RESPOSTA DA REGULAÇÃO IÔNICA DE *MACROBRACHIUM AMAZONICUM* À EXPOSIÇÃO AGUDA AO MERCÚRIO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE PH E CARBONO ORGÂNICO DISSOLVIDO

IONIC REGULATION RESPONSE OF *MACROBRACHIUM AMAZONICUM* TO ACUTE MERCURY EXPOSURE UNDER DIFFERENT PH AND DISSOLVED ORGANIC CARBON CONDITIONS

Thamiris S. Gomes[1,] Giulia M. De Prá[1], Ana Beatriz F. B. Santos[1], Wilton R.D.S. Santos[1], Bruna C.C. Batista[1], Gabriela P. Marinsek[1, 3], Susana Braz-Mota[2], Adalberto Luis Val[2], Helen Sadauskas-Henrique[1]

[1.] Universidade Santa Cecília, Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos. – Santos, SP
[2.] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular. – Manaus, AM
[3.] Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista – São Vicente, SP
E-mail: thamirissgomess@gmail.com

RESUMO - A contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos é preocupante devido aos efeitos tóxicos sobre a fauna local, interferindo na osmorregulação e homeostase iônica de organismos aquáticos. O camarão da Amazônia (Macrobrachium amazonicum), espécie-chave em ecossistemas de água doce e estuarinos, é frequentemente usado como organismo modelo em estudos ecotoxicológicos. Este estudo avaliou o impacto da exposição aguda ao mercúrio (220 ng L^{-1} de $HgCl_2$, 24 h) sobre atividades enzimáticas relacionadas à regulação iônica em diferentes condições de pH (4 e 7) e na ausência e presença de carbono orgânico dissolvido (COD, 10 mg L^{-1}) do Rio Negro (Manaus, Brasil). Foram analisadas as enzimas Na^+/K^+ ATPase, ATPase do tipo V-H^+ e anidrase carbônica em camarões (n = 10; peso: 0,12 ± 0,002 g; comprimento: 5,4 ± 0,13 cm). As atividades enzimáticas foram comparadas entre grupos controle e expostos ao mercúrio nos quatro tratamentos: pH 7, pH 7 + COD, pH 4 e pH 4 + COD. Apesar de algumas variações numéricas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para nenhuma das enzimas. Esses resultados sugerem que, nas condições testadas, a exposição aguda ao mercúrio não alterou as atividades enzimáticas de osmorregulação e regulação iônica de M. amazonicum, indicando possível influência do pH e/ou do COD na biodisponibilidade do metal.

Palavras-chave: Macrobrachium amazonicum; mercúrio; osmorregulação; toxicidade; regulação iônica; metais pesados.

ABSTRACT - Mercury contamination in aquatic ecosystems is a concern due to its toxic effects on local fauna, interfering with osmoregulation and ionic homeostasis in aquatic organisms. The Amazonian shrimp (Macrobrachium amazonicum), a key species in freshwater and estuarine ecosystems, is frequently used as a model organism in ecotoxicological studies. This study evaluated the impact of acute mercury exposure (220 ng L^{-1} $HgCl_2$, 24 h) on enzymatic activities related to ion regulation under different pH conditions (4 and 7) and in the absence or presence of dissolved organic carbon (DOC, 10 mg L^{-1}) from the Rio Negro (Manaus, Brazil). The enzymes analyzed were Na^+/K^+ ATPase, V-type H^+ ATPase, and carbonic anhydrase in shrimp (n = 10; weight: 0.12 ± 0.002 g; length: 5.4 ± 0.13 cm). Enzymatic activities were compared between control groups and mercury-exposed groups across four treatments: pH 7, pH 7 + DOC, pH 4, and pH 4 + DOC. Although some numerical variations were observed, no statistically significant differences were found between the groups for any of the enzymes. These results suggest that, under the tested conditions, acute mercury exposure did not affect the osmoregulatory and ion-regulating enzymatic activities of M. amazonicum, indicating a possible influence of pH and/or DOC on the metal's bioavailability.

Keywords: Macrobrachium amazonicum; mercury; osmoregulation; toxicity; ionic regulation; heavy metals.

1.INTRODUÇÃO

O Rio Negro é considerado um dos rios mais importantes para a Bacia Hidrográfica localizada no Amazonas, devido à sua contribuição para o Rio Amazonas. Ele percorre cerca de 1.700 km, desde sua nascente na região da Colômbia, até a cidade de Manaus, no Brasil, apresentando características como pH baixo, leito estável, baixa erosão, fauna e flora específicas e águas escuras (Ivo L. Küchlera et al., 2000), possuem altas concentrações de Carbono Orgânico dissolvido (COD) e baixas concentrações de sólidos suspensos inorgânicos. É o maior afluente de água negra do Rio Amazonas, contribuindo com cerca de 14% da descarga total e 35% do fluxo total de COD (Scofield et al., 2016). No entanto, atividades antrópicas têm causado o aumento da lixiviação e da erosão do solo, acelerando esses processos, que, quando combinados com a liberação de Mercúrio (Hg) nesse ecossistema aquático, resultam em altas concentrações desse elemento nos organismos que ali vivem (Miretzky et al., 2005).

A contaminação ambiental ocorre desde o surgimento das sociedades humanas, devido à necessidade de recursos naturais, o que levou ao aumento da exploração em

determinadas localidades e resultou na contaminação de diversas regiões do planeta. Os ambientes aquáticos estão entre os mais afetados, muitas vezes sofrendo processos de eutrofização (Lacerd a & Malm, 2008). Além das características já apresentadas do Rio Negro, ele também apresenta concentrações de COD, que variam conforme as estações, contribuindo para a acidificação das águas e desempenhando um papel importante na cadeia alimentar ali estabelecida (Johannsson & Holanda, 2024).

Apesar da implantação do modelo de Zona Franca na cidade de Manaus, que tem contribuído para a preservação de áreas da Floresta Amazônica, existe uma contradição com o Polo Industrial de Manaus (PIM), principal responsável pela poluição química nas principais bacias hidrográficas da região. Tanto as empresas do PIM quanto grandes volumes de esgoto doméstico vêm sendo despejados nesses afluentes, levando a um alto nível de poluição na Bacia dos Educandos, formada por igarapés que deságuam no Rio Negro e que atuam como via de transporte de mercúrio para a região (Torrezani et al., 2016).

Outro fator que contribuiu para o aumento exponencial da poluição por Mercúrio nos afluentes da Região Amazônica é a mineração artesanal, também conhecida como garimpo. Esta prática cresceu a partir de setembro de 2018, quando o valor do Ouro se valorizou no mercado, levando à retomada das atividades em antigas regiões produtoras e à expansão da mineração artesanal por toda a região (R. Santos et al., 2022). O acúmulo de metais pesados nos tecidos dos animais pode resultar em bioacumulação e biomagnificação, processos que envolvem, respectivamente, a transferência de metais através da água, alimentos e/ou sedimentos para os organismos e o aumento da concentração desses metais ao longo da cadeia trófica (Calixto & Leite, 2023).

Um dos tipos de organismos mais suscetíveis à bioacumulação de poluentes é o Camarão, sendo o *Macrobrachium amazonicum* uma das espécies mais importantes da região do Rio Negro, presente tanto na alimentação dos pescadores quanto no comércio local (Silva, 2022). Por se tratar de uma espécie com ampla distribuição e diversidade biológica, tornou-se um objeto de estudo relevante. Dentre as características fisiológicas do *Macrobrachium amazonicum* que merecem atenção, a osmorregulação é um dos fatores associados à sua distribuição nos ambientes. Em populações distintas, foram observadas diferenças na biomassa e na composição

química, considerando a dependência por ambientes de água salobra e a conclusão de seu ciclo de vida em água doce (Mazzarelli et al., 2013).

Em Camarões como *Macrobrachium Amazonicum,* que que pertencem à família Palaemonidae e são hiper-reguladores diádromos, as brânquias não se diferenciam entre si, realizando simultaneamente as trocas gasosas e transporte iônico. O volume celular é mantido dentro de certos limites, com ajustes realizados por fluxos de água entre os fluídos intra e extracelulares. Esse processo é denominado regulação anisosmótica extracelular (RAE), um tamponamento osmótico e iônico do fluído extracelular, constituído por mecanismos mantêm a osmolalidade, a concentração iônica e o volume da hemolinfa. Entre as proteínas transportadoras de íons envolvidas nesses processos, destacam-se a Na+/K+-ATPase e a V-ATPase. (Faleiros,2011).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados camarões-da-Amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) (n = 10), com peso médio de 0,12 ± 0,002 g e comprimento médio de 5,4 ± 0,13 cm. Os animais foram distribuídos em oito grupos experimentais, compostos por quatro controles e quatro tratamentos. Os grupos do controle foram mantidos nas seguintes condições: pH 7, pH 7 com adição de carbono orgânico dissolvido (COD, 10 mg L^{-1}), pH 4 e pH 4 com adição de COD (10 mg L^{-1}). Nos grupos correspondentes aos tratamentos, os camarões foram expostos a 220 ng L^{-1} de $HgCl_2$ por 24 horas sob as mesmas condições de pH e COD. O COD utilizado foi previamente isolado da água do Rio Negro, em Manaus, Brasil.

Ao final do período experimental, as brânquias foram coletadas para análise das atividades enzimáticas. Foram avaliadas as enzimas Na^+/K^+ ATPase, ATPase do tipo $V\text{-}H^+$ e anidrase carbônica. As atividades enzimáticas foram comparadas entre os grupos controle e tratamento em cada condição testada. Os resultados foram expressos como médias ± erro padrão da média (EPM) e analisados estatisticamente para verificar diferenças entre os grupos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição aguda ao mercúrio (24 h, 220 ng L^{-1} de $HgCl_2$) não resultou em alterações estatisticamente significativas nas atividades das enzimas avaliadas nas

brânquias de *Macrobrachium amazonicum* em nenhuma das condições experimentais testadas. Embora variações numéricas tenham sido observadas entre os grupos controle e tratamento, essas diferenças não se mostraram consistentes nem suficientes para indicar efeito do mercúrio sobre os parâmetros enzimáticos.

Para a Na^+/K^+ ATPase, por exemplo, os valores médios oscilaram entre aumento e redução de atividade de acordo com o pH e a presença de COD, mas sem significância estatística. O mesmo padrão foi observado para a ATPase do tipo $V\text{-}H^+$ e para a anidrase carbônica, nas quais algumas condições sugeriram tendência de inibição (como no pH 4 para Na^+/K^+ ATPase) ou de estimulação (como no pH 7 para anidrase carbônica), mas sem confirmação estatística. Esses achados reforçam que a variabilidade enzimática pode estar mais associada a condições ambientais moduladoras, como o pH e a presença de COD, do que à exposição aguda ao mercúrio em si.

Figura 1. Na^+/K^+-ATPase, expressa em µmol ADP·mg de proteína^{-1}·h^{-1}. pH 7 (controle: 0.321 ± 0.10; mercúrio: 0.338 ± 0.17). pH 7 + COD (controle: 1.3 ± 0.7; mercúrio: 0.603 ± 0.25). pH 4 (controle: 0.728 ± 0.25; mercúrio: 0.456 ± 0.19). pH 4 + COD (controle: 0.325 ± 0.13; mercúrio: 0.977 ± 0.27).

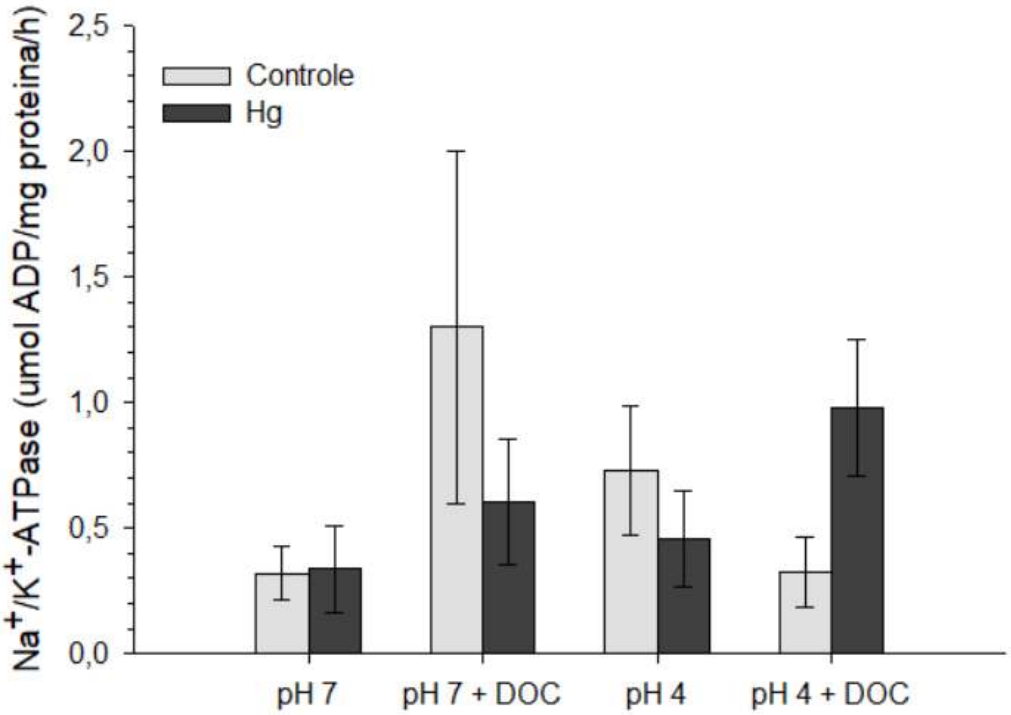


Figura 2. H^+-ATPase, expressa em µmol ADP·mg de proteína^{-1}·h^{-1}. pH 7 (controle: 0.69 ± 0.24; mercúrio: 0.423 ± 0.14). pH 7 + COD (controle: 0.728 ± 0.26; mercúrio: 0.647 ± 0.26). pH 4 (controle: 0.703 ± 0.25; mercúrio: 0.575 ± 0.05). pH 4 + COD (controle: 0.423 ± 0.14; mercúrio: 0.9 ± 0.27)

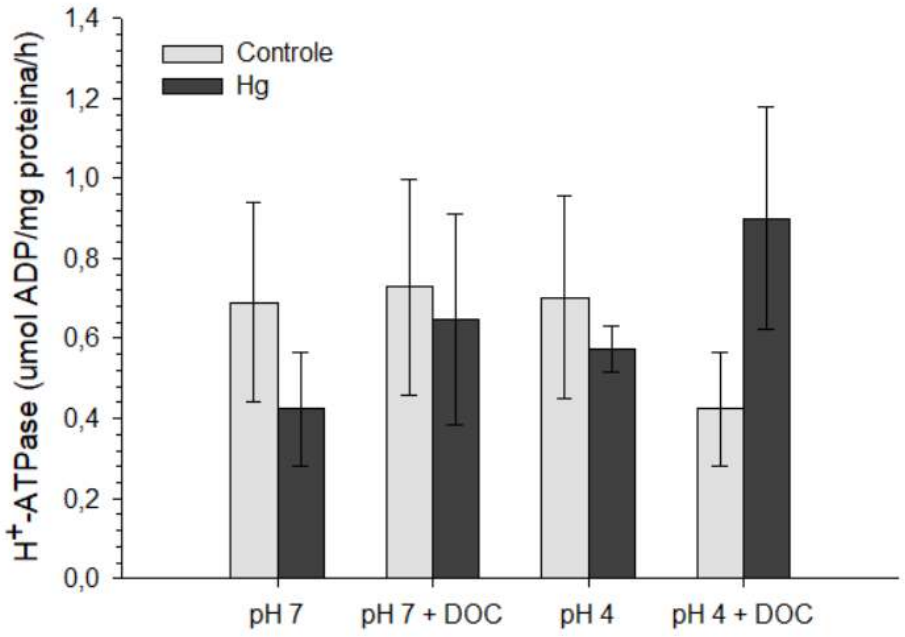
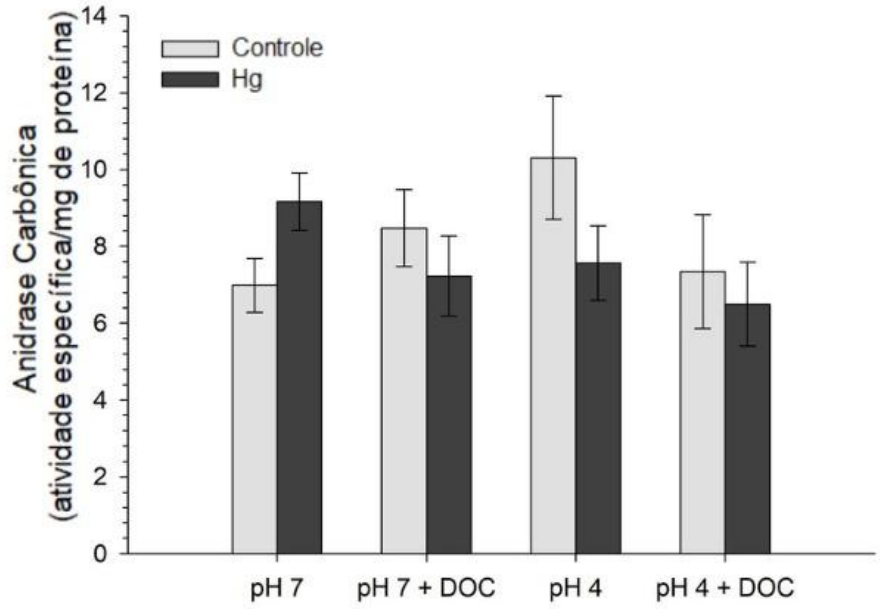


Figura 3. Anidrase carbônica, atividade específica por mg de proteína. pH 7 (controle: 6.985 ± 0.7; mercúrio: 9.164 ± 0.75). pH 7 + COD (controle: 8.479 ± 0.99; mercúrio: 7.228 ± 1.04). pH 4 (controle: 10.305 ± 1.60; mercúrio: 7.56 ± 0.97). pH 4 + COD (controle: 7.342 ± 1.48; mercúrio: 6.494 ± 1.09)



Resultados semelhantes já foram descritos em estudos sobre a biodisponibilidade de Hg o pH e a complexação com matéria orgânica dissolvida interferem diretamente na biodisponibilidade do metal, reduzindo seus efeitos fisiológicos imediatos. O COD, em especial, pode atuar como agente quelante, diminuindo a fração livre de mercúrio disponível para interação com os tecidos. e que essa redução é mais pronunciada sob condições neutras do que sob condições ácidas. (Barkay ET AL. 1997).

Estudos de maior duração e com diferentes concentrações realizados com outros crustáceos obtiveram resultados onde houve o acúmulo em diferentes níveis de concentração no organismo estudado (Zhang, L. et al. 2022). Assim, os dados sugerem que a exposição aguda ao mercúrio, nas condições aqui testadas, não comprometeu as atividades enzimáticas relacionadas à osmorregulação e à regulação iônica em *Macrobrachium amazonicum*. Esse padrão pode estar associado à curta duração do experimento (24 h), à concentração relativamente baixa de $HgCl_2$ utilizada ou, ainda, ao efeito modulador do pH e do COD na biodisponibilidade do metal. Futuros estudos deverão ser realizados com período maior de exposição ao mercúrio, levando em consideração os outros fatores aqui apresentados, que poderão elucidar de forma mais abrangente os mecanismos de resposta dessa espécie a esse contaminante.

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a exposição aguda ao mercúrio (220 ng L^{-1} por 24 h) não afetou significativamente as atividades das enzimas Na^+/K^+ ATPase, ATPase do tipo $V\text{-}H^+$ e anidrase carbônica em *Macrobrachium amazonicum*, independentemente das condições de pH ou da presença de carbono orgânico dissolvido. Esses achados sugerem que, sob as condições experimentais testadas, o pH e/ou o carbono orgânico dissolvido podem influenciar a biodisponibilidade do mercúrio, modulando seu efeito sobre os mecanismos de osmorregulação e regulação iônica dessa espécie.

5. REFERÊNCIAS

Luiz Drude De Lacerda e Olaf Malm**. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas**. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0103-40142008000200011 Acesso em: 11 mar 2025.

L. TORREZANI, É. SARGENTINI JUNIOR, C. A. S. OLIVEIRA3 e G. P. SANTANA. **ÍNDICE DE GEOACUMULAÇÃO DE MERCÚRIO NO IGARAPÉ DA BACIA DO EDUCANDOS (MANAUS/AMAZONAS)** 2016. Disponível em: DOI: 10.18540/2446941602032016161 Acesso em :11 mar 2025

R. Santos, V. Pozzetti, M.T. Gomes & C. das Chagas. **USO DE MERCÚRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA: CONTAMINAÇÃO, PROBLEMAS E LEGISLAÇÃO VIGENTE**, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.17345/rcda3391 Acesso em: 11 mar 2025

Ivo L. Küchlera, Norbert Miekeleyb and Bruce R. Forsbergc. **A contribution to the chemical characterization of rivers in the Rio Negro Basin, Brazil**, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000300015 Acesso em: 11 mar 2025

Miretzky et al. **FACTORS AFFECTING Hg (II) ADSORPTION IN SOILS FROM THE RIO NEGRO BASIN (AMAZON)**, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300014 Acesso em: 11 mar 2025

Johannsson, O.E., Holanda, A., **Carbono Orgânico Dissolvido (DOC) do Rio Negro, Amazônia: Importância, Processos e Potenciais Impactos Antropogênicos**, 2024. Disponível em: Carbono Orgânico Dissolvido (DOC) do Rio Negro, Amazônia: Importância, Processos e Potenciais Impactos Antropogênicos | SpringerLink Acesso em: 11 mar 2025

Silva, Sérgio Rodrigues da, **Avaliação de metais pesados no camarão da Amazônia *Macrobrachium amazonicum* em diferentes pontos da foz do rio Amazonas**. Disponível em: http://hdl.handle.net/1843/46518 Acesso em: 11 mar 2025.

Mazzarelli, CCM.a, Santos, MR.a, Amorim, RV.a and Augusto, A., 2015. **Effect of salinity on the metabolism and osmoregulation of selected ontogenetic stages of an amazon population of Macrobrachium amazonicum shrimp (Decapoda,**

Palaemonidae). Disponível em: ttps://doi.org/10.1590/1519-6984.14413 Acesso em: 11 mar 2025.

Calixto, Beatriz Leite, 2023**. Avaliação dos parâmetros fisiológicos do camarão marinho Penaeus vannamei exposto ao metal cádmio**. Disponível em: https://hdl.handle.net/11449/252211 Acesso em: 11 mar 2025.

FALEIROS, Rogério Oliveira. *Osmorregulação em camarões Palaemonidae (Decapoda, Caridea): uma abordagem molecular e bioquímica*. 2011. Tese (Doutorado em Ciências – Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011. Disponível em: *UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Acesso em: 25/05/2025

Scofield, V., Melack, J.M., Barbosa, P.M. *et al.* Desgaseificação de dióxido de carbono dos ecossistemas aquáticos amazônicos na bacia do rio Negro. *Biogeoquímica* **129**, 77–91 (2016). Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10533-016-0220-x Acesso em: 26/06/2025

WANG, Wen-Xiong. Importance of speciation in understanding mercury bioaccumulation in tilapia controlled by salinity and dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, Easton, v. 44, n. 7, p. 2739-2745, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1021/es1011274 Acesso em: 25/09/2025

Zhang, L., Zhou, Y., Song, Z., Liang, H., Zhong, S., Yu, Y., Liu, T., Sha, H., He, L., & Gan, J. (2022). Danos teciduais induzidos por mercúrio, metabolismo redox, transporte de íons, apoptose e alteração da microbiota intestinal em lagostins do pântano vermelho (*Procambarus clarkii*): aplicação da análise multiômica na avaliação de risco de Hg. *Antioxidantes*, *11*(10), 1944. Disponível em: https://doi.org/10.3390/antiox11101944 Acesso em: 25/09/2025