ISSN: 2594-6153

# Análise da Osmolalidade da Hemolinfa da Ostra (*Crassostrea rhizophorae*) exposta ao Material Particulado Atmosférico

Daniela Oliveira Teixeira de Sousa[1], Andressa dos Santos Barbosa Ortega[2], Marina de Souza Paço[3], Luis Felipe de Almeida Duarte[1], Iara Costa Souza[4], Marisa Narciso Fernandes[4], Camilo Dias Seabra Pereira[1,4], Helen Sadauskas-Henrique[1]

[1]Universidade Santa Cecília (UNISANTA), Santos-SP, Brasil
[2]Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências - Campus do Litoral Paulista
[3]Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Baixada Santista
[4] Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos (DCF/UFSCar), São Carlos-SP. Brasil.

**E-mail:** daniela-lavigne@hotmail.com

**Resumo:** As indústrias de minério de ferro produzem aço, ferro dentre outros, que resultam no material particulado atmosférico (MPA). O MPA é composto por metais/metaloides que ainda não possuem padrões de limites estabelecidos na legislação para presença em ambientes aquáticos. Quando disperso na atmosfera o MPA, entra em contanto com o ambiente aquático, podendo causar danos biota aquática, podendo impactar o metabolismo e o comportamento animal. O presente trabalho avaliou a interferência do MPA na regulação da osmolalidade da ostra (*Crassostrea rhizophorae*) ao longo do tempo. Os animais foram expostos a 3 concentrações do MPA (0,01; 0,1 e 1 mg/L), além do controle (0 mg/L) por 2, 4, 7 e 30 dias. Ao final do experimento, os animais foram anestesiados em gelo e a hemolinfa coletada para a análise da osmolalidade. Não foram encontradas diferença na osmolalidade da hemolinfa entre os tratamentos e tempos. Apesar de os metais serem conhecidos por alterarem parâmetros osmoregulatórios, muitas vezes por competir com sítios ativos de absorção de elementos como o $Na^+$, $Cl^-$, $Mg^{2+}$ e $Ca^{2+}$, as ostras foram capazes de realizar a manutenção de seus solutos na hemolinfa.

**Palavras-chave:** MPA. Metais. Osmoconformadores

# Analysis of the Osmolality in Hemolinpha in Oyster (*Crassostrea rhizophorae*) exposed to the Atmospheric Particulated Matter

**Abstract:** The iron ore industries produce steel, iron, among others, which results in atmospheric particulate matter (MPA). MPA is composed of metals/metalloids that do not have limit standards in the legislation that define the degree of water contamination. When dispersed in the atmosphere, MPA comes into contact with the aquatic environment, contaminating aquatic biota and aquatic organisms, impacting animal metabolism and behavior. The present work evaluated the interference of MPA in the regulation of osmolality in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) over time. Animals were exposed to 3 MPA concentrations (0.01; 0.1 and 1 mg/L), and control (0 mg/L) for 2, 4, 7 and 30 days. At the end of the experiment, the animals were anesthetized on ice and hemolymph was collected for osmolality analysis. There were no difference in hemolymph osmolality between treatments and times. Although metals are known to cause misbalance in the osmoregulatory mechanisms, often by competing with elements such as $Na^+$, $Cl^-$, $Mg^{2+}$ and $Ca^{2+}$, the oysters were able to maintain their solutes balance in the hemolymph.

ISSN: 2594-6153

**Keywords:** APM, Metals, Osmoconformers

## Introdução

Metais e metalóides ocorrem naturalmente nos sistemas aquáticos devido a processos biogeoquímicos. Entretanto, as concentrações de metais nesses ecossistemas têm aumentado, via fontes antropogênicas, como os efluentes domésticos e industriais, sendo considerado um problema mundial [1,2]

No Estado do Espírito Santo, a contaminação por MPA é muito comum devido as atividades das indústrias de minério de ferro e exportação de ferro e aço. A composição do MPA, sendo conhecido também como pó preto, é composto por metais como arsênico, alumínio, bário, cádmio, chumbo, cromo, cobre, ferro, manganês, níquel e zinco [3] e por contaminantes metálicos emergentes, como bismuto, tungstênio, titânio, zircônio, ítrio, lantânio, nióbio, tântalo e cério. Esses metais indicam que eles são utilizados como matéria-prima nas indústrias para a produção de novas ligas metálicas nas indústrias de aço com ligas leves e mais resistentes e em materiais anticorrosivos e tóxicos aos seres vivos [2].

As ostras são organismos osmoconformadores, variando a concentração de fluido corporal em função das concentrações do meio externo, existindo limites para a osmoconformação. No entanto, na presença de metais no ambiente aquático, essa osmoconformação pode ficar prejudicada. A absorção de metais, via brânquias, pode acontecer por três rotas distintas (i) metais essenciais possuem carreadores de metais específicos que absorvem os metais a partir de um ambiente externo com baixas concentrações; (ii) através de "mimetismo iônico" e (iii) metais podem simplesmente se difundir através do epitélio branquial. Dessa forma, o presente estudo buscou analisar a influência do MPA na osmolalidade da hemolinfa da ostra (*Crassostrea rhizophorae*).

## Objetivo

Analisar a influência do MPA na osmolalidade da hemolinfa da ostra (*C. rhizophorae*) expostas a 3 concentrações nominais do MPA durante 4 tempos de exposição.

## Material e métodos

As ostras da espécie *C. rhizophorae* foram adquiridas por meio de um maricultor da região de Cananéia (SP). Os animais foram aclimatados, durante 10 dias, em aquários com aeração, temperatura (20 ± 2ºC) e salinidade (25 ppt) controladas. Após este período, foram

ISSN: 2594-6153

conduzidos ensaios semi-estática de exposições de curta (2, 4 e 7 dias) e longa (30 dias) duração ao MPA nas concentrações nominais de 0,01; 0,1 e 1 mg/L de MPA. Foram utilizados 20 aquários no total contendo 50 litros de água cada (totalizando 1000 litros coletados no aquário do Guarujá-SP), sendo 5 aquários destinados a cada tratamento (n=18). Após a finalização dos experimentos, as ostras foram anestesiadas em gelo e a hemolinfa removida, com auxílio de uma agulha de insulina.

A osmolalidade foi analisada em Osmômetro digital com ponto de congelamento (Micro-Osmette/PSI Precision Systems Inc.) em hemolinfa diluída 10 x em água Milliq®. Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão. Os dados foram testados quando a normalidade e variância. Diferença estatística entre os tratamentos foi determinada via análise de variância de dois fator (Two-Way ANOVA).

**Resultados**

Foi verificado que nenhum dos tratamentos causou alteração da osmolalidade em nenhum dos períodos de exposição estudados ($P<0,05$) (Figura 01).

**Discussão**

Em moluscos aquáticos, as brânquias constituem uma interface chave para a absorção dos metais dissolvidos [4].

A absorção de metais via brânquias pode acontecer via três rotas distintas (i) metais essenciais possuem carreadores de metais específicos que absorvem os metais a partir de um ambiente externo com baixas concentrações; (ii) através de "mimetismo iônico" e (iii) metais podem simplesmente se difundir através do epitélio branquial. No entanto, em água do mar, a complexação dos metais pelos altos níveis de cloreto ($Cl^-$) domina a especiação dos metais. Além disso, a maior disponibilidade de outros ânions (e.g. $OH^-$, $HCO_3^-$, $SO_4^{2-}$), mais o efeito protetor da competição por altas concentrações de sódio ($Na^+$), magnésio ($Mg^{2+}$) e cálcio ($Ca^{2+}$), resulta na menor toxicidade da maioria dos metais em água do mar.

Esses fatos podem explicar a falta de alterações na osmolalidade da hemolinfa de *Crassostrea rhizophorae* quando expostas ao MPA, mesmo em altas concentrações e período longo de exposição.

ISSN: 2594-6153

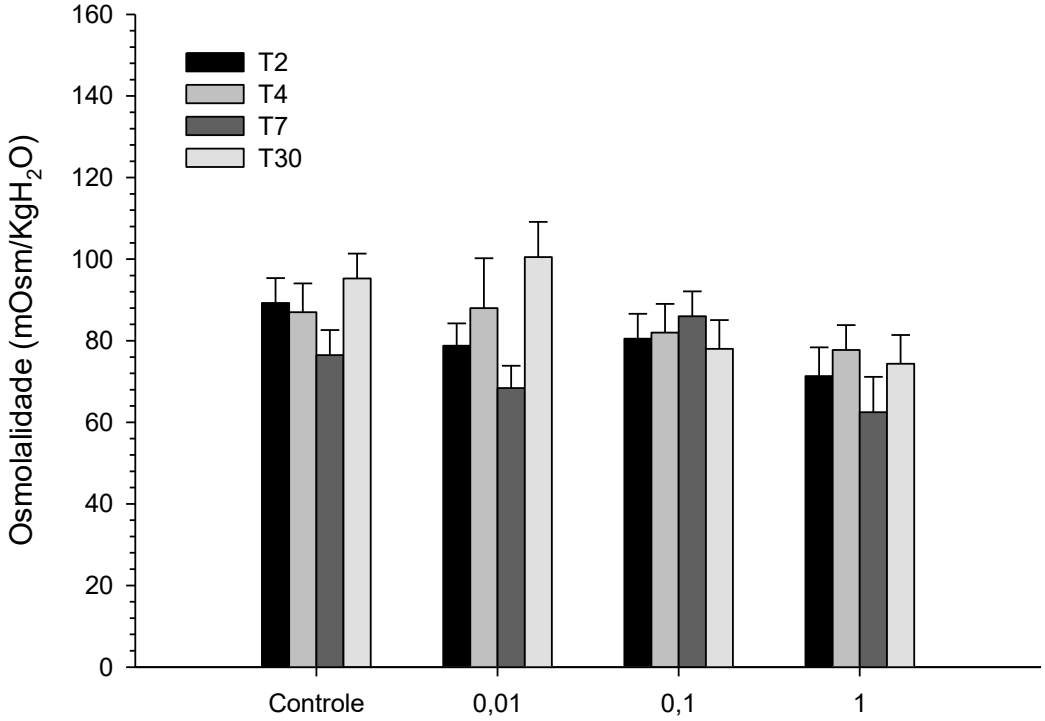


**Figura 01.** Média ± desvio padrão da osmolalidade (mOsm/Kg$H_2O$) da hemolinfa *Crassostrea rhizophorae* expostas aos diferentes grupos: Controle; 0,01; 0,1 e 1 mg de MPA/L nos diferentes tempos: 2 (T2), 4 (T4), 7 (T7) e 30 (T30) dias de exposição.

## Conclusões

Apesar de os metais serem conhecidos por alterarem parâmetros osmoregulatórios, muitas vezes por competir com sítios ativos de absorção de elementos como o Na+, Cl-, Mg2+ e Ca2+, as ostras foram capazes de realizar a manutenção de seus solutos na hemolinfa.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através do Projeto "Material particulado atmosférico e contaminação ambiental. Avaliação do impacto na biota aquática em uma abordagem ecofisiotoxicológica integrada" agraciado ao pesquisador MNF. DOTS realizou o trabalho durante auxílio CAPES- Código de Financiamento 001.

ISSN: 2594-6153

## Referências

1. Souza ID, Arrivabene HP, Craig CA, Midwood AJ, Thornton B, Matsumoto ST, Elliott M, Wunderlin DA, Monferrán MV, Fernandes MN (2018). Interrogating pollution sources in a mangrove food web using multiple stable isotopes. Science of the Total Environment [Internet]. 640-641:501-11. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.302

2. Souza, IC, Arrivabene, HP, Craig, C, Midwood, A., Weidle, I, Thornton, B, Elliot, M, Wunderlin, DA, Monferrán, MV, Fernandes, MN (2016). Determination of the origin and the transfer of metal and metalloids in the trophic chain in mangrove areas using stable isotope analysis. In: Anais do XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 597-598. http://www.ecotox2016.com.br/theme/images/Anais%20Ecotox%202016.pdf

3. Vieira KS, Crapez MA, Lima LS, Delgado JF, Brito EB, Fonseca EM, Baptista Neto JA, Aguiar VM (2021). Evaluation of bioavailability of trace metals through bioindicators in a urbanized estuarine system in southeast Brazil. Environmental Monitoring and Assessment [Internet], 193(1). https://doi.org/10.1007/s10661-020-08809-x

4. Marigómez, I, Soto, M, Cajaraville, MP, Angulo, E, & Giamberini, L (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. Microscopy Research and Technique, 56(5), 358–392. https://doi.org/10.1002/jemt.10040