A PRODUÇÃO DE MUCO COMO ESTRATÉGIA DAS OSTRAS FRENTE ÀS MICROFIBRAS TÊXTEIS SINTÉRICAS

MUCUS PRODUCTION AS A STRATEGY OF OYSTERS AGAINST SYNTHETIC TEXTILE MICROFIBERS

Rafael Almeida Ruiz, Letícia Fernanda da Silva, Alexandre Rodrigo Nascimento Gonçalves, Caio Rodrigues Nobre, Paloma Kachel Gusso-Choueri, Laís Adrielle de Oliveira Santos, Renata de Britto Mari.

[1]Universidade Estadual Paulista - Instituto de Biociências, Câmpus do Litoral Paulista, São Vicente – SP.
[2]Universidade Santa Cecilia, Santos – SP. * e-mail: rafinha139091119@gmail.com

RESUMO – As fibras sintéticas têxteis são uma importante fonte de microplásticos em ambientes marinhos, liberados principalmente durante o uso e lavagem das roupas. Esses contaminantes podem ser incorporados por bivalves filtradores, como as ostras, que possuem grande valor ecológico e econômico. Uma vez assimiladas, as microfibras podem se acumular em diferentes órgãos, incluindo o manto, tecido essencial para proteção e formação da concha, podendo, portanto, comprometer a saúde das ostras, com potenciais impactos ambientais, econômicos e para a saúde humana. Fibras de poliéster foram obtidas a partir da lavagem de tecidos em máquina e caracterizadas por FTIR. As ostras da espécie Crassostrea brasiliana foram obtidas de produtores da reserva extrativista do Mandira no município de Cananéia – SP e aclimatadas por 11 dias. A pesquisa foi conduzida por 28 dias com dois grupos, Controle (com água do mar filtrada) e Poliéster (com água do mar filtrada + 531 mf/L). O manto das ostras foi fixado em formol 10%, armazenado em álcool 70%, e seguido de processos histológicos padrão, incluído em parafina, realizados cortes semi seriados de 5 µm, e posteriormente corados com a técnica Alcian Blue (AB). A análise foi realizada por meio de três fotomicrografias obtidas em microscópio de luz (400X). As células de muco foram quantificadas por área (mm²) utilizando-se o software Image Pro-Plus 3.0.1. As microfibras apresentaram comprimento médio de 905 µm e diâmetro de 23 µm, sendo sua composição confirmada por espectro característico de poliéster. A exposição a fibras de poliéster aumentou significativamente as células mucossecretoras no manto das ostras (P=0,047), sugerindo tanto uma resposta defensiva para proteção contra microfibras no organismo quanto uma possível reação patológica relacionada à inflamação. A exposição a microfibras têxteis promoveu aumento significativo nas células de muco no manto de C. brasiliana. Esse efeito sugere uma resposta defensiva do organismo, uma vez que o muco atua como uma barreira física e química contra partículas estranhas, patógenos e poluentes. O aumento da produção de muco no manto pode, portanto, representar uma estratégia para reduzir os efeitos tóxicos e a penetração de microfibras nos tecidos internos.

Palavras-chave: microfibras têxteis; poliéster; ostra; manto; células de muco.

ABSTRACT – Synthetic textile fibers are a key source of microplastics in marine environments, mainly released during clothing use and laundry. These contaminants can be taken up by filter-feeding bivalves like oysters, which hold significant ecological and economic importance. Once ingested, microfibers can accumulate in different organs, including the mantle—an essential tissue for protection and shell formation, and can therefore compromise the health of the oysters, with potential environmental, economic, and human health consequences. Polyester fibers were sourced from machine-washed fabrics and characterized using FTIR. Oysters (Crassostrea brasiliana) were purchased from producers in the Mandira extractive reserve near Cananéia, São Paulo, and acclimated for 11 days. The study lasted 28 days, with two groups: Control (filtered seawater) and Polyester (filtered seawater + 531 mf/L). The oyster mantle was fixed in 10% formalin, preserved in 70% alcohol, and processed for histology. Semi-serial 5-µm sections were prepared, stained with Alcian Blue, and analyzed using three photomicrographs under a 400X light microscope. Mucus cells were quantified by area (mm²) using Image Pro-Plus 3.0.1 software. Microfibers averaged 905 µm in length and 23 µm in diameter, confirmed by their characteristic polyester spectrum. Exposure to polyester fibers significantly increased mucus-secreting cells in the mantle (P=0.047), indicating a defensive response against microfibers and a potential inflammation-related pathology. Textile microfiber exposure led to a marked rise in mucus cells within the oyster's mantle, suggesting a defense mechanism where mucus acts as a barrier to foreign particles, pathogens, and pollutants. Increased mucus production may thus be a strategy to mitigate the toxic effects and prevent microfibers from penetrating deeper tissues.

Keywords: textile microfibers; polyester; oyster; mantle; mucus cells.

1 INTRODUÇÃO

Fibras sintéticas de origem têxtil têm se mostrado como uma das principais responsáveis pelo cenário de contaminação por microplásticos em ambientes marinhos e costeiros (Boucher e Friot, 2017). Sendo assim, a chegada destas fibras aos ambientes via efluente, ocorre tanto durante o processo de lavagem das roupas em máquinas de uso domiciliar, como o próprio desgaste das roupas em uso no cotidiano, que ao formarem as bolinhas, denominadas “pilling”, (Fernandes et al., 2024) acabam liberando as fibras dos tecidos.

A presença destas fibras no ambiente aquático pode resultar na assimilação por organismos, como aqueles que se alimentam via filtração, a exemplo dos bivalves (Abdou et

al, 2018), que são uma importante fonte de alimentos e, portanto, de grande relevância comercial (Allam e Espinosa, 2015). Entre as espécies que compõem o grupo estão as ostras, animais que habitam águas salgadas em ambientes estuarinos ou salobros (Zhu et al., 2020).

Á depender do seu tamanho, microfibras sintéticas, após serem assimiladas, podem se distribuir em diferentes órgãos, como brânquias, músculo, glândulas digestivas, intestino e manto (Von Moos et al., 2012; Zhu et al., 2020; Mladinich et al., 2023). O manto especificamente trata-se do primeiro tecido à entrar em contato como xenobióticos uma vez que a água entra em sua cavidade e segue em contato com as brânquias (LaDoucer, 2021), logo estudos têm demonstrado a presença de microplásticos no manto de ostras como na espécie *Crassostrea gigas* (Zhu et al., 2020) e Pinctada fucata (Han et al., 2022), sendo que neste último estudo a presença dos microplásticos não se restringiram apenas à aderência superficial neste tecido, ressaltando também a presença no interior do tecido.

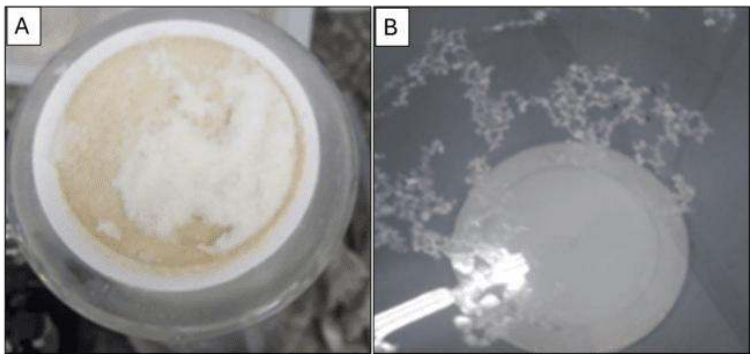
A constatação de microfibras no manto de bivalves pode refletir na saúde destes animais, uma vez que o manto auxilia na formação das conchas e ligamentos, além de ter função protetiva contra xenobióticos, desempenhada pelas células produtoras de muco (Allam e Espinosa, 2015; LaDoucer, 2021). Muito embora não existam estudos histológicos no manto de ostras na presença de microfibras sintéticas, já foi descrito aumento na densidade das células de muco no manto de ostras *Crassostrea brasiliana* expostas ao contaminante orgânico fenantreno (Dos Reis et al., 2015).

Por serem organismos sésseis e filtradores as ostras apresentam um importante papel ecológico e têm sido amplamente utilizadas como biomarcadores de contaminação ambiental (Nobre et al., 2020; Campos et al., 2022; Nobre et al., 2024). Ademais bivalves como a espécie de ostra-do-mangue *C. brasiliana*, são recursos pesqueiros obtidos ao longo de toda a costa brasileira (Machado, 2002) e amplamente utilizados para o consumo humano. Sendo assim, efeitos nestes organismos podem tanto representar um risco para economia e renda de pescadores, quanto para a própria população ao consumir estes organismos contaminados. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de microfibras sintéticas de origem têxtil nas células secretoras de muco do manto de espécimes de ostras *Crassostrea brasiliana*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Fibras de poliéster foram obtidas seguindo a metodologia de Napper e Thompson (2016) em que tecidos de poliéster foram lavados em máquina de lavar e as fibras liberadas foram coletadas (Figura 1). Amostras das fibras foram separadas e imagens capturadas em microscópio óptico (câmera Motic Cam) e o tamanho médio mensurado com o auxílio do programa Image Pro-Plus 3.0. A composição das fibras foi confirmada através da utilização de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).

Figura 1 - Recuperação das fibras A) Membrana com fibras de poliéster liberadas do tecido após lavagem e B) Balde de metal com efluente coletado da máquina após lavagem.



Fonte: Fotomicrografia dos autores

Ademais, ostras da espécie *Crassostrea brasiliana* foram obtidas de produtores da reserva extrativista do Mandira no município de Cananéia - SP. Para tanto, 6 ostras foram utilizadas para ser avaliada a saúde antes do início do experimento (T0) e 48 foram utilizadas para a exposição, sendo divididas em dois tratamentos: controle (C) contendo apenas água do mar e poliéster (PES), contendo água do mar e uma concentração de aproximadamente 531 microfibras/L (Pedrotti et al., 2021). O período de exposição foi de 28 dias, sendo coletadas amostras do manto ao final do período de exposição. O manto das ostras de cada tratamento foi dissecado e fixado em formol a 10% por um período de 24 horas. Posteriormente, foram armazenados em álcool 70%. As amostras depois de fixadas foram embebidas em parafina e cortadas em cortes semisseriados de 5 μm com distância de 200 μm entre si, coradas com

Alcian Blue através do método descrito por Cargnin-Ferreira e Sarasquete (2008) e dos Reis et al. (2015). Posteriormente foram obtidas três fotomicrografias de cada corte histológico com o auxílio de microscópio de luz (400X) e câmera digital Motic Image®. As células de muco foram quantificadas por área (mm²) utilizando-se o software Image Pro-Plus 3.0.1. A razão das células de muco foi obtida conforme apresentado na equação 1.

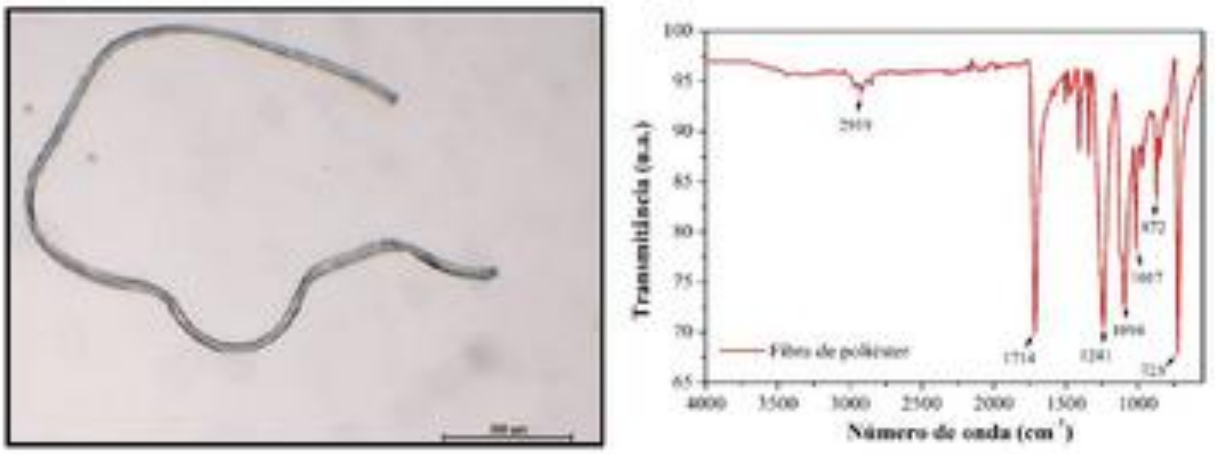
$$\text{Densidade de células mucosas} = \frac{\text{Número de células mucosas}}{\text{Área total}} \qquad (1)$$

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade por meio dos métodos de Shapiro-Wilk e teste de Bartlett, respectivamente. Em sequência foi realizado teste t de Student.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comprimento médio e o diâmetro das microfibras produzidas neste estudo foram de ~905 µm e diâmetro de ~23µm. O espectro que caracteriza as fibras está ilustrado na Figura 2, onde se identificam bandas típicas das fibras de poliéster.

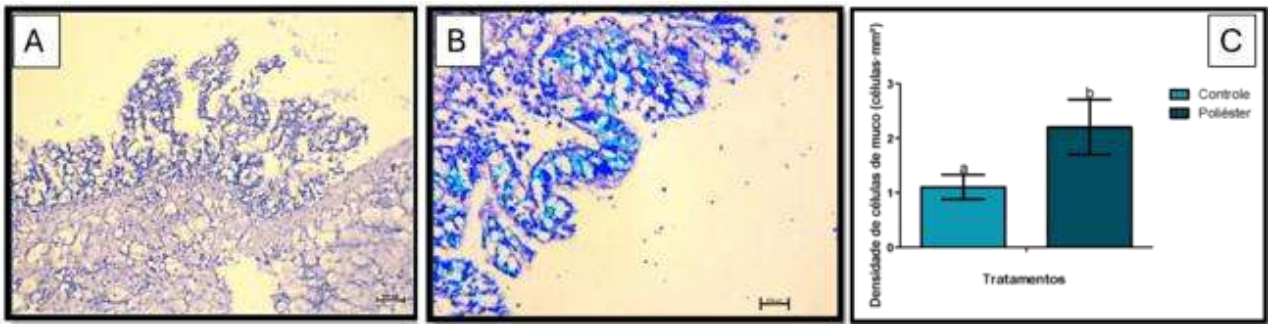
Figura 2 - Fibra de poliéster observada em microscópio e espectros FT-IR (UATR) de amostras de poliéster.



O tamanho das fibras obtidos vão de acordo com o relatado por estudos que possuíram como enfoque estudar os padrões de liberação de fibras oriundas da lavagem de roupas, como Napper e Thompson, (2016), no qual o tamanho das fibras liberadas pela lavagem de roupas de poliéster levou à liberação de fibras de fibras maiores que ~7,8mm e De Falco et al., (2018) na qual o comprimento das fibras liberadas por lavagem chegou a 2mm de comprimento, liberando mais de 475.000 fibras por mg de tecido. Em estudos que se objetivaram a avaliar a presença de fibras em ambientes marinhos e estuarinos, como o estuário de Santos, foram relatadas fibras chegando até mesmo à 2000 μm (Ribeiro et al., 2023). Logo tanto as presenças de fibras longas no ambiente também poderiam levar à incorporação destas por bivalves, uma vez que foram detectadas fibras com tamanhos superiores à 900 μm em ostras *Crassostrea gasar* (Lins et al., 2024).

Quando se trata dos resultados obtidos para a quantificação de células mucossecretoras, obteve-se que os dados passaram no teste de normalidade (P=0,946), sendo que a análise ANOVA demonstrou aumento significativo (P=0,047) no número de células no manto das ostras expostas ao tratamento contendo fibras de poliéster (Figura 3).

Figura 3 - A) Fotomicrografia do manto no grupo Controle. B) Fotomicrografia de manto do grupo Poliéster. C) Densidade de células produtoras de muco por tratamento (mm²). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa (p<0,05).



Microfibras possuem a tendência de se aderir em diferentes órgãos de bivalves, sendo o manto um deles (Kolandhasay et al.,2018), demonstrando uma nova via de assimilação de microplásticos e que poderiam ocasionar alterações. De fato, os resultados do presente estudo

se mostram de acordo com estudos em bivalves que têm utilizado o manto como tecido-alvo de contaminantes orgânicos presentes em ambiente aquático, como fenantreno e tralopyril (Dos Reis et al., 2015; Wang et al., 2022). Bivalves ao entrarem em contato com partículas plásticas possuem a capacidade de selecionar aquelas que serão incorporadas (Ward et al., 2019), entretanto deve-se considerar a capacidade destas microfibras em liberarem aditivos que possam estar presentes na sua composição, assim como a capacidade da própria partícula com sua característica abrasiva que pode ter levado a este aumento no número das células de muco (Da Silva et al., 2022). Além disso, a capacidade de partículas plásticas, tanto isoladas quanto associadas a outros contaminantes, e presentes nos ambientes marinho e costeiro, em ocasionar danos histológicos em invertebrados também têm sido relatadas em estudo que analisou amostras de tecidos de brânquias e que possuem contato direto com contaminantes presentes na água (Da Silva et al. 2024).

Ademais, a presença de fibras em organismos aquáticos, tanto em tamanho micro como até mesmo nano, tem sido relatada como causadora do aumento da produção de muco em diferentes organismos marinhos como corais (Isa et al., 2023) e em distintos órgãos como glândula digestiva (Auguste et al., 2023). Estudos demonstram o papel do muco em capturar contaminantes orgânicos, apesar disso pode sofrer danos devido ao estresse oxidativo, sendo também relatado que a produção de muco é grande consumidora de energia nos organismos, prejudicando assim a saúde do organismo e consequentemente do seu ecossistema, uma vez que possuem um papel ecológico fundamental como a manutenção da qualidade das águas e ciclagem de nutrientes e importantes engenheiros do ecossistema (Kamini e Batubara, 2022; Mentino et al., 2025).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo apresentou primeiros insights sobre como microfibras sintéticas podem afetar a produção de muco no manto de ostras *Crassostrea brasiliana*, aumentando significativamente sua produção, logo demonstrando um risco ligado à presença deste contaminante emergente em ambientes costeiros e estuarinos, fornecendo novos

embasamentos para a criação de legislações e ações que visem à mitigação e/ou prevenção destes danos.

Os autores agradecem ao CNPq (nº 17427), FAPESP (nº 2022/12484-1) pelas bolsas concedidas e à FAPESP pelo financiamento (processo nº 2023/02394-8).

5 REFERÊNCIAS

Allam, B., Espinosa, EP. Mucosal immunity in mollusks. In Mucosal health in aquaculture. Academic Press, 2015, pp. 325-370.

Abdou, M, Dutruch, L, Schäfer, J, Zaldibar, B, Medrano, R, Izagirre, U, Gil-Díaz, T, Bossy, C, Catrouillet, C, Hu, R, Coynel, A, Lerat, A, Cobelo-García, A, Blanc, G, Soto, M. Tracing platinum accumulation kinetics in oyster Crassostrea gigas, a sentinel species in coastal marine environments. The Science of the total environment, 2018, 615, 652–663.

Auguste, M, Leonessi, M, Bozzo, M, Risso, B, Cutroneo, L, Prandi, S, Kokalj, A J. Drobne, D., & Canesi, L. Multiple responses of Mytilus galloprovincialis to plastic microfibers. The Science of the total environment, 2023, 890, 164318. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164318

Boucher, J, Friot, D. Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources. 2017, 10.2305/IUCN.CH.2017.01.en.

Campos, BG, Fontes, MK, Gusso-Choueri, PK, Marinsek, GP, Nobre, CR, Moreno, BB, Abreu, FEL, Fillmann, G, de Britto Mari, R, & Abessa, DMS. A preliminary study on multi-level biomarkers response of the tropical oyster Crassostrea brasiliana to exposure to the antifouling biocide DCOIT. Marine pollution bulletin, 2022, 174, 113241.

Cargnin-Ferreira, E, Sarasquete, C. Histofisiología de Moluscos Bivalvos Marinos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2008, Madrid.

Da Silva, LF, Nobre, CR, Moreno, B. B., Pereira, CDS, Gonçalves, ARN, do Nascimento, NSS, Marinsek, GP, de Britto Mari, R, Simões, FR, Carnaúba, JH, Choueri, RB, Gusso-Choueri, PK, Cesar, A. Exposure to microplastics contaminated with pharmaceuticals and personal care products: Histological effects on Ucides cordatus. The Science of the total environment, 2024, 956, 177042. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177042

Da Silva, LF, Nobre, CR, Moreno, BB, Pereira, CDS, de Souza Abessa, DM, Choueri, RB, Gusso-Choueri, PK, & Cesar, A. Non-destructive biomarkers can reveal effects of the association of microplastics and pharmaceuticals or personal care products. Marine pollution bulletin, 2022, 177, 113469. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113469

Dos Reis, IM, Mattos, JJ, Garcez, RC, Zacchi, FL, Miguelão, T, Flores-Nunes, F, Toledo-Silva, G, Sasaki, ST, Taniguchi, S, Bícego, MC, Cargnin-Ferreira, E, Bainy, AC. Histological responses and localization of the cytochrome P450 (CYP2AU1) in Crassostrea brasiliana exposed to phenanthrene. Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands), 2015, 169, 79–89.
Fernandes, AN, Lara, LZ, De Falco, F, Turner, A, Thompson, RC. Effect of the age of garments used under real-life conditions on microfibre release from polyester and cotton clothing. Environmental pollution (Barking, Essex : 1987), 2024, 348.

Han, Z, Jiang, T, Xie, L, Zhang, R. Microplastics impact shell and pearl biomineralization of the pearl oyster Pinctada fucata. Environmental Pollution, 2022, 293, 118522.

Isa, V, Becchi, A, Napper, I E, Ubaldi, PG, Saliu, F, Lavorano, S, & Galli, P. Effects of polypropylene nanofibers on soft corals. Chemosphere, 2023, 327, 138509. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138509.

Kasmini, L, Batubara, AS. Biology and ecological functional of Genus Crassostrea (Bivalvia: Ostreidae): a review. Depik, 2022, 11(1), 75-84.

Kolandhasamy P, Su L, Li J, Qu X, Jabeen K, Shi H. Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion. Sci Total Environ. 2018 Jan 1;610-611:635-640. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.053. Epub 2017 Aug 17. PMID: 28822931.
LaDouceur, EE. (Ed.)., 2021. Invertebrate histology.
Machado, IC, Maio, FDD, Kira, CS, Carvalho, MDFH. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue Crassostrea brasiliana do estuário de Cananéia-SP, Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 2002, 61(1), 13-18.

Mentino, D, De Blasi, C, Semeraro, D, Mastrodonato, M, & Guglielmi, MV. Bivalves and Gastropods: Models for the Study of Mucomics. Journal of Marine Science and Engineering, 2025, 13(3), 566.

Mladinich, K, Holohan, BA, Shumway, SE, Ward, JE. The relationship between microplastics in eastern oysters (Crassostrea virginica) and surrounding environmental compartments in Long Island Sound. Marine Environmental Research, 2023, 189, 106040.

Napper, IE, Thompson, RC. Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions. Marine pollution bulletin, 2016, 112(1-2), 39–45.

Nobre, CR, Moreno, BB, Alves, AV, de Lima Rosa, J, da Rosa Franco, H, Abessa, DMS, Maranho, LA, Choueri, RB, Gusso-Choueri, PK, Pereira, CD S. Effects of Microplastics

Associated with Triclosan on the Oyster Crassostrea brasiliana: An Integrated Biomarker Approach. Archives of environmental contamination and toxicology, 2020, 79(1), 101–110.

Nobre, CR, Moreno, BB, Alves, AV, Fontes, MK, Campos, BG, Silva, LFD, Maranho, LA, Duarte, LFA, Abessa, DMS, Choueri, RB, Gusso-Choueri, PK, Pereira, CDS. Microplastics and 17α Ethinylestradiol: How Do Different Aquatic Invertebrates Respond to This Combination of Contaminants?. Toxics, 2024, 12(5), 319.

Pedrotti, ML, Petit, S, Eyheraguibel, B, Kerros, M E, Elineau, A, Ghiglione, JF, Loret, JF, Rostan, A, Gorsky, G. Pollution by anthropogenic microfibers in North-West Mediterranean Sea and efficiency of microfiber removal by a wastewater treatment plant. The Science of the total environment, 2021, 758, 144195.

Von Moos, N, Burkhardt-Holm, P, Köhler, A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel Mytilus edulis L. after an experimental exposure. Environmental science & technology, 2012, 46(20), 11327-11335.

Wang, X, Li, P, He, S, Xing, S, Cao, Z, Cao, X, Liu, B, Li, ZH. Effects of tralopyril on histological, biochemical and molecular impacts in Pacific oyster, Crassostrea gigas. Chemosphere, 2022, 289, 133157. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133157

Ward, JE, Zhao, S, Holohan, BA, Mladinich, KM, Griffin, TW, Wozniak, J, & Shumway, SE. Selective Ingestion and Egestion of Plastic Particles by the Blue Mussel (Mytilus edulis) and Eastern Oyster (Crassostrea virginica): Implications for Using Bivalves as Bioindicators of Microplastic Pollution. Environmental science & technology, 2019, 53(15), 8776–8784. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02073

Zhu, X, Qiang, L, Shi, H, Cheng, J. Bioaccumulation of microplastics and its in vivo interactions with trace metals in edible oysters. Marine pollution bulletin, 2000, 154.