

## **Alterações Iônicas, Osmótica, e dos Substratos Energéticos do Caranguejo Uçá (*Ucides cordatus*) Exposto ao Material Atmosférico Sedimentável**

Juliana dos Santos Pereira<sup>1</sup>, Luis Felipe de Almeida Duarte<sup>2,3</sup>, Andressa dos Santos Barbosa Ortega<sup>2,4</sup>, Marina de Souza Paço<sup>2</sup>, Iara da Costa Souza<sup>5</sup>, Magdalena Victoria Monferrán<sup>6,7</sup>, Daniel Alberto Wunderlin<sup>7</sup>, Marisa Narciso Fernandes<sup>5</sup>, Camilo Dias Seabra Pereira<sup>2,3</sup>, Helen Sadauskas-Henrique<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos, Universidade Santa Cecília, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, R. Oswaldo Cruz, 277, Boqueirão, 11045-907 Santos, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup> Departamento de Ciências do Mar, Universidade Federal de São Paulo, Campus Baixada Santista, Rua Maria Máximo 168, 11030-100 Santos, São Paulo, Brazil.

<sup>3</sup> Universidade Santa Cecília, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, R. Oswaldo Cruz, 277, Boqueirão, 11045-907 Santos, São Paulo, Brazil.

<sup>4</sup> Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus Litoral Paulista, Praça Infante Dom Henrique, s/n - Parque Bitaru, 11330-900 São Vicente, São Paulo, Brazil.

<sup>5</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos (DCF/UFSCar), Rod. Washington Luiz, Km 235, 13565-905 São Carlos, São Paulo, Brazil.

<sup>6</sup> Departamento Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, and CONICET, CIBICI, Ciudad Universitaria, Medina Allende esq. Haya de la Torre s/n, 5000, Córdoba, Argentina.

<sup>7</sup> ICYTAC: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba, CONICET and Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ciudad, Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina.

E-mail: j2020farmacia@outlook.com

### **Resumo**

A sedimentação do material particulado atmosférico pode contaminar ecossistemas aquáticos, pois 80% desse material é constituído por metais e metalóides, sendo o Fe, seguido pelo Al, Mn e Ti os elementos mais abundantes. Invertebrados marinhos são bons bioindicadores para avaliação de ambientes contaminados por serem espécies relativamente sésseis e estarem em contato direto com a interface água/sedimento. Este estudo avaliou as concentrações de íons (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>), dos substratos energéticos (glicose e lactato) e a osmolalidade plasmáticos do caranguejo Uçá (*Ucides cordatus*) após exposições de 2, 7 e 30 dias ao SePM (material particulado atmosférico sedimentável). O SePM nos tempos e concentrações estudados causou uma redução da absorção de Ca<sup>2+</sup> para *U. cordatus* provavelmente devido aos metais e metalóides presentes em sua composição.

**Palavras-chave:** material particulado; caranguejo; contaminação; osmorregulação; sedimento

**Ionic, energetic and osmotic substrate changes in the hemolymph of the crab (*Ucides chordatus*) exposed to sedimentable atmospheric material**

## Abstract

The sedimentation of atmospheric particulate matter can contaminate aquatic ecosystems, as 80% of this material is composed of metals and metalloids, with Fe, followed by Al, Mn, and Ti, being the most abundant elements. Marine invertebrates are good bioindicators for assessing contaminated environments because they are relatively sessile species and are in direct contact with the water/sediment interface. This study evaluated the concentrations of ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), energy substrates (glucose and lactate), and plasma osmolality in the crab (*Ucides cordatus*) after exposures of 2, 7, and 30 days to sedimentable atmospheric particulate matter (SePM). The SePM, at the studied times and concentrations, caused a reduction in  $\text{Ca}^{2+}$  uptake in *U. cordatus*, possibly due to the metals and metalloids present in its composition.

**Keywords:** particulate matter; crabs; contamination; osmoregulation; sediment

## Introdução

Atividades decorrentes das indústrias mineradoras são as principais emissoras de material particulado atmosférico (MPA). [1]. A transferência trófica de metais e nanopartículas já foram observadas em ambientes aquáticos de estuário nas proximidades de indústrias siderúrgicas [2]. Estudos demonstram que o potencial de bioacumulação na biota esteja relacionado com a emissão frequente de SePM (material particulado atmosférico sedimentável), acarretando uma persistência dessas substâncias no ambiente aquático e consequente influência na saúde dos organismos presentes nesses ambientes.

Com isso, o presente estudo hipotetizou que maiores concentrações de SePM ao longo dos tempos de exposição poderia causar maiores prejuízos na excreção/absorção de íons, levando a alterações na pressão osmótica plasmática, além de causar alterações das concentrações dos substratos energéticos devido ao aumento do estresse perante a presença do SePM.

## Objetivos

Avaliar as concentrações de íons no plasma ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), dos substratos energéticos (glicose e lactato) e a osmolalidade da hemolinfa do caranguejo Uçá (*Ucides cordatus*) após exposições agudas (2 e 7 dias) e crônica (30 dias) a concentrações ambientalmente relevantes de SePM.

## Material e Métodos

SePM foi coletado na Ilha do Boi (20°17'03,8"S, 40°14'24,9"W) na cidade de Vitória (Espírito Santo, Brasil), sendo essa área afetada pelas atividades do Complexo de Tubarão de pelotização de ferro, armazenamento e transporte de minério de ferro para exportação. [1]

Caranguejos (largura da carapaça (mm):  $82,85 \pm 3,72$ ; comprimento da carapaça (mm):  $60,57 \pm 3,46$  mm; peso total (g):  $210,17 \pm 33,67$ ) foram adquiridos (Peruíbe, SP, Brasil), levados ao laboratório, aclimatados em tanques de 500 L, e alimentados com folhas de *Rhizophora mangle*.

Após aclimação, os animais (n=15) foram distribuídos aleatoriamente em aquários (10 L) contendo água do mar (salinidade 25‰) onde foram realizados três tratamentos experimentais:  $0,01 \text{ g L}^{-1}$ ;  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  e  $1 \text{ g L}^{-1}$  SePM mais o controle (somente água do mar). Após 2 (T2), 7 (T7) e 30 (T30) dias de exposição, 5 animais foram removidos de cada tratamento e do controle. Amostras de hemolinfa foram coletadas e centrifugadas ( $12.000 \times \text{g}$  10 min) para a separação do plasma. Glicose, lactato,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  foram determinados por meio de kits colorímetros (Labtest®, Brasil).

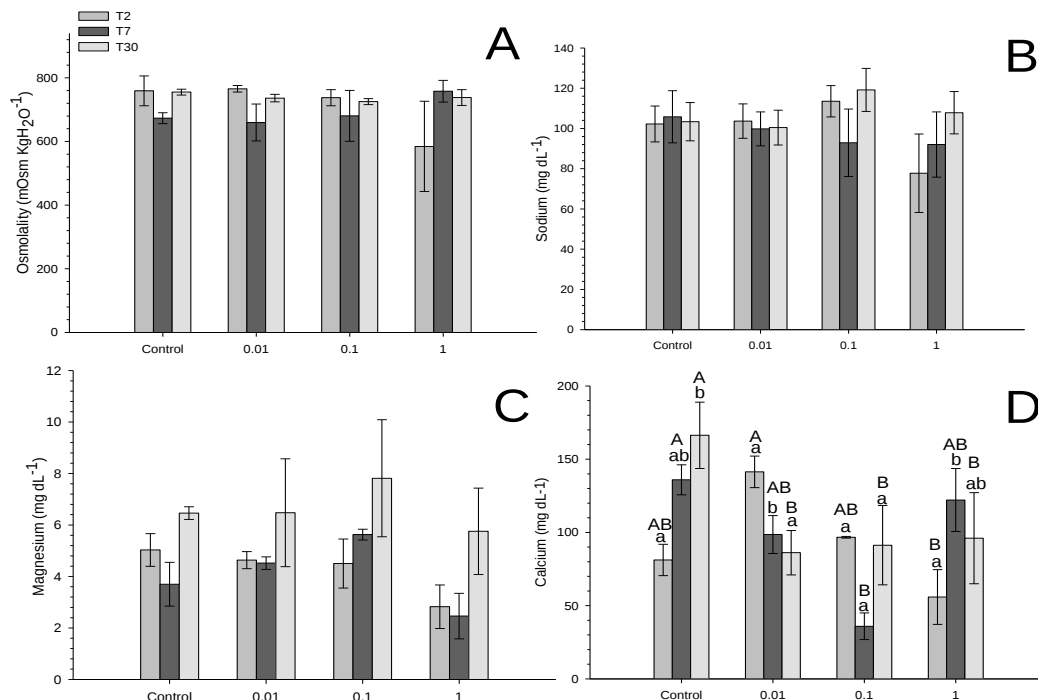
O  $\text{Na}^+$  foi determinado em fotômetro de chama (Quimis Q498M, Brasil). A osmolalidade foi determinada em microosmômetro de pressão de vapor (Wescor 5600, VAPRO®).

## Resultados

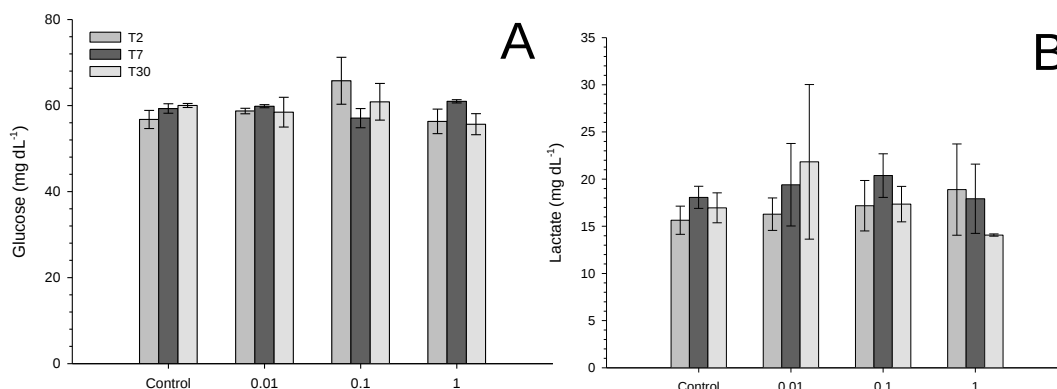
Não foram observadas diferenças significativas na osmolalidade e nas concentrações de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  (Figura 1A-C), tampouco nas concentrações de glicose e lactato (Figura 2A e B).

A concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  sofreu interência do tempo de exposição e concentração de SePM. No controle, o  $\text{Ca}^{2+}$  aumentou em 30 dias em relação a 2 dias de exposição. Caranguejos expostos a  $0,01 \text{ g SePM L}^{-1}$  apresentaram uma diminuição da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  após 2 e 7 dias de exposição em relação ao controle, enquanto que caranguejos exposto a  $1 \text{ g SePM L}^{-1}$  apresentaram um aumento na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  após 7 dias em relação a 2 dias. de exposição.

Após dois dias, os caranguejos expostos a  $1 \text{ g SePM L}^{-1}$  apresentaram diminuição na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  em relação a  $0,1 \text{ g SePM L}^{-1}$ . Por outro lado, após 7 dias de exposição foi observado redução na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  nos caranguejos expostos a  $0,1 \text{ g SePM L}^{-1}$  em relação ao controle. Já após 30 dias de exposição, diminuição na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  foi observada nos caranguejos expostos a todos os tratamento em relação ao controle (Figura 1D).



**Figura 1.** Concentrações de íons (média ± DP) na hemolinfa de *Ucides cordatus* do grupo controle (0,0 g L<sup>-1</sup> SePM) e grupos expostos a 0,01, 0,1 e 1,0 g L<sup>-1</sup> SePM ao longo de 30 dias (2, 7, 30 dias). Concentrações de osmolalidade (A), Na<sup>+</sup> (B), Mg<sup>2+</sup> (C), Ca<sup>2+</sup> (D). As médias que não compartilham as mesmas letras são significativamente diferentes entre os tratamentos (P < 0,05).



**Figura 2.** Glicose (A) e lactato (B) (média ± DP) na hemolinfa de *Ucides cordatus* do grupo controle (0,0 g L<sup>-1</sup> SePM) e grupos expostos a 0,01, 0,1 e 1,0 g L<sup>-1</sup> SePM ao longo de 30 dias (2, 7, 30 dias).

## Discussão

A exposição ao SePM nos tempos e concentrações estudados alteraram somente as concentrações de Ca<sup>2+</sup> plasmático, sendo essas alterações tempo e concentração dependentes. O Ca<sup>2+</sup> é um elemento indispensável para diversas funções celulares, e para invertebrados

formadores de conchas, imprescindível na formação das carapaças. [4]. Os metais e metalóides são conhecidos por competir com sítios de ligação de elementos essenciais na membrana das brânquias. [3]. Por exemplo, Zn, Pb, Co e Cd podem inibir a captação de  $\text{Ca}^{2+}$  através dos canais apicais de  $\text{Ca}^{2+}$ , indicando competição por um sistema de captação comum [3]. A redução da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  plasmático dos caranguejos no presente estudo pode sugerir uma interferência dos metais e metalóides presentes no SePM, agindo como um antagonista na captação para o  $\text{Ca}^{2+}$  em seu receptor. Para organismos como os crustáceos, o  $\text{Ca}^{2+}$  é o elemento mais comum nas carapaças, sendo a redução de sua absorção prejudicial para a formação das carapaças [4].

### Conclusões

O SePM nos tempos e concentrações estudados causou uma redução da absorção de  $\text{Ca}^{2+}$  para *U. cordatus* provavelmente devido aos metais e metalóides presentes em sua composição.

### Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Bolsa 2019/08491-0). IC Souza, L. F. A. Duarte, A.S.B. Ortega e M.S. Paço recebeu apoio bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Bolsa 2023/09730-3, 2020/15253-5, 2021/02245-7, 2022/09868-2, respectivamente). MN Fernandes e CDS Pereira agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Bolsas de Produtividade: 306818/2020-5 e 308408/2022-5, respectivamente).

### Referências

1. Santos, J.M. , N.C. Reis, E.S. Galvão, A.; Silveira, E.V. Goulart, A.T.; Lima, 2017. Source apportionment of settleable particles in an impacted urban and industrialized region in Brazil. Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 22026-22039.
2. Souza, I.C., Duarte, I.D., Pimentel, N.Q., Rocha, L.D., Morozesk, M., Bonomo, M.M., Azevedo, V.C., Pereira, C.D.S., Monferran, M.V., Milanez, C.R.D., Matsumoto, S.T., Wunderlind, D.A., Fernandes, M.N., 2013. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. Environ. Pollut. 180, 136–144.
3. Wood, C. M., 2012. An introduction to metals in fish physiology and toxicology: Basic principles. In *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals: Fish Physiology*, 31A(11).
4. Begliomini, F. N., Maciel, D. C., de Almeida, S. M., Abessa, D. M., Maranhão, L. A., Pereira, C. S., Yogui, G. T., Zanardi-Lamardo, E., & Castro, Í. B., 2017. Shell alterations in limpets as putative biomarkers for multi-impacted coastal areas. Environ. Pollut. 226, 494–503.