. Nesse sentido, embora ainda sejam escassos os trabalhos sobre osmorregulação e microplástico, já foi observado que este poluente afeta as trocas iônicas realizadas nas brânquias e diminui a osmolalidade da hemolinfa do caranguejo *Carcinus maenas* (Watts et al., 2016).

Diversos organismos têm a capacidade de recuperar sua homeostase após a exposição a contaminantes. Moluscos bivalves são capazes de realizar a depuração após a transferência de um ambiente contaminado para um ambiente livre de contaminante e recuperam suas funções metabólicas (De Souza et al., 2021). A depuração é muito estudada em moluscos bivalves por conta de sua importância econômica e por conta de sua capacidade de filtração, uma vez que estes animais

conseguem filtrar a água em ótimas qualidades do ambiente, favorecendo a limpeza de metais não essenciais e outros contaminantes (Chinnadurai et al., 2022). A depuração também já foi descrita em crustáceos como *Macrobrachium americanum* expostos ao chumbo (Reyes Chávez, 2014). No entanto, ainda não se sabe sobre a capacidade dos crustáceos em recuperar sua homeostase após exposição ao microplástico.

Visto que o microplástico pode afetar diferentes aspectos da biologia dos animais aquáticos este projeto tem como objetivo analisar os efeitos do microplástico PET na fisiologia do caranguejo semi-terrestre *Leptuca thayeri*. Também será analisada a sua capacidade de recuperar a homeostase após transferência para água livre de microplástico. Nossa hipótese é que animais bioturbadores estão sujeitos a ter um maior contato com o microplástico, o que pode afetar a sua homeostase, principalmente aspectos fisiológicos dependentes da estrutura branquial como a respiração e osmorregulação.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Coleta dos Crustáceos

60 espécimes do caranguejo *Leptuca thayeri* foram coletados manualmente no estuário do rio Itapanhaú no município de Bertioga, SP. Os animais foram transportados em caixas de polipropileno contendo água e uma porção de sedimento do local de coleta para o Laboratório de Aquicultura Sustentável do Instituto de Biociências, campus da UNESP, em São Vicente, SP. Os animais foram aclimatados às condições laboratoriais em aquários de vidro durante o período de 3 dias antes de iniciar os experimentos. Foram alimentados com ração comercial (Guabitech Active, 40% de proteína bruta) moída e fotoperíodo controlado de 12h luz:12h escuro.

4.2. Preparação para o experimento e exposição dos animais ao microplástico

Após 3 dias de aclimação, os animais foram transferidos para aquários de vidro com 3 litros de água nas salinidades 20, 25, 30, 35 e 40. Os animais também tinham acesso ao ambiente aéreo através de pedaços de tijolos colocados no aquário.



Figura 1. Imagem demonstrando como os animais tinham acesso ao ambiente aéreo dentro dos aquários com 3 litros de água.

As salinidades 20, 25 e 30 foram obtidas através da diluição de água salgada com água doce, enquanto as salinidades 35 e 40 foram obtidas através do congelamento de água salgada para aumentar a salinidade. A temperatura foi mantida em 25°C. 30 animais foram expostos a 40 mg/L de microplástico (entre 500 μm e 150 μm) de tereftalato de polietileno ou PET (Polysciences, Inc.) durante um período de 10 dias. Outros 30 animais controle foram mantidos nas mesmas condições, porém sem a adição de microplástico. Cada tratamento foi realizado com pelo menos 6 animais ($N = 6$). Os níveis de amônia e a salinidade foram monitorados diariamente. A água dos aquários foi trocada a cada 3 dias para evitar o aumento da concentração de amônia e para manter a concentração de microplásticos. Para monitorar a salinidade foi usado um refratômetro manual (Kasvi K52-100). Os animais foram alimentados diariamente com ração comercial (Gua bi) moída, exceto no último dia para evitar o efeito calorígeno no consumo de oxigênio (Rosas et al. 2001; Lemos et al. 2001; Augusto & Masui, 2014).

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

No último dia de experimento, 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 nas mesmas salinidades e concentração de microplástico em que estavam os animais. Foram mantidos durante 30 minutos sob aeração, com o intuito de reduzir o estresse ocasionado pela manipulação. Após esse período, a aeração foi retirada e 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 1 hora e 30 minutos. Câmaras respirométricas controle, sem animais, foram mantidas nas mesmas condições experimentais e as variações nas concentrações de oxigênio foram 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).

Foram retiradas 7 amostras com 10 ml de água das câmaras respirométricas ao final da determinação do consumo de oxigênio. A concentração de amônia nas amostras foi determinada através de triplicatas por colorimetria (Koroleff, 1976). O substrato energético oxidado foi calculado pela relação atômica O:N dividindo-se o oxigênio consumido (mol) pela amônia excretada (mol) (Mayzaud, 1988). A relação atômica O:N é utilizada para indicar o tipo de substrato energético que o animal está consumindo (proteína, carboidrato e lipídio). Taxas entre 3 e 16 indicam o uso de proteínas, taxas entre 16 e 60 indicam uma mistura de proteínas e lipídios e taxas acima de 60 indicam o uso predominante de oxidação de lipídios (Mayzaud & Conover, 1988; Mantoan et al., 2021). Estes parâmetros fisiológicos indicam a taxa metabólica dos animais.

4.4. Avaliação da osmolalidade da hemolinfa

Após os animais serem eutanasiados por congelamento, foram retirados cerca de 20 µl de hemolinfa da hemocele ventral pela perfuração da membrana artrodial entre a base e a coxa do último par de pereiópodos utilizando-se seringa de insulina e agulha #25-8. A osmolalidade da hemolinfa foi medida em amostras de 10 µl em um osmômetro de pressão a vapor (modelo Wescor). Os resultados são apresentados em mOsm/Kg água.

4.5. Avaliação da Fisiologia de *L. thayeri* mantido em água livre de microplástico após exposição

Também foi avaliado a capacidade da espécie recuperar sua homeostase após o período de 10 dias de exposição à água contaminada com microplástico. Estes animais também foram expostos à água contaminada com microplástico durante um período de 10 dias, porém apenas na salinidade 25, onde os efeitos do microplástico foram mais acentuados. No décimo dia, os mesmos aspectos fisiológicos citados acima como consumo de oxigênio, excreção de amônia, relação O/N e osmolalidade da hemolinfa foram avaliados. Os animais então foram transferidos para aquários de vidro com 3 litros de água, porém, sem a adição de microplástico durante 10 dias. No último dia do experimento, os mesmos aspectos fisiológicos foram avaliados novamente para determinar se os animais têm a capacidade de recuperar sua fisiologia após a exposição ao contaminante.

4.6. Análise Estatística

O efeito do microplástico sobre a fisiologia dos animais foi avaliado por ANOVA de Dois Fatores (concentração de microplástico e salinidade). As análises foram seguidas pelo teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK), a qual localiza as médias estatisticamente diferentes. Essas análises são 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 $P \leq 0,05$. Já a recuperação da homeostase foi avaliada por ANOVA de um Fator (concentração de microplástico), também seguida pelo teste de médias múltiplas de Student Newman-Keuls (SNK). As figuras foram apresentadas através dos dados inseridos no programa Graphpad.

5. RESULTADOS

5.1. Mortalidade

Os animais mantidos nos tratamentos controle tiveram taxas de mortalidade mais altas do que os animais expostos ao microplástico. Na salinidade 20, houve uma mortalidade de 33,33%, enquanto na salinidade 25 houve uma mortalidade de 50%, já nas salinidades 30 e 40 cerca de 16,66% dos animais morreram. Não foram observadas mortalidades nos animais

mantidos na salinidade 35. Entre os indivíduos expostos ao microplástico, foi observada uma mortalidade de 33,33% na salinidade 40.

5.2. Consumo de Oxigênio

O consumo de oxigênio dos animais controles não apresentaram diferenças significativas em nenhuma das salinidades, mas os animais expostos ao microplástico apresentaram aumentos (20: +53% e 25: +63%) e reduções (30, 35 e 40: cerca de 50%) no consumo de oxigênio em função da salinidade.

Nos experimentos para verificar a capacidade de recuperação da homeostase, observamos que após ser transferida para uma água livre de microplásticos *L. thayeri* foi capaz de recuperar o consumo de oxigênio após 10 dias.

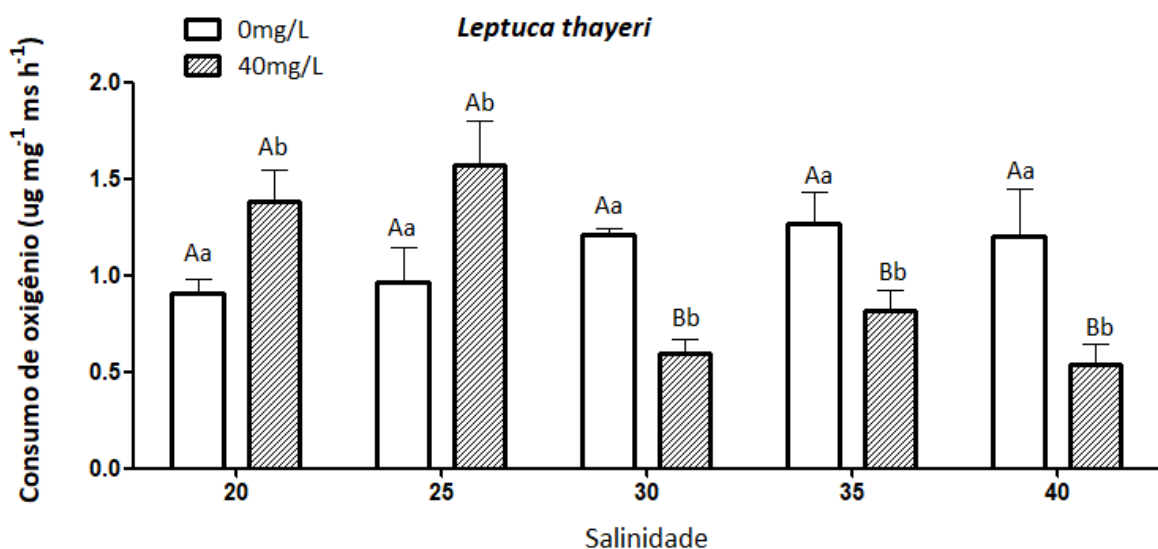


Figura 2. Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) de *Leptuca thayeri* mantidos em diferentes salinidades (20, 25, 30, 35 e 40) e concentrações (0 e 40 mg/L). Letras maiúsculas indicam diferenças entre a mesma concentração em diferentes salinidades. As minúsculas indicam diferenças na mesma salinidade e em diferentes concentrações. ($M \pm \text{SEM}$, $P \leq 0,05$).

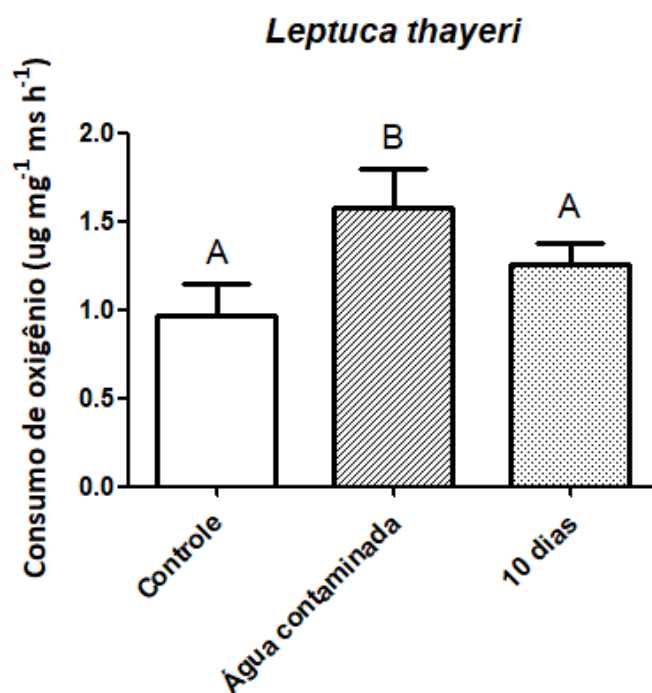


Figura 3. Consumo de oxigênio ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) de *Leptuca thayeri* transferidos para água livre de microplástico durante 10 dias na salinidade 25. Letras maiúsculas indicam diferenças entre animais mantidos em diferentes condições de exposição. ($M \pm \text{SEM}$, $P \leq 0,05$).

5.2 Excreção de Amônia e Tipo de Substrato Energético Oxidado (Relação O/N)

A excreção de amônia não apresentou diferenças significativas em função da salinidade ou da concentração de microplástico.

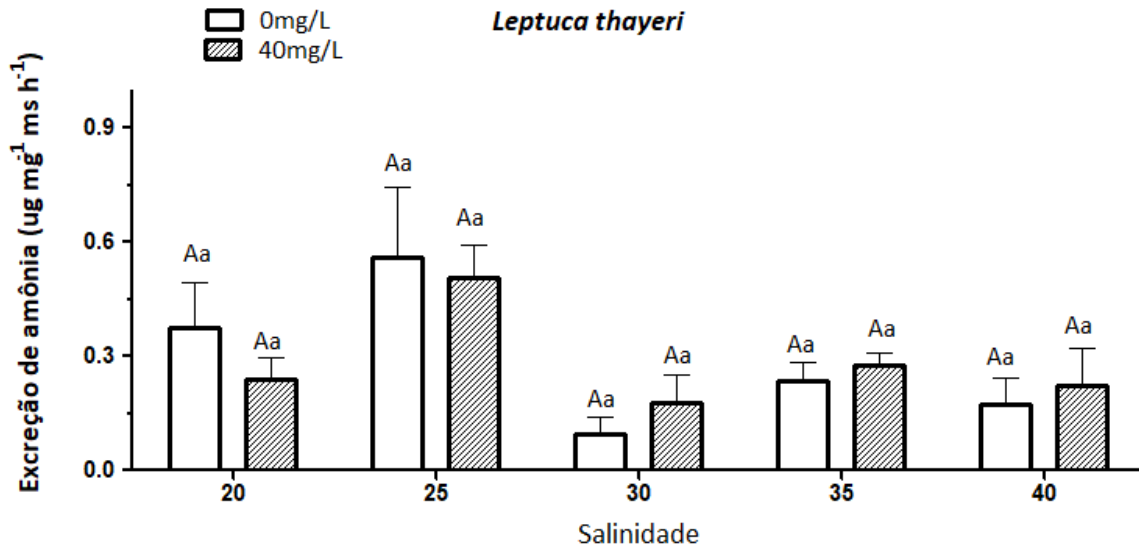


Figura 4. Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) de *Leptuca thayeri* mantidos em diferentes salinidades (20, 25, 30, 35 e 40) e concentrações (0 e 40 mg/L). Letras maiúsculas indicam diferenças entre a mesma concentração em diferentes salinidades. As minúsculas indicam diferenças na mesma salinidade e em diferentes concentrações. ($M \pm \text{SEM}$, $P \leq 0,05$).

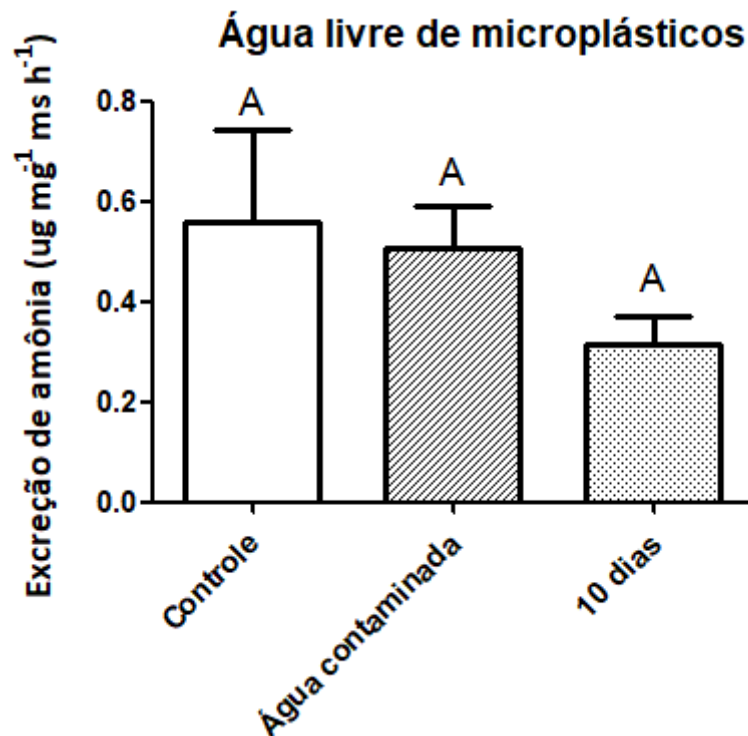


Figura 5. Excreção de amônia ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca h^{-1}) de *Leptuca thayeri* transferidos para água livre de microplástico durante 10 dias na salinidade 25. Letras maiúsculas indicam

diferenças entre animais mantidos em diferentes condições de exposição. ($M \pm SEM$, $P \leq 0,05$).

Leptuca thayeri oxida principalmente uma mistura de proteínas e lipídios na maioria das salinidades. Na salinidade 25, o animal começa a oxidar uma mistura de proteínas e lipídios ao invés de apenas proteínas quando exposto ao microplástico. Na salinidade 30 e exposto ao microplástico, o animal passa a oxidar apenas proteínas, deixando de oxidar proteínas e lipídios.

Após a transferência para a água livre de microplásticos, os animais continuaram utilizando proteínas e lipídios como substrato energético.

Tabela 1. Tipo de substrato energético oxidado (O:N) de *Leptuca thayeri* mantidos em diferentes salinidades (20, 25, 30, 35 e 40) e concentrações (0 e 40mg/L). As letras (P+L) indicam uma mistura de proteínas e lipídios como substrato oxidado. A letra (P) indica proteína como substrato oxidado. Letras maiúsculas indicam diferenças entre a mesma concentração em diferentes salinidades. As minúsculas indicam diferenças na mesma salinidade. ($M \pm SEM$, $P \leq 0,05$).

0mg/L					40mg/L				
20	25	30	35	40	20	25	30	35	40
23,3 ±	14,8 ±	21,9 ±	26,7 ±	30,5 ±	23 ±	33,2 ±	14,2 ±	21 ±	17,9 ±
6,7 ^{Aa}	7,7 ^{Aa}	7,7 ^{Aa}	6,7 ^{Aa}	7,7 ^{Aa}	6,7 ^{Aa}	5,5 ^{Aa}	7,7 ^{Aa}	6,7 ^{Aa}	6,7 ^{Aa}
P+L	P	P+L	P+L	P+L	P+L	P+L	P	P+L	P+L

Tabela 2. Tipo de substrato energético oxidado (O:N) de *Leptuca thayeri* transferidos para água livre de microplástico durante 10 dias na salinidade 25. As letras (P+L) indicam uma mistura de proteínas e lipídios como substrato oxidado. A letra (P) indica proteína como substrato oxidado. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre animais mantidos em diferentes condições de exposição. ($M \pm SEM$, $P \leq 0,05$).

	0 mg/L	40 mg/L	0 mg/L (após 10 dias)
O:N	14,8 ± 7,7 ^A	33,2 ± 5,5 ^A	34,7 ± 5,2 ^A
	P	P+L	P+L

5.3 Osmorregulação

Nos animais expostos ao microplástico do tipo PET a osmolalidade da hemolinfa aumentou nas salinidades de 25 e 30 comparado aos animais mantidos em água sem microplástico. Essa diferença é mostrada na Figura 5 e indica um perfil osmoconformador nas salinidades entre 25 e 30.

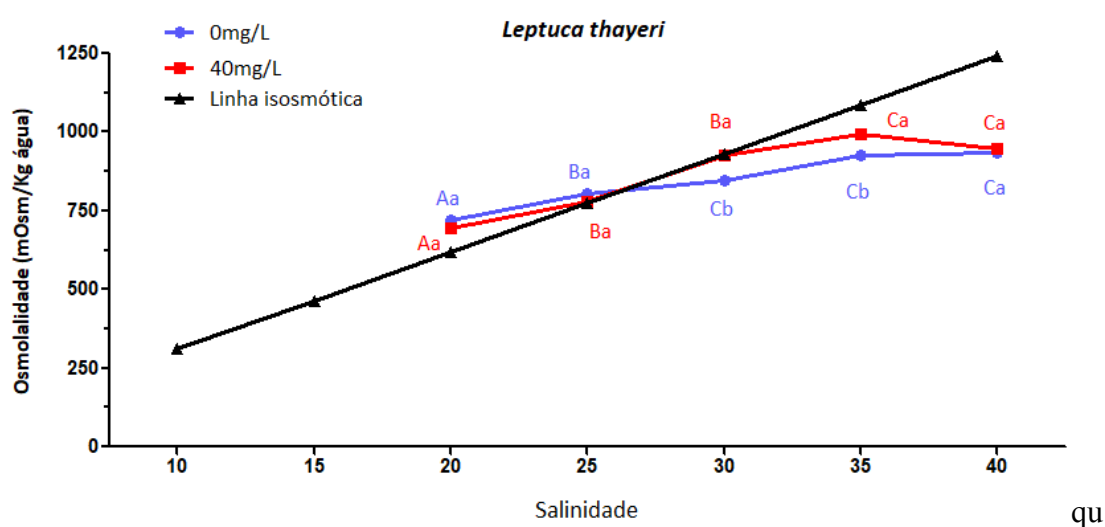


Figura 6. Osmolalidade da hemolinfa (mOsm/Kg água) de *Leptuca thayeri* mantidos em diferentes salinidades (20, 25, 30, 35 e 40) e concentrações (0 e 40mg/L). Letras maiúsculas indicam diferenças entre a mesma concentração em diferentes salinidades. As minúsculas indicam diferenças na mesma salinidade e em diferentes concentrações. (M ± SEM, P ≤ 0,05).

6. DISCUSSÃO

Os microplásticos são contaminantes emergentes e têm recebido atenção nas últimas décadas por conta de sua persistência no ambiente e seus efeitos adversos em organismos e microorganismos aquáticos (Zhang et al., 2022). Neste trabalho, verificamos que a exposição ao microplástico do tipo PET pode causar alterações na fisiologia do caranguejo *Leptuca thayeri*, um animal estuarino da zona entre-marés e que pode estar sujeito a contaminação por microplásticos por meio do sedimento ou da variação das marés (Capparelli et al., 2022). Também verificamos que estas alterações ocorrem em função da salinidade. Os mecanismos que foram afetados, neste caso o metabolismo, a osmorregulação e o tipo de substrato energético oxidado, são importantes para manter a homeostase do organismo. Essas alterações podem estar relacionadas à interação das partículas de microplástico com as brânquias, que são órgãos responsáveis pela respiração, osmorregulação e excreção de amônia. As brânquias também são os primeiros órgãos a entrarem em contato com estes contaminantes e os órgãos que mais acumulam microplásticos (Truchet et al., 2023). Também verificamos que esses animais têm a capacidade de recuperar a homeostase do consumo de oxigênio após serem transferidos para uma água livre de microplásticos.

O metabolismo é um conjunto de reações que ocorrem no corpo de um organismo para o fornecimento de energia. A energia é armazenada em forma de adenosina trifosfato (ATP) e é utilizada em processos vitais para o organismo. A taxa metabólica dos animais pode ser mensurada por meio do consumo de oxigênio. Crustáceos geralmente elevam seu consumo de oxigênio diante de situações estressantes. Essas situações de estresse podem estar relacionadas à variações na salinidade, temperatura ou no pH da água (Li et al., 2015; Ramaglia et al., 2018; Vianna et al., 2020) e também a exposição à contaminantes (Watts et al., 2016). Já foi evidenciado que tanto microplásticos quanto nanoplásticos podem causar alterações no metabolismo de animais (Wen et al., 2019; Isinibilir et al., 2020; Gu et al., 2023). Quando expostos ao estresse da variação de salinidade, cerca de 20-50% da energia metabólica do camarão *Penaeus vannamei* é gasta com a osmorregulação (Li et al., 2015). O caranguejo *Carcinus maenas* aumentou o seu consumo de oxigênio e sua regulação iônica durante a exposição ao microplástico (Watts et al., 2016). Neste trabalho, o consumo de oxigênio dos animais expostos ao microplástico apresentou dois padrões: aumentou nas salinidades mais baixas (20 e 25) e diminuiu nas salinidades mais altas (30, 35 e 40). O aumento no consumo de oxigênio de *L. thayeri* pode estar relacionado a uma maior demanda energética para lidar com o estresse causado pela presença do microplástico no corpo e também para manter seus processos osmorreguladores. Já as reduções no consumo de oxigênio observadas aqui podem estar relacionadas a uma diminuição da atividade

metabólica ou a danos estruturais nas brânquias, o que pode afetar a captação de oxigênio. A exposição ao microplástico pode causar vacuolização nas células branquiais (Xing et al., 2023) o que pode reduzir o espaço de componentes celulares essenciais na respiração celular (como as mitocôndrias), além de reduzir a superfície de trocas gasosas.

De acordo com Sun et al., (2022) os efeitos da pós-exposição ao microplástico podem apresentar 3 padrões diferentes: reversão incompleta, retorno aos níveis controle (recuperação) e resposta estimulatória (similar à hormese). A hormese é um efeito estimulatório induzido por substâncias tóxicas que ao causarem um pequeno estímulo geram uma resposta compensatória (Yu et al., 2015). Após a transferência para uma água livre de microplásticos durante 10 dias, *L. thayeri* é capaz de recuperar seu metabolismo, igualando seu consumo de oxigênio aos animais controle. A recuperação dos mecanismos fisiológicos após a eliminação de um contaminante é muito estudada em moluscos bivalves, porém pouco estudada em crustáceos. O tempo necessário para a recuperação pode ser dependente da espécie e do tipo de contaminante ao qual o organismo estava exposto. Já foi demonstrado que o mexilhão *Mytilus galloprovincialis* pode recuperar seu metabolismo após a exposição a microplásticos de poliestireno após 6 dias, mas não consegue recuperá-lo quando exposto a microplásticos de polietileno de alta densidade (Wei et al, 2021). O estresse oxidativo causado pelos microplásticos em *Clarias gariepinus* também diminui após um período de 30 dias em uma água sem o contaminante (Iheanacho & Odo, 2020).

O modo de vida semi-terrestre dos caranguejos chama-maré impõem desafios na manutenção do seu balanço de sais e água (Vernberg, 1984; Wolcott, 1992; Anger, 2003; Thurman et al., 2017). A osmorregulação é um mecanismo dependente de ATP (Parker et al., 2020) uma molécula responsável por distribuir a energia química gerada durante a respiração celular, que é um processo onde o oxigênio é fundamental. A exposição ao microplástico causou alterações pontuais na osmorregulação de *L. thayeri*. No geral, quando sujeitos ao microplástico a capacidade osmorregulatória não foi muito diferente dos animais controle. Os animais hiper-regularam até a salinidade 25, próximo do ponto isosmótico, e passaram a hipo-regular. Entre as salinidades 25 e 30, os animais perderam sua capacidade de hiper-regular e passaram a osmoconformar quando foram expostos ao microplástico. Considerando que o consumo de oxigênio dos animais diminuiu na salinidade 30 após a exposição, é provável que os caranguejos não obtiveram energia o suficiente para manter seus mecanismos osmorregulatórios nesta salinidade. Já foi descrito por Watts et al., (2016) e Capparelli et al., (2023) que os microplásticos não causam alterações na capacidade osmorregulatória de *Carcinus maenas* e de *Minuca rapax*, respectivamente, e ambos atribuem

este resultado a uma regulação iônica eficiente. A falta de informações sobre o efeito dos microplásticos na osmorregulação dificulta a compreensão dos resultados observados no presente trabalho. Na salinidade 25, *L. thayeri* apresentou uma redução na osmolalidade da hemolinfa durante a exposição ao microplástico, mas após a transferência para a água livre de microplásticos, a osmolalidade da hemolinfa foi similar ao controle.

A excreção de amônia é um indicador da taxa do catabolismo e pode ser alterada em função de mudanças na taxa metabólica. Neste trabalho não foram observadas alterações na excreção de amônia de *L. thayeri* frente à exposição ao microplástico, o que sugere que os mecanismos relacionados ao catabolismo de aminoácidos e à excreção de compostos nitrogenados não foram afetados. A excreção de amônia permaneceu inalterada até mesmo após a transferência para a água livre de microplástico. Em um estudo realizado com o peixe *Sebastes schlegelii*, os microplásticos causaram alterações na taxa metabólica e na excreção de amônia (Yin et al., 2019). Porém, também foi observado no caranguejo filtrador *Petrolisthes laevigatus* exposto ao microplástico que a exposição a esse contaminante também não causou alterações na excreção de amônia (Urbina et al., 2019). Observamos que em salinidades mais altas (30, 35 e 40) os animais apresentaram uma redução na sua excreção nitrogenada, o que está de acordo com Augusto et al. (2009), que explica que isto ocorre por conta do uso dos aminoácidos livres como efetores osmóticos intracelulares.

A razão entre o oxigênio consumido e a quantidade de amônia excretada indica o substrato energético que está sendo oxidado pelo organismo para a obtenção de energia (Mayzaud & Conover, 1988; Augusto et al., 2020; Mantoan et al., 2021). Comparado com os animais controle, na salinidade 25 quando exposto ao microplástico há uma mudança no tipo de substrato energético oxidado por *L. thayeri* de proteínas para uma mistura de proteínas e lipídios. Na salinidade 30, os animais passam a oxidar apenas proteínas ao invés de proteínas e lipídios quando expostos ao contaminante. O uso de proteínas ocorre quando há um excesso da quantidade de proteína fornecida pela dieta ou quando a energia fornecida por outros substratos como lipídios e carboidratos não é o suficiente (Claybrook, 1983; Augusto et al., 2020). Em jejum, os crustáceos podem utilizar as proteínas que seriam usadas para construção de tecidos como meio de obter energia (Wang et al., 2021). Neste sentido, *L. thayeri* na salinidade 30 pode ter começado a oxidar proteínas por conta da falta de alimentação, uma vez que os microplásticos ingeridos podem causar uma sensação de falsa saciedade (Iwalaye et al., 2021). Os caranguejos chama-maré são animais que se alimentam de matéria orgânica encontrada no sedimento. Em um estudo realizado por Capparelli et al. (2022) foi apontado que o caranguejo chama-maré *Minuca rapax* não consegue diferenciar as

partículas de microplástico no sedimento durante a ingestão. Na salinidade 25 mesmo após a transferência para a água livre de microplástico, os animais continuam oxidando uma mistura de proteínas e lipídios, o que sugere que mesmo após a remoção do contaminante eles ainda necessitam de mais fontes de energia para suas funções metabólicas e seus processos vitais.

7. CONCLUSÃO

Podemos concluir que a exposição ao microplástico do tipo PET afeta mecanismos importantes da fisiologia de *L. thayeri* (metabolismo, osmorregulação e substrato energético oxidado), também notamos que a salinidade é um fator importante para a modulação desses efeitos. Em água salobra (salinidade 25) os efeitos do contaminante parecem ser mais acentuados. Contudo, os animais conseguem recuperar seu metabolismo após a transferência para uma água livre de microplásticos. No entanto, eles não conseguem recuperar o tipo de substrato energético oxidado na salinidade 30, o que pode indicar que eles continuam necessitando de mais energia para lidar com os efeitos do microplástico mesmo após a exposição ao contaminante. Estes resultados são importantes para entender como os impactos ambientais causados pela interferência antrópica podem afetar a maneira que os fatores abióticos afetam a biologia dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUGUSTO A, PINHEIRO AS, GREENE LJ, LAURE HJ, MCNAMARA JC (2009). Evolutionary transition to freshwater by ancestral marine palaemonids: evidence from osmoregulation in a tide pool shrimp. *Aquatic Biology*, (7), 113–122.

AUGUSTO A, MASUI DC (2014). Sex and reproductive stage differences in the growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). 47(6), 373–388.

AUGUSTO A, VALENTI WC (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): 716–723.

ANDRADY AL; NEAL MA (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977–1984.

ANDRADY AL (2011). Microplastics in the Marine Environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8) 1596–1605.

ANGER K (2003). Salinity as a key parameter in the larval biology of decapod crustaceans. *Invertebrate Reproduction & Development*, 43(1), 29–45.

BARBIER EB (2016). The protective service of mangrove ecosystems: A review of valuation methods. *Marine Pollution Bulletin*, 109(2), 676–681.

BENYATHIAR P, KUMAR P, CARPENTER G, BRACE J, MISHRA DK (2022). Polyethylene Terephthalate (PET) Bottle-to-Bottle Recycling for the Beverage Industry: A Review *Polymers*, 14(12) 2366.

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.

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.

BIMRAH K, DASGUPTA R, HASHIMOTO S, SAIZEN I, DHYANI S(2022). Ecosystem Services of Mangroves: A Systematic Review and Synthesis of Contemporary Scientific Literature. *Sustainability*, 14(19) 12051.

BROWNE, MA, CRUMP PM, NIVEN SJ, TEUTEN E, TONKIN A, GALLOWAY T, THOMPSON R (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology*, 45(21) 9175–9179.

CAPPARELLI MV, MARTÍNEZ-COLÓN M, LUCAS-SOLIS O, VALENCIA CASTAÑEDA, CELIS-HERNÁNDEZ O, ÁVILA E, MOULATLET GM (2022). Can the bioturbation activity of the fiddler crab *Minuca rapax* modify the distribution of microplastics in sediments? *Marine Pollution Bulletin*, 180.

CAPPARELLI MV, RAMÍREZ CA, RODRÍGUEZ-SANTIAGO MA, VALENCIA-CASTAÑEDA G, ÁVILA E, MOULATLET GM (2023). Effect of salinity on microplastic accumulation and osmoregulatory toxicity in the fiddler crab *Minuca rapax*. *Marine Pollution Bulletin*, 193, 115260.

CHAE Y, AN YJ. (2017). Effects of micro- and nanoplastics on aquatic ecosystems: current research trends and perspectives. *Marine Pollution Bulletin*, 124, 624- 632.

CHINNADURAI S, ELAVARASAN K, GEETHALAKSHMI V, KRIPA V, MOHAMED KS (2022). Temperature, salinity and body-size influences depuration of heavy metals in commercially important edible bivalve molluscs of India. *Chemosphere*, 307, 135879.

COELHO PA, DE ALMEIDA AO, BEZERRA LEA (2008). Checklist of the marine and estuarine Brachyura (Crustacea: Decapoda) of northern and northeastern Brazil. *Zootaxa*, 1956 (1) 1–58.

DENG H, HE J, FENG D, ZHAO Y, SUN W, YU H, GE C (2021). Microplastics pollution in mangrove ecosystems: A critical review of current knowledge and future directions. *Science of The Total Environment*, 753.

DE SOUZA RV, SUPLICY FM; NOVAES ALT (2021). Depuração de moluscos bivalves. *Boletim Didático*.

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.

ERIKSEN M, LEBRETON LCM, CARSON HS, THIEL M, MOORE CJ, BORERRO JC, GALGANI F, RYAN PG, REISSER J (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12).

FREIRE CA, ONKEN H, MCNAMARA JC (2008). A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 151(3), 272–304.

GIMILIANI, GT, FORNARI M, REDÍGOLO MM, BUSTILLOS WV, WILLIAN JO, ABESSA DMS, FAUSTINO MAP (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*, 2.

GRIBSHOLT B, KOSTKA J, KRISTENSEN E (2003). Impact of fiddler crabs and plant roots on sediment biogeochemistry in a Georgia saltmarsh. *Marine Ecology Progress Series*, 259, 237–251.

GNAIGER E (1983). Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In *Polarographic oxygen sensors*. Springer, 337-345.

GU Y, XU D, LIU J, CHEN Y, WANG J, SONG Y, SUN B, XIA B (2023). Bioaccumulation of functionalized polystyrene nanoplastics in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka, 1867) and their toxic effects on oxidative stress, energy metabolism and mitochondrial pathway. *Environmental Pollution*, 319, 121015.

HAEGERBAEUMER A, MUELLET MT, FUESER H, TRAUNSPURGER W (2019). Impacts of Micro- and Nano-Sized Plastic Particles on Benthic Invertebrates: A Literature Review and Gap Analysis. *Frontiers in Environmental Science*, 7.

HE D, LUO Y, LU S, LIU M, SONG Y, LEI L (2018). Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 109, 163–172.

HENDERSON L, GREEN C (2020). Making sense of microplastics? Public understandings of plastic pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110908.

HENRY RP, LUCU C, ONKEN H, WEIHRAUCH D. (2012). Multiple function of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Frontiers in physiology*, v. 3.

HOW MJ, ZEIL J, HEMMI JM (2008). Variability of a dynamic visual signal: the fiddler crab claw-waving display. *Journal of Comparative Physiology A*, 195(1), 55–67.

IHEANACHO SC, ODO GE (2020). Neurotoxicity, oxidative stress biomarkers and haematological responses in African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to polyvinyl chloride microparticles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 232, 108741.

ISINIBILIR M, SVETLICHNY L, MYKITCHAK T, TÜRKERI EE, ERYALÇIN KM, DOGAN O, CAN G, YÜKSEL E, KIDEYS AE (2020). Microplastic consumption and its effect on respiration rate and motility of *Calanus helgolandicus* from the Marmara Sea. *Front. Mar. Sci.*, 7, 603321.

IWALAYE OA, MOODLEY GK, ROBERTSON-ANDERSSON DV (2021). Water Temperature and Microplastic Concentration Influenced Microplastic Ingestion and Retention Rates in Sea Cucumber (*Holothuria cinerascens* Brandt, 1835). *Ocean Science Journal*, 56(2), 141-155.

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

KRISTENSEN E, BOUILLON S, DITTMAR T, MARCHAND C (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany*, 89(2), 201–219.

KRISTENSEN E, ALONGI DM (2006). Control by fiddler crabs (*Uca vocans*) and plant roots (*Avicennia marina*) on carbon, iron, and sulfur biogeochemistry in mangrove sediment. *Limnology and Oceanography*, 51(4), 1557–1571.

LEMOS D, PHAN VN (2001). Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture*, 199(1-2), 131–143.

LEMOS MC, AGRAWAL A (2006). Environmental Governance. *Annual Reviews*, 31, 297 – 325.

LI E, CHEN L, ZENG C, CHEN X, YU NA, LAI Q, QIN JG (2007). Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*, 265, 385–390.

LI E, WANG X, CHEN K, XU C, QIN JG, CHEN L (2015). Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Reviews in Aquaculture*, 9(1), 57–75.

MANTOAN P, BALLESTER E, RAMAGLIA AC, AUGUSTO A (2021). Diet containing 35% crude protein improves energy balance, growth, and feed conversion in the Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture Reports*, 21, 100962.

MASUNARI S (2006). Distribuição e abundância dos caranguejos *Uca* Leach (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(4), 901–914.

MATSUI K, ISHIMURA T, MATTONAI M, IWAI I, WATANABE A, TERAMAE N, OHTANI H, WATANABE C (2020). Identification algorithm for polymer mixtures based on Py-GC/MS and its application for microplastic analysis in environmental samples. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 149.

MAYZAUD P, CONOVER R (1988). O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series*, 45, 289–302.

NG KL, OBBARD JP (2006). Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 52(7), 761–767.

NIELSEN OI, KRISTENSEN E, MACINTOSH DJ (2003). Impact of fiddler crabs (*Uca* spp.) on rates and pathways of benthic mineralization in deposited mangrove shrimp pond waste. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289(1), 59–81.

PARKER JJ, ZIMMER AM, PERRY SF (2020). Respirometry and cutaneous oxygen flux measurements reveal a negligible aerobic cost of ion regulation in larval zebrafish (*Danio rerio*). *The Journal of Experimental Biology*, 223(28).

PENHA-LOPES G, BARTOLINI F, LIMBU S, CANNICCI S, KRISTENSEN E, PAULA J (2009). Are fiddler crabs potentially useful ecosystem engineers in mangrove wastewater wetlands? *Marine Pollution Bulletin*, 58(11), 1694–1703.

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*, 200, 28-36.

PISANI XG, LOMPRÉ JS, PIRES A, GRECO LL (2022). et al. Plastics in scene: A review of the effect of plastics in aquatic crustaceans. *Environmental Research*, 212, 113484.

RAMAGLIA ACM (2023). Os efeitos da mudança climática e dos microplásticos na fisiologia dos animais de cultivo. 80. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Vicente, 2023.

RAMAGLIA AC, CASTRO LM, AUGUSTO A (2018). Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. *Journal of Comparative Physiology*, 188, 729-738.

REYES CHÁVEZ, Joaquín (2014). Toxicidad y bioacumulación del plomo em

Macrobrachium americanum.

RILLIG MC, ZIERSCH L, HEMPEL S (2017). Microplastic transport in soil by earthworms. *Scientific Reports*, 7(1).

ROSAS C, OCAMPO L, GAXIOLA G, SANCHEZ A, SOTO LA (1999). Effect of Salinity on Survival, Growth, and Oxygen Consumption of Postlarvae (PL10-PL21) of *Litopenaeus setiferus*. *Journal of Crustacean Biology*, 19(2), 244–244.

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.

SHI W, GUO H, WANG J, HAN X, CAI W (2022). Adverse Effects of Co-Exposure to Cd and Microplastic in *Tigriopus japonicus*. *Int. J. Environ. Res. Public. Health Int. J Env Res Pub He*, 19(20), 13215.

SMITH NF; WILCOX C; LESSMANN JM (2009) Fiddler crab burrowing affects growth and production of the white mangrove (*Laguncularia racemosa*) in a restored Florida coastal marsh. *Marine Biology*, 156(11), 2255–2266.

SPALDING M, MAMI K, COLLINS, L (2011). *World Atlas of Mangroves*. London: Earthscan.

STAPLETON PA (2021). Microplastic and nanoplastic transfer, accumulation, and toxicity in humans. *Current Opinion in Toxicology*, 28, 62–69.

SUN T, JI C, LI F, WU H (2023). Beyond the exposure phase: Microplastic depuration and experimental implications. *Science of The Total Environment*, 859, 160302.

SUYADI, MANULLANG CY (2020). Distribution of plastic debris pollution and its implications on mangrove vegetation. *Marine Pollution Bulletin*, 160.

THURMAN CL, FARIA SC, MCNAMARA JC (2013). The distribution of fiddler crabs (*Uca*) along the coast of Brazil: implications for biogeography of the western

Atlantic Ocean. *Marine Biodiversity Records*, 6.

TRUCHET DM, BUZZI NS, MOULATLET GM, CAPPARELLI MV (2023). Macroecotoxicological approaches to emerging patterns of microplastic bioaccumulation in crabs from estuarine and marine environments. *Science of The Total Environment*, 870, 161912.

URBANEK AK, KOSIOROWSKA KE, MIROŃCZUK AM (2021). Current Knowledge on Polyethylene Terephthalate Degradation by Genetically Modified Microorganisms. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.

URBINA MA, MONTES CS, SCHÄFER A, CASTILLO N, URZÚA Á, LAGOS ME (2022). Slow and steady hurts the crab: Effects of chronic and acute microplastic exposures on a filter feeder crab. *Science of The Total Environment*, 857, 159135.

VERNBERG FJ (1984). Fiddler Crabs: Ecosystems-Organisms-Molecules. *American Zoologist*, 24(2), 293–304.

VIANNA BDS, MIYAI CA, AUGUSTO A, COSTA TM (2020). Effects of temperature increase on the physiology and behavior of fiddler crabs. *Physiology & Behavior*, 215, 112765.

VIEIRA KS, NETO JAB, CRAPEZ MAC, GAYLARDE C, PIERRI BS, SALDAÑA SERRANO M, BAINY ACD, NOGUEIRA DJ, FONSECA EM (2021). Occurrence of microplastics and heavy metals accumulation in native oysters *Crassostrea gasar* in the Paranaguá estuarine system, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 166.

VILLEGAS L, CABREBRA M, MOULATLET GM, CAPPARELLI M (2022). The synergistic effect of microplastic and malathion exposure on fiddler crab *Minuca ecuadoriensis* microplastic bioaccumulation and survival. *Marine Pollution Bulletin*, 175.

WAITE HR, DONNELLY MJ, WALTERS LJ (2018). Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. *Marine Pollution Bulletin*,

129(1), 179–185.

WALKER TR, FEQUET L (2023). Current trends of unsustainable plastic production and micro(nano)plastic pollution. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 160, 116984.

WANG S, CARTER CG, FITZGIBBON QP, SMITH GG (2021). The use of stoichiometric bioenergetics to elucidate metabolic energy substrate use and specific dynamic action in cultured juvenile spiny lobsters (*Sagmariasus verreauxi*) of different nutritional status. *Aquaculture*, 532, 736021.

WATTS AJR, URBINA MA, GOODHEAD R, MOGER J, LEWIS C, GALLOWAY TS (2016). Effect of Microplastic on the Gills of the Shore Crab *Carcinus maenas*. *Environmental Science & Technology*, 50(10), 5364–5369.

WEI Q, HU CY, ZHANG RR, GU YY, SUN AL, ZHANG ZM, SHI XZ, CHEN J, WANG TZ (2021) . Comparative evaluation of high-density polyethylene and polystyrene microplastics pollutants: Uptake, elimination and effects in mussel. *Marine Environmental Research*, 169, 105329.

WEN B, ZHANG N, JIN SR, CHEN ZZ, GAO JZ, LIU Y, LIU HP, XU Z (2018). Microplastics have a more profound impact than elevated temperatures on the predatory performance, digestion and energy metabolism of an Amazonian cichlid. *Aquatic Toxicology*, 195, 67–76.

WOLCOTT TG (1992). Water and Solute Balance in the Transition to Land. *American Zoologist*, 32(3), 428–437.

XING Y, ZHU X, DUAN Y, HUANG J, NAN Y, ZHANG J (2023). Toxic effects of nitrite and microplastics stress on histology, oxidative stress, and metabolic function in the gills of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Marine Pollution Bulletin*, 187, 114531.

YIN L, LIU H, CUI H, CHEN B, LI L, WU F (2019). Impacts of polystyrene microplastics on the behavior and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Journal of Hazardous Materials*, 380, 120861.

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*, 125, 176–183.

ZHANG T, JIANG B, XING Y, YA H, LV M, WANG X (2022). Current status of microplastics pollution in the aquatic environment, interaction with other pollutants, and effects on aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 16830–16859.

ZHANG S, WU H, HOU J (2023). Progress on the Effects of Microplastics on Aquatic Crustaceans: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5523.

ZHOU Y, ASHOKKUMAR V, AMOBONYE A, BHATTACHARJEE G, SIROHI R, SINGH V, FLORA G, KUMAR V, PILLAI S, ZHANG Z, AWASTHI MK (2023). Current research trends on cosmetic microplastic pollution and its impacts on the ecosystem: A review. *Environmental Pollution*, 3

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: **MATHEUS DA SILVA ARAÚJO**

Título: "EFEITOS DO MICROPLÁSTICO PET NA FISIOLOGIA DE ANIMAIS AQUÁTICOS BIOTURBADORES: UM ESTUDO NO CARANGUEJO CHAMA-MARÉ *LEPTUCA THAYERI*"

Orientador: Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto	<i>Ciparoda</i>
MSC. Juliana Rodrigues da Costa	<i>Cincoavos</i>

PARECER:

O aluno conseguiu demonstrar conhecimento sobre o assunto abordado com êxito e está apto para receber o diploma de Bacharelado em Ciências Biológicas - Biologia Marinha.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Matheus da Silva Araújo** obteve o seguinte conceito:

APROVADO

REPROVADO

São Vicente, 05 de dezembro de 2023.



Profa. Dra. Alessandra da Silva Augusto



MSC. Juliana Rodrigues da Costa