

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS
CAMPUS FERNANDÓPOLIS**

LUAN SOUZA DO NASCIMENTO

**EFEITOS DELETÉRIOS DA INGESTÃO DE MICROPLÁSTICO DE
POLIPROPILENO EM TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**DELETERIOUS EFFECTS OF POLYPROPYLENE MICROPLASTIC
INGESTION IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)**

Fernandópolis – SP

2022

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

LUAN SOUZA DO NASCIMENTO

**EFEITOS DELETÉRIOS DA INGESTÃO DE MICROPLÁSTICO DE
POLIPROPILENO EM TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Prof. Dr. Marco Antônio de Andrade Belo
Orientador

Profa. Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani
Coorientadora

Fernandópolis – SP

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Nascimento, Luan Souza do.
N196e Efeitos Deletérios da Ingestão de Microplástico de Polipropileno em Tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). / Luan Souza do Nascimento –
Fernandópolis: Universidade Brasil, 2022.
61f.: il.; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Dr Marco Antônio de Andrade Belo.
Coorientador: Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani

1. Resíduos. 2.Ecossistemas Aquáticos. 3.Microplástico. 4.Aquicultura. 5.Poluição Ambiental.
I.Título.

363.7

CDD



UNIVERSIDADE
BRASIL

Termo de aprovação

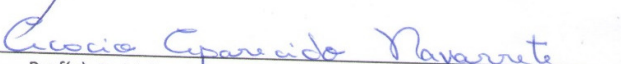
TERMO DE APROVAÇÃO

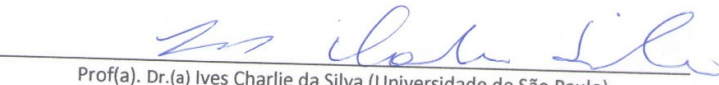
LUAN SOUZA DO NASCIMENTO

“EFEITOS DELETÉRIOS DA INGESTÃO DE MICROPLÁSTICO DE POLIPROPILENO EM TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:


Prof(a). Dr.(a) Marco Antonio de Andrade Belo (Presidente - Orientador)


Prof(a). Dr.(a) Acacio Aparecido Navarrete (Universidade Brasil)


Prof(a). Dr.(a) Ives Charlie da Silva (Universidade de São Paulo)

Fernandópolis, 15 de dezembro de 2022
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Marco Antonio de Andrade Belo

Campus Fernandópolis
Estrada Projetada F1, s/n, Fazenda Santa Rita - Fernandópolis/SP | 15600-000
Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070
www.ub.edu.br



Termo de Autorização

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página
WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da
CAPES**

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"EFEITOS DELETÉRIOS DA INGESTÃO DE MICROPLÁSTICO DE POLIPROPILENO EM TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)"**

Autor(es):

Discente: Luan Souza do Nascimento

Assinatura: _____

Orientador: Marco Antonio de Andrade Belo

Assinatura: _____

Data: 15/12/2022

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo a Deus; sem ele eu não teria capacidade para desenvolver. Foi pensando nas pessoas e meio ambiente que executei este projeto, por isso dedico este trabalho a todos aqueles a que essa pesquisa possa ajudar de alguma forma.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, agradeço a todos os que acreditaram em mim, aos meus amigos, professores e a Lilian Gleise Veiga de Assunção Nascimento minha esposa, e meus pais Evangelista e Advenir Souza e minha irmã Tamilla Souza que sempre me apoiaram, agradeço a disponibilidade da Universidade Brasil em ceder uma bolsa de estudos para chegar até este momento, e por fim agradeço aos meu orientadores Prof. Dr. Marco Belo, e Profa. Dra. Dora e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil.

RESUMO

Os polímeros de grande massa molecular, amplamente empregados nas embalagens e confecção de diversos produtos, geram resíduos de lenta degradação. Tais resíduos se acumulam na natureza e se transformam em micropartículas durante o processo de decomposição, as quais são denominadas de microplásticos. Partindo da importância ambiental representada pelo acúmulo de materiais poliméricos em organismos aquáticos, objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da ingestão diária de microplástico de polipropileno na saúde de tilápias (*Oreochromis niloticus*). Para tanto, foram utilizados 60 peixes com peso médio de 200 g, oriundos da mesma desova, os quais foram acondicionados em seis aquários, com capacidade de 100 L de água cada (n=10). Os aquários foram abastecidos com água corrente desprovida de cloro, proveniente de poço artesiano, com vazão de 1 L/min, constituindo os seguintes tratamentos: T1: Controle (sem a adição de polímero), T2 e T3: (alimentados com ração contendo 100 µg e 500 µg de polipropileno/kg de peso vivo, respectivamente). Transcorridos 30 dias após o início da alimentação dos peixes, os animais foram submetidos à eutanásia para análise do eritrograma, leucograma, bioquímico sérico, análise microbiológica do intestino e análise somática dos órgãos. Observou-se aumento significativo nos níveis de colesterol e na atividade sérica de Aspartato Aminotransferase (AST) em animais tratados com 500 µg de polipropileno com base estudo bioquímico sérico. Tilápias alimentadas com polipropileno na dieta apresentaram aumento nas contagens de trombócitos e leucócitos totais, marcado por aumento significativo no número de linfócitos circulantes. Os resultados do estudo somático revelaram aumento significativo no estômago, fígado e coração das tilápias alimentadas com o polímero. Aumento do número de microrganismos Gram-negativos e diminuição de microrganismos mesófilos aeróbicos foram observados em peixes alimentados com o polímero, inclusive efeito dose-resposta foi observado nestas análises. Contudo, tilápias alimentadas com polipropileno demonstraram efeitos deletérios resultantes da ingestão diária deste polímero, resultando em alterações inflamatórias sistêmicas e mudanças na microbiota intestinal.

Palavras-chave: resíduos, microplástico, ecossistemas aquáticos, aquicultura, poluição ambiental, organismos aquáticos.

ABSTRACT

The high molecular weight polymers, widely used in the packaging of several products, generates residues of slow degradation, accumulating in nature and transforming into microparticles during their decomposition process, being called microplastics. Based on the environmental importance represented by the accumulation of polymeric materials in aquatic organisms, the objective of this study was to evaluate the effect of daily ingestion of polypropylene microplastic on the health of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Sixty fish weighing around 200 g were used, coming from the same spawning, placed in six aquariums, with a capacity of 100 L of water each (n=10). The aquariums were supplied with running water devoid of chlorine, from an artesian well, with a flow of 1 L/min, constituting the following treatments: T1: Control (without the addition of polymer), T2 and T3: (fed with ration containing 100 µg and 500 µg of polypropylene/kg of body weight, respectively). After a period of 30 days of feeding, the animals were euthanized for analysis of the blood count, leukogram, serum biochemistry, microbiological analysis of the animals' intestine, histopathological and somatic analysis of the organs. In the serum biochemical study, a significant increase in cholesterol levels and serum Aspartate Aminotransferase (AST) activity was observed in animals treated with 500 µg of polypropylene. Tilapia fed polypropylene in the diet showed an increase in thrombocyte and total leukocyte counts, marked by a significant increase in the number of circulating lymphocytes. The results of the somatic study revealed a significant increase in the stomach, liver and heart of tilapia fed with the polymer. Increase in the number of Gram-negative microorganisms and decrease in mesophilic aerobic microorganisms were observed in fish fed with the polymer. A dose-response effect was observed in these analyses. However, tilapia fed polypropylene showed deleterious effects resulting from the daily ingestion of this polymer, resulting in systemic inflammatory disorders and changes in the intestinal microbiota.

Keywords: waste, microplastic, aquatic ecosystems, aquaculture, environmental pollution, aquatic organisms.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Partindo da importância ambiental representada pelo acúmulo de materiais poliméricos em organismos aquáticos, objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da ingestão diária de microplástico de polipropileno na saúde de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Um total de 60 tilápias (± 200 g cada) foi acondicionado em seis aquários (100 L cada, $n=10$), constituindo os seguintes tratamentos: Controle (sem polímero); e outros dois tratamentos, sendo um à base de fornecimento de ração contendo $100 \mu\text{g}$ de polipropileno/kg de p.v. e outro contendo $500 \mu\text{g}$ de polipropileno/kg de p.v.). Transcorridos 30 dias do início da alimentação, os animais foram submetidos à eutanásia para análise do hemograma, bioquímico sérico, análise microbiológica intestinal, análise histopatológica e somática dos órgãos. Os resultados do estudo somático revelaram aumento significativo no estômago, fígado e coração, sugerindo a ocorrência de alterações inflamatórias. Corroborando estes achados, observou-se aumento significativo nos níveis de colesterol, na atividade sérica de AST, nas contagens de leucócitos e trombócitos em animais alimentados com ração contendo $500 \mu\text{g}$ de polipropileno/kg de p.v. A leucocitose destes peixes foi marcada por aumento significativo no número de linfócitos. Aumento do número de microrganismos Gram-negativos e diminuição de mesófilos aeróbicos foram observados em peixes alimentados com $500 \mu\text{g}$ do microplástico de polipropileno, inclusive efeito dose-resposta foi observado nestas análises. Contudo, tilápias alimentadas com polipropileno demonstraram efeitos deletérios resultantes da ingestão diária de alimentados com $500 \mu\text{g}$ do microplástico de polipropileno, resultando em alterações inflamatórias sistêmicas e mudanças na microbiota intestinal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema de classificação com base nas características das moléculas poliméricas	19
Figura 2 – Esquema de representação da reação de obtenção do PP	20
Figura 3 – Arranjo Isotático do PP	20
Figura 4 – Arranjo Sindiotático do PP	21
Figura 5 – Arranjo Atático do PP	21
Figura 6 – Diagrama simplificado do processo de Spheripol	22
Figura 7 – Produção de plástico desde de 1950 e seus fins	23
Figura 8 – Comparativo entre produção e geração de resíduos	24
Figura 9 – Tabela Workshop Internacional dirigido pelo National Oceanic and Atmospheric Administration ano 2015	25
Figura 10 – Ração usada para dieta dos animais	30
Figura 11 – Coleta de Sangue	31
Figura 12 - Procedimento de coleta dos órgãos.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características estruturais dos polímeros.	18
Tabela 2 – Distribuição das tilápias no estudo de segurança clínica.	30
Tabela 3 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem total de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, MCHC.	36
Tabela 4 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem total de leucócitos, trombócitos, monócitos, linfócitos, neutrófilos das tilápias tratadas com o polipropileno.	37
Tabela 5 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na atividade enzimática de AST, ALT, FA das tilápias tratadas com o polipropileno.	39
Tabela 6 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na atividade enzimática de, albumina, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais, creatina, glicose das tilápias tratadas com o polipropileno.	40
Tabela 7 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados no índice somático do baço, coração, fígado e estômago, rim caudal, rim cranial, brânquias e cérebro das tilápias tratadas com o polipropileno.	43
Tabela 8 – Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem de mesófilos e bactérias Gram negativas presentes no intestino das tilápias tratadas com o polipropileno.	45
Tabela 9 - Microrganismos observados na contagem de bactérias Gram-negativas presentes no intestino das tilápias tratadas com o polipropileno.	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 SUSTENTABILIDADE E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO	17
3.2 POLÍMEROS POLIPROPILENO	17
3.3 MERCADO ECONÔMICO DO POLIPROPILENO.....	23
3.4 MICROPLÁSTICOS (MPs).....	25
3.5 IMPACTOS DO MICROPLÁSTICO EM AMBIENTES AQUÁTICOS.....	27
3.6 APRESENTAÇÃO SOBRE TILÁLIAS-DO-NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>)	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 PEIXES E ACONDICIONAMENTO	29
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	29
4.3 PREPARO DA RAÇÃO	30
4.4 ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS	31
4.5 ANESTESIA DOS PEIXES.....	31
4.6 COLETA DO SANGUE)	31
4.7 COLETA DE ORGÃOS	32
4.8 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA	32
4.9 AVALIAÇÃO DO BIOQUÍMICO SÉRICO.....	33
4.10 AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA E HISTOPATOLÓGICA DOS ÓRGÃOS.....	33
4.11 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	33
4.11.1 AMOSTRAS.....	33
4.11.2 MEIOS DE CULTURA APLICADOS PARA O CRESCIMENTO MICROBIANO	34
4.11.3 CULTIVO E IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS.....	34
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o mundo passa por diversos desafios, dentre os quais destaca-se a poluição ambiental, que gera preocupação em escala global. Montagner et al. (2017) referem-se aos materiais poluidores como contaminantes emergentes, os quais envolvem fármacos, compostos usados em produtos de higiene pessoal, agrotóxicos, resíduos químicos industriais e microplásticos. Para Santana et al. (2021), a denominação de microplástico é aplicada aos materiais poliméricos que podem ser encontrados nos ambientes aquáticos e no terrestres, resultantes da degradação de polímeros sintéticos artificiais.

Segundo Montagner et al. (2017), os primeiros estudos relacionados à presença de microplásticos encontrados no meio ambiente foram publicados no início dos anos 70, quando esses materiais foram encontrados retidos em redes de plâncton de águas costeiras na Região da Nova Inglaterra, Estados Unidos. Já Carpenter et al. (1972) relatam que os microplásticos são formados por esférulas de plásticos com média de 0,5 milímetro de diâmetro (variação de 0,1 a 2 milímetros), sendo abundantes nas águas costeiras do Sul da Nova Inglaterra.

Para Caixeta et al. (2018), os materiais plásticos são depositados no meio ambiente e sofrem degradação por fatores bióticos e abióticos, tornando-se assim um grave problema ambiental. Silva et al. (2021) acrescentam que a presença dos plásticos com tamanho microscópicos causa sérios prejuízos na qualidade da vida aquática.

Segundo Geyer et al. (2017), desde o início da produção dos plásticos em larga escala nos anos de 1950, esses produtos têm assumido um papel de destaque para os seres humano, sendo utilizados na produção de embalagens, garrafas e utensílios que auxiliam as atividades industriais e domésticas. Mesmo os plásticos apresentando diversos benefícios para a sociedade, o aumento descontrolado de sua produção e a baixa reciclagem desses materiais impactam negativamente nos ecossistemas aquáticos e terrestres (MIZOGUCHI, 2019).

Efeitos negativos como acumulação no meio ambiente e nos organismos aquáticos foram observados por Geyer et al. (2017). Os monômeros que são moléculas orgânicas utilizadas como matérias-primas na produção dos plásticos

comuns como o polipropileno é o propileno, derivados de hidrocarbonetos, os quais em sua grande maioria não são biodegradáveis, causando, portanto, sua acumulação nos meios aquáticos e terrestres na forma de micropartículas (GEYER et al., 2017).

O microplástico nos ambientes aquáticos são considerados agressivos, pois de acordo com Santos (2019) estes materiais causam efeitos deletérios, principalmente devido a sua alta taxa de adsorção de metais pesados. A presença do microplástico neste ambiente diminui a qualidade da água.

Os peixes representam um dos mais importantes bioindicadores de qualidade para os corpos hídricos. Algumas espécies de peixes são sensíveis às diversas alterações do meio ambiente, incluindo pH e aspectos físico-químicos (FREITAS et al., 2009). De acordo com Benincá (2006), compostos tóxicos podem causar lesões crônicas, comprometendo a saúde dos peixes. Neste contexto, estudos vêm descrevendo os efeitos prejudiciais atribuídos aos microplásticos em organismos aquáticos (SÁ, 2013; PITT ET AL., 2018; SILVA, 2020).

Estudos aponta que a tilápia-do-nilo espécie *Oreochromis niloticus* por sua fácil adaptação, e seu importante papel econômico em diversos continentes tem sido utilizada em vários estudo de toxicologia como também em estudo de influência da dieta de organismos aquáticos (ZICA, 2012; ACAR et. al. 2018; OSMAN et. al. 2018; BADREY et. al. 2019; HAMED et. al. 2019; SOLIMAN et. al. 2019).

Partindo da importância do polipropileno na sociedade e do impacto ambiental de seus resíduos no ecossistema aquático, objetivou-se neste estudo avaliar o impacto da ingestão de micropartículas de polipropileno sobre a saúde de espécimes de *O. niloticus*.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos deletérios da ingestão por trinta dias de 100 µg e 500 µg do microplástico de polipropileno/kg de peso vivo em espécimes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as alterações eritrocitárias e leucocitárias das tilápias após um mês de exposição ao polipropileno;
- Avaliar as alterações bioquímicas séricas hepáticas e renais das tilápias expostas a ingestão do polímero;
- Avaliar as alterações somáticas do fígado, baço, rim cranial e caudal, coração, estômago e intestino delgado;
- Avaliar a microbiota do intestino delgado das tilápias;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. SUSTENTABILIDADE E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO

A busca constante por materiais mais resistentes, duráveis e flexíveis levou a criação dos compostos orgânicos sintéticos. Entretanto, a resistência apresentada por esse tipo de material vem apresentando impactos negativos aos sistemas biológicos, pois, precisam de um longo período de tempo para a decomposição total. Essa característica causa a acumulação destes materiais no meio ambiente, levando a diversos problemas ambientais (PEREIRA et al., 2016).

O meio ambiente sofre riscos incontáveis dada a situação de depredação e uso inadequado dos ecossistemas de acordo com os 17 objetivos da sustentabilidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Para isto é necessário identificar os principais pontos de degradação ambiental e elaborar soluções que auxiliem na preservação do sistema ambiental como um todo, desde recursos ambientais até a reciclagem de resíduos que possam ser gerados na produção industrial (OLIVEIRA et. al. 2017).

3.2. POLÍMEROS POLIPROPILENO

Polímeros são materiais presentes no dia-a-dia, e podem ser encontrados em qualquer tipo de atividade realizada atualmente pelo ser humano. A palavra polímero vem do grego (poli, muitos) e (mero, unidade), portanto é um material composto por muitas partes (SILVA, 2014). Com isso polímero é qualquer material orgânico ou inorgânico, sintético ou natural, que tenha um alto peso molecular e com variedades estruturais repetitivas, sendo que normalmente esta unidade que se repete é de baixo peso molecular (MANRICH, 2005).

Existem diversos tipos de polímeros atualmente no mercado, esses materiais são formados por monômeros, isto é, moléculas com uma (mono) unidade de repetição. A junção destes monômeros ocorre através do método de polimerização, sendo eles polimerizados por adição e por condensação (PASSATORE, 2013).

A importância de entender os processos, os tipos e as características de cada um desses materiais, dá uma compreensão mais profunda sobre os tipos de polímeros que serão formados, qual a resistência, e até mesmo quanto tempo será necessário para a completa decomposição. Na Tabela 1 são apresentadas as principais características estruturais desses materiais:

Tabela 1: Características estruturais dos polímeros.

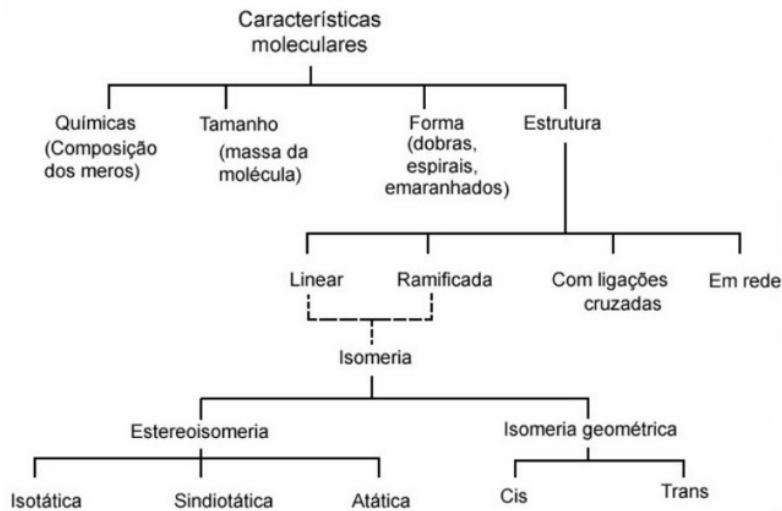
Crítérios	Classe do Polímero
Origem do polímero	Natural, Sintético
Número de monômeros	Homopolímero, Copolímero
Método de preparação do polímero	Polímero de adição, Condensação
Estrutura química da cadeia	Poli-hidrocarboneto, Poliamida, Poliéster, etc.
Encadeamento da cadeia	Sequência cabeça-cauda, cabeça-cabeça, cauda-cauda.
Configuração dos átomos da cadeia	Sequência <i>cis</i> , <i>trans</i>
Taticidade da cadeia	Isotático, Sindiotático, Atático
Fusibilidade e/ou solubilidade	Termoplástico, Termorrígido.
Comportamento Mecânico	Borracha ou Elastômero, Plástico, Fibra.

Fonte: Passatore, 2013.

Existem atualmente diversos tipos de polímeros, fabricados de diversas formas, utilizados em diversas áreas tanto no âmbito industrial como doméstico. Dentre esses destacam-se os termoplásticos e termofixos. Os polímeros termoplásticos são aqueles cuja temperatura varia entre 80°C e 130°C, porém endurecem quando são esfriados entre 25°C e 30°C. Essa capacidade faz com que esses materiais sejam utilizados em aplicações que necessitam simultaneamente de calor e pressão. Por outro lado, os polímeros termofixos tornam-se permanentemente rígidos durante a sua formação e não amolecem sob aquecimento (CALLISTER; RETHWISCH, 2013).

Os polímeros ainda podem ser classificados de acordo com as suas características estruturais moleculares conforme mostrado na Figura 1 (CALLISTER; RETHWISCH, 2013).

Figura 1 - Esquema de classificação com base nas características das moléculas poliméricas.



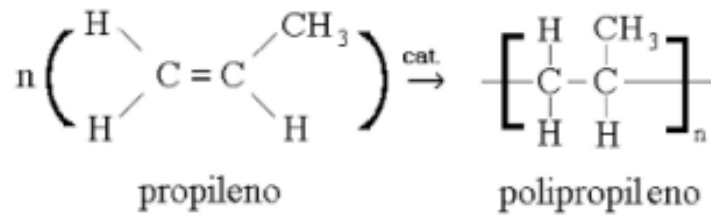
Fonte: Callister, 2013.

Os polímeros orgânicos sintéticos são polietileno (PE), politetrafluoroetileno, polipropileno (PP), polietileno tereftalato (PET), cloreto de polivinila (PVC), poliestireno (PS) e policarbonatos (PC) (CALLISTER; RETHWISCH, 2013). De acordo com estes autores, os plásticos são materiais que apresentam alguma rigidez estrutural e apresentam diversas aplicações.

O polipropileno (PP) possui diversos nomes comerciais como Herculon, Meraklon, Moplen, Poly-pro, Pro-fax, Propak, Propathene, sendo classificado como um material resistente à distorção térmica, além de possuir excelentes propriedades elétricas e resistências à fadiga, quimicamente inerte, muito utilizado por ser relativamente barato. Entretanto não apresenta boa resistência à luz ultravioleta (CALLISTER; RETHWISCH, 2013).

Para Santos (2010), o polipropileno (PP) pode ser classificado como um termoplástico, pertencente à família dos poliolefinas, tais substâncias são formadas a partir do processo de polimerização das unidades moleculares de propileno (monômeros). Essa molécula pode ser classificada como hidrocarboneto alifático insaturado, e sua estrutura química pode ser observada na Figura 2.

Figura 2 - Esquema de representação da reação de obtenção do PP.



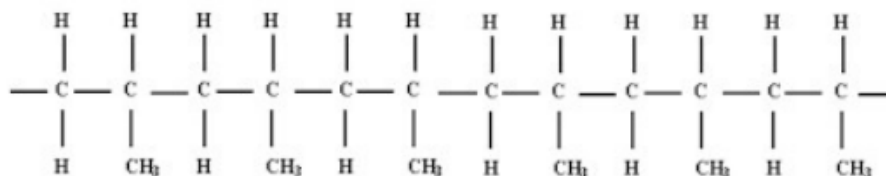
Fonte: Fortuna, 2020

De acordo com Petry (2011), o polipropileno (PP) pode ser homopolímeros (rígido, cristalino, aplicado como fibra térmicas), copolímeros heterofásico ou em bloco (passam por duas etapas de polimerização e formam um copolímero misto etileno-propileno que é geralmente disperso em matriz de polipropileno (PP) homopolímero) e o tipo copolímero estático ou randômico (obtido pela adição de eteno, sendo mais resistente a impactos que o homopolímero e apresenta excelentes propriedades óticas).

A representação de um esquema de produção do polipropileno deixa claro como esse material é formado. Entretanto ainda segundo Santos (2010) esse plástico pode apresentar três tipos diferentes de taticidade (forma espacial que uma cadeia polimérica pode assumir), sendo elas a isotático, sindiotático e atático.

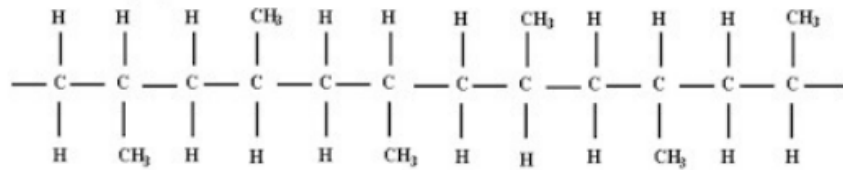
Esses três tipos de arranjos e as suas diferenças podem ser vistos nas (Figuras, 3, 4 e 5).

Figura 3 - Arranjo Isotático do PP.



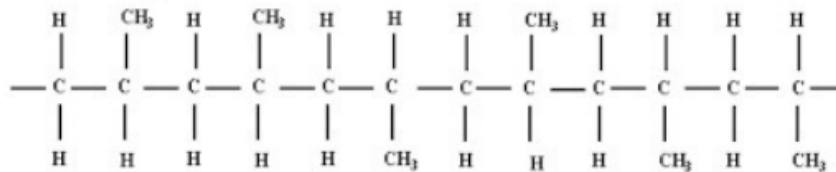
Fonte: Santos, 2010

Figura 4 - Arranjo Sindiotático do PP.



Fonte: Santos, 2010

Figura 5 - Arranjo Atático do PP.



Fonte: Santos, 2010

O arranjo formado pelo polipropileno (PP) atático como observado na imagem é irregular. Tal irregularidade estrutural faz com que esse tipo seja inferior ao polipropileno (PP) isotático. Para Santos (2010), o PP atático apresenta aspectos pegajosos, sendo muito utilizado na produção de adesivos, selantes e outros tipos. Esse tipo de material é um subproduto da produção de PP semicristalino.

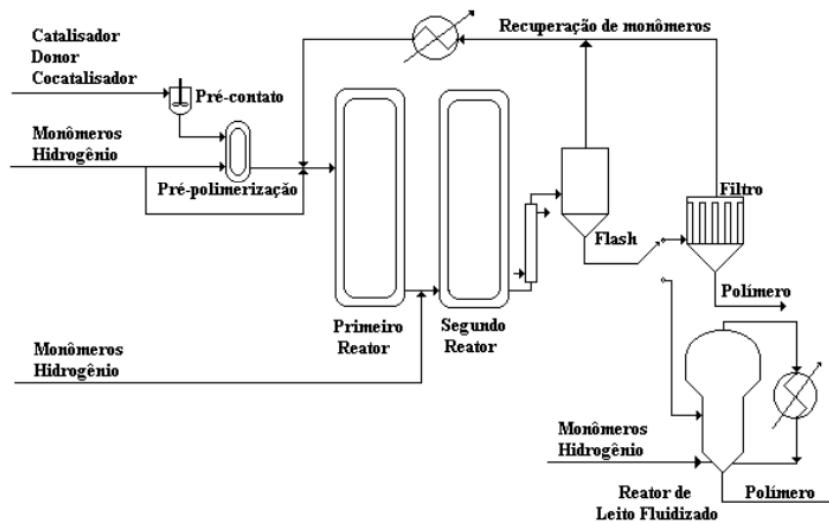
O tipo polipropileno (PP) isotático é o mais utilizado na produção industrial do polipropileno (PP). Neste arranjo o polipropileno (PP) apresenta um grau de cristalinidade entre 60%, com excelentes propriedades mecânicas, físicas e químicas, como também bons resultados quanto a sua produtividade (GEDEL, 2021).

O polipropileno (PP) é um tipo de plástico relativamente novo. A sua descoberta foi creditada a Giulio Natta em 1954 na Itália, processo no qual utilizava-se dos catalizadores até então desenvolvidos por Karl Ziegler (PORRI, 2009; PETRY, 2011).

O monômero usado para o processo de polimerização do polipropileno (PP) é originário do processo de craqueamento da nafta, um composto que deriva do petróleo. O processo de polimerização comercial é o método de Spheripol, mostrado na Figura 6. O método é composto por um tipo de polimerização entre massa e meio líquido, como um processo de

copolimerização por leito fluidizado (PETRY, 2011).

Figura 6 - Diagrama simplificado do processo de Spheripol.



Fonte: Reginato, 2001.

No processo de polimerização do polipropileno (PP) são usados catalisadores Ziegler-Natta (Z/N), uma mistura de $TiCl_3$ sólido e $Al(C_2H_5)_2Cl$, um complexo metálico. Os tipos de polimerização podem variar entre polimerização em solução, suspensão, massa (bulk) e até mesmo em fase gasosa (PETRY 2011; SILVA 2017).

Assim que processado o polipropileno (PP) pode ser aplicado em diversos produtos, como garrafas esterilizáveis, filmes para embalagens, gabinetes de televisores e bagagens (CALLISTER; RETHWISCH (2013).

Vasconcelos (2019) aponta que ainda é possível produzir canudos, carpetes, peças automotivas, seringas descartáveis, caixas de bebidas utilizando os tipos de polipropileno (PP) disponíveis no mercado.

Segundo Omnexus (2022), os filmes de polipropileno (PP) estão entre os principais materiais para produção de embalagens devido a sua flexibilidade e resistência. Entre estes encontra-se os CPP (filme de polipropileno fundido), BOPP (filme de polipropileno orientado biaxialmente), além de serem usados em moldagem por injeção, extrusão, moldagem por sopro e impressões 3D.

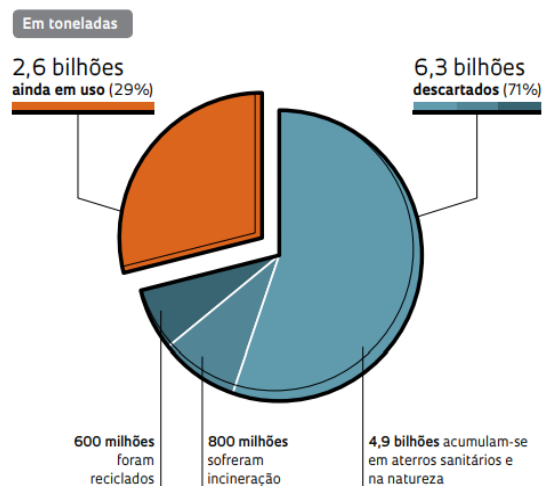
3.3. MERCADO ECONÔMICO DO POLIPROPILENO

Por suas capacidades físico-químicas extraordinárias, sua leveza e baixo custo os materiais como o polipropileno e diversos outros da categoria dos polímeros vêm apresentando avanços expressivos nos últimos anos. Entre os anos de 2018 e 2019, a produção global de plástico foi de aproximadamente 370 milhões de toneladas, e deste montante cerca de 70 milhões de toneladas foram polipropileno (PLASTICEUROPE, 2020).

Para Caixeta e Moraes (2022), nos próximos anos haverá um aumento significativo dos materiais poliméricos no mercado. Chen et al. (2020) estimam que até 2050 a produção mundial pode chegar a 500 milhões de toneladas. Outros autores como Gallo et al. (2018) acreditam que esse número pode ser ainda maior e poderá ficar entre 700 e 1800 milhões de toneladas.

Este panorama acende um alerta importante principalmente quando os números de produção de plásticos no mundo são comparados aos números de plásticos que foram reciclados. Segundo Vasconcelos (2019), estima-se que cerca de 8,9 bilhões de toneladas dos materiais poliméricos popularmente conhecidos como plásticos foram produzidos, e cerca de 6,3 bilhões de toneladas deste material tornou-se lixo, como mostra a Figura 7.

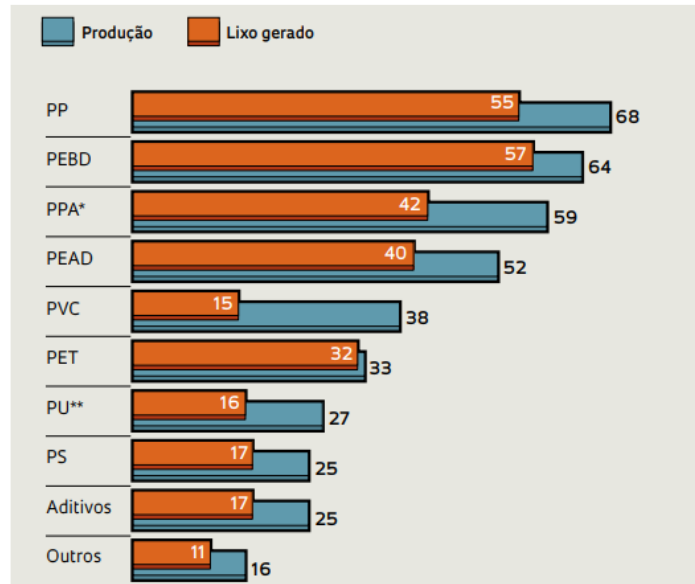
Figura 7 - Produção de plástico desde de 1950 e seus fins.



Fonte: Geyer et al. (2017).

Um comparativo feito por Vasconcelos (2019) ilustrado na Figura 8, apresenta os dados de produção de plásticos em 2015, no qual o polipropileno (PP) é o material que apresenta a maior quantidade de produção de resíduos.

Figura 8 - Comparativo entre produção e geração de resíduos.



Fonte: Geyer et al. (2017)

Os dados apresentados sobre a geração de resíduos a partir do polipropileno (PP) estão relacionados às suas aplicações. O polipropileno é utilizado na produção de embalagens, garrafas e utensílios domésticos. Desta forma é comum encontrar esse material presente nos resíduos domésticos, que muitas vezes são descartados de forma irregular. O acúmulo do polipropileno (PP) no meio ambiente tem demonstrado uma grande preocupação em virtude do impacto causado, o polipropileno tem baixa resistência a luz ultravioleta sofrendo diversas fragmentações até formar o microplástico (MP) (VASCONCELOS, 2019; OLIVATTO et. al. 2018; CALLISTER; RETHWISCH, 2013).

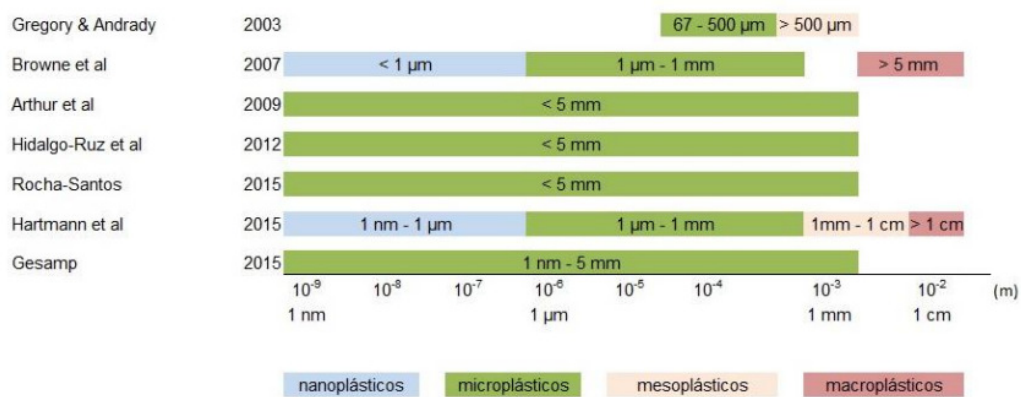
O novo relatório apresentado pela PlasticsEurope 2021, organização composta por produtores, conversores e recicladores de plástico, demonstra preocupação com a reciclagem dos materiais plásticos e seus problemas ambientais, sendo emergente e previsto o aumento significativo de investimentos em tecnologias de reciclagem de 2,6 bilhões para 7,2 bilhões até 2030 (PLASTICEUROPE, 2021).

3.4. MICROPLÁSTICOS (MPs)

O termo microplásticos (MPs) é aplicado às pequenas partículas de polímeros. Entretanto, não significa que essas matérias estão se decompondo, pelo contrário estão se dividindo em frações cada vez menores, aumentando o seu impacto nos ecossistemas aquáticos e terrestres. A decomposição dos polímeros sintéticos é um processo complexo dado ao fato dessas moléculas apresentarem alta massa molecular (CARPENTER et. al. 1972).

Quanto à definição da escala microscópica dos plásticos, há diferentes classificações na literatura. No entanto, a mais aceita define as partículas de dimensões inferiores a 5 mm como microplástico, sendo proposta em 2015 no *Workshop Internacional da National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA, na sigla em inglês), como mostra a Figura 9 (OLIVATTO et. al. (2018).

Figura 9 - Tabela definida no Workshop Internacional da National Oceanic and Atmospheric Administration ano 2015.



Fonte: OLIVATTO et. al. 2018.

Ainda Shim et al. (2016) definem os microplásticos (MPs) como polímeros orgânicos sintéticos com tamanho entre 0,001 a 5 mm.

De acordo com Olivatto et. al. (2018), os microplásticos presentes no meio ambiente recebem dois tipos de classificações de acordo com a origem do material: microplástico primário e microplástico secundário.

Para Shim et al. (2016), os microplásticos (MPs) primários são os na faixa de 0,001 a 5 mm, sendo aqueles que foram produzidos em tamanhos

microscópicos para compor a formulação de determinados produtos, denominado pela indústria como “pellet”. Por sua vez, o microplástico secundário é aquele resultante da fragmentação de artefatos de plásticos maiores descartados no meio ambiente, que tanto pode ocorrer no ambiente aquático ou terrestre (OLIVATTO et al., 2018)

E quando esses materiais se instalam no meio ambiente são difíceis de serem removidos do ambiente aquático e por conta de seu tamanho acabam tornando-se biodisponíveis para pequenos organismos aquáticos até o zooplâncton, que são base da cadeia alimentar de muitos peixes (SHIM et al. 2016).

Cole et al. (2013) demonstraram a preocupação com a ingestão dos microplásticos (MPs) pelo zooplâncton, pois há muitas incertezas quanto ao comportamento desses materiais nestes organismos, principalmente pelos mesmos representarem organismos da base da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos.

Os plásticos são encontrados em todos os tipos de ambientes costeiros e marinhos, desde praias, recifes e manguezais em diversas formas e condições (*pellets*, fragmentos e objetos). Não é possível obter estimativas confiáveis da quantidade de lixo plástico que chega ao ambiente marinho, mas as quantidades são, no entanto, bastante substanciais (MIRANDA, 2011).

Boerger et al. (2010) e Cauwenberghe et al. (2014) relatam a ingestão de microplásticos (MPs) em vários níveis tróficos da cadeia alimentar de ecossistemas aquáticos.

Os riscos da presença de microplásticos (MPs) em ambientes aquáticos vão além do consumo direto por uma determinada espécie, tornando-se uma preocupação comercial devido sua detecção em espécies comerciais como sardinha (*Sardina pilchardus*), biqueirão (*Engraulis encrasicolus*) e carapau (*Trachurus trachurus*) (SILVA, 2020).

Miranda (2011) relata que a Cavala (*Scomberomorus cavalla*), assim como o Caçonete (*Pseudoplatystoma corruscans*) são comumente conhecidos pelos seus hábitos nectônicos e generalistas, podendo comer peixes pequenos e médios, moluscos e crustáceos. Sendo assim, o plástico encontrado pode ser proveniente da sua alimentação direta, ou então ingerido por alguma de suas presas.

3.5. IMPACTOS DO MICROPLÁSTICO EM AMBIENTES AQUÁTICOS

De acordo com Ivleva et al. (2017), os microplásticos (MPs) sofrem degradação e a formação de micro partículas através de processos como abrasão mecânica, radiação UV e degradação microbológica no ambiente, causando a contaminação dos ecossistemas marinhos e de água doce.

Olivatto et. al. (2018) preocupam-se com a exposição dos plásticos no meio ambiente, dado o fato de que somente 1% do plástico que é produzido no Brasil é direcionado para reciclagem. Sendo assim, um dos possíveis locais de acúmulo serão solos, rios e oceanos.

Montero et al. (2021) avaliaram os efeitos toxicológicos do microplásticos (MPs) em animais aquáticos. A presença deste material foi associado à resposta inflamatório no intestino dos animais que receberam o tratamento com o microplásticos (MPs). Os resultados demonstram uma grande preocupação principalmente no que tange aos ambientes aquáticos.

Jakubowska et al. (2021) apontam que o ingestão do microplásticos (MPs) tanto por invertebrados como vertebrados podem gerar um série de problemas, dada a natureza química dos produtos poliméricos, que pode trazer efeitos negativos ao desenvolvimento e crescimento dos animais.

Boerger et. al. (2010) dizem que o acúmulo dos microplásticos (MPs) em ambientes marinhos tem apresentado efeitos negativos e preocupantes à qualidade de vida deste meio, uma vez que os microplásticos (MPs) têm se misturado às fontes de alimentos dos animais planctívoros. Essa incorporação faz com que estes indivíduos recebam uma grande carga de MPs e o acúmulo dos mesmos pode trazer consequências negativas.

Os microplásticos (MPs) não têm afetado somente os animais em ambientes aquáticos. Karami et al. (2017) demonstraram a presença destes materiais em 17 amostras de sal de oito países diferentes para o consumo humano. O sal marinho é muito utilizado pelos seres humanos em suas refeições e a presença dos MPs nos oceanos já está em vias de afetar a espécie humana diretamente.

Existem diversos estudos sendo realizados para definir quais serão os efeitos futuros dada a exposição dos microplásticos (MPs) e seus danos aos

organismos nos diversos ecossistemas onde se encontram (BOERGER et. al. 2010; MIRANDA, 2011; JAKUBOWSKA et. al. 2021; MONTERO et. al. 2021).

3.6. TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)

De acordo com o novo relatório da FAO, O Estado Mundial da Pesca e Aquicultura 2022 (SOFIA), a atividade aquícola apresentou um crescimento de 5,7% em cultivo de algas e animais aquáticos combinados, com a produção global atingindo 122,6 milhões de toneladas – resultado que também está incluído na resposta global à pandemia (FAO, 2022). Dentre os peixes de água doce, a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) merece destaque, sendo a terceira espécie mais criada em pisciculturas de água doce, representando cerca de 9% da produção global em 2020.

O Brasil consolidou-se como o quarto maior produtor de tilápia do mundo, com um volume de mais de 534 mil toneladas em 2021 de acordo com a FAO (PEIXEBR, 2022). A tilápia é uma das três espécies de peixes mais criadas no mundo e uma das mais consumidas nos Estados Unidos, potencial importador da produção brasileira. Por conta deste potencial produtivo, há investimento em várias regiões do Brasil para incentivar a produção de pescados (BRASIL, 2014).

Neste contexto, destaca-se a espécie *Oreochromis niloticus*, comumente chamada de “tilápia nilótica”, de origem africana, oriunda da bacia do Rio Nilo, pertencente à família *Cichlidae* uma espécie resistente e adaptável. Para Zimmermann e Fitzsimmons (2004), no Brasil, a tilapicultura segue a mesma tendência mundial, com predomínio de tilápias nilóticas ao invés de tilápias vermelhas, pois estas apresentam crescimento mais rápido e um rendimento de filé superior quando comparadas às demais espécies de tilápias.

Estudos aponta que a tilápias-do-nilo espécie *O. niloticus* por sua fácil adaptação, e seu importante papel econômico em diversos continentes tem sido utilizada em vários estudo de toxicologia e influência da dieta de organismos aquáticos (ZICA, 2012; ACAR et. al. 2018; OSMAN et. al. 2018; BADREY et. al. 2019; HAMED et. al. 2019; SOLIMAN et. al. 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. APRESENTAÇÃO DO ACONDICIONAMENTO DAS TILÁPIAS USADAS NO ESTUDO

Foram utilizadas 60 tilápias-do-nilo (*O. niloticus*), pesando em torno de (200 ± 5 g), acondicionadas em seis tanques, com capacidade de 100 L de água cada, abastecidos com água corrente proveniente de poço artesiano, com vazão de 1 L/min. Após a transferência de tanque, nos primeiros três dias os peixes foram submetidos a banhos em solução de NaCl na concentração de 6,0 g/L para redução do estresse provocado pelo transporte (CARNEIRO; URBINATI, 2001). Os animais foram aclimatados por mais 12 dias para a concentração plasmática de cortisol e a osmolaridade voltassem aos níveis basais. O arraçoamento (Nutripiscis® - Empresa Presence) foi realizado duas vezes ao dia, correspondendo a 2% da biomassa dos aquários. A qualidade da água foi determinada nos momentos da alimentação, sendo a temperatura e concentração de oxigênio dissolvido medidos pelo aparelho YSI, modelo 55, e o pH e a condutividade elétrica pelo aparelho YSI, modelo 63. Os valores dos parâmetros da água permaneceram dentro da faixa adequada para o bem-estar de peixes tropicais (oxigênio dissolvido = $4,07 \pm 0,89$ mg L⁻¹; temperatura = $27,64 \pm 2,05$ °C; pH = $7,64 \pm 0,54$; e condutividade = $208,29 \pm 97,57$ μS/cm) (BOYD, 1990).

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em seis aquários (n=10), constituindo três tratamentos (controle, e outros dois tratamentos contendo 100 μg e 500 μg cada). Tais tratamentos foram definidos de acordo com estudo de Monteiro et. al (2022) aplicado a *Dicentrarchus labrax* e Huang et. al. (2022) aplicado a *Symphysodon aequifasciatus*. O delineamento experimental está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição das tilápias no estudo de segurança clínica.

Ensaio de Segurança Clínica		
Grupo	Tratamento	Quantidade de Animais
T1	Controle	20
T2	Tratamento 100 µg	20
T3	Tratamento 500 µg	20

Fonte: Próprio Autor, 2022.

O ensaio experimental foi realizado no Laboratório de Aquicultura Sustentável do Centro Zootécnico da Universidade Brasil, *Campus Descalvado/SP*, e conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o Nº 2200039.

4.3. PREPARO DA RAÇÃO

A ração comercial extrusada (Nutripiscis® - Empresa Presence) contendo 36% de proteína bruta, umidade de 12%, extrato etéreo de 70 g/kg, matéria mineral de 140 g/kg, fibra bruta de 50 g/kg, cálcio de 25 g/kg, fósforo de 8 g/kg e vitamina C de 350 mg/kg (Figura 10). A mesma foi utilizada para compor as dietas experimentais das tilápias submetidas aos protocolos experimentais. A alimentação foi realizada duas vezes ao dia (8h e 17h), com administração de 2% da biomassa dos tanques. O polipropileno utilizado foi obtido do departamento de química da Universidade Federal de São Carlos.

Figura 10 - Ração usada para dieta dos animais



Fonte: Próprio Autor, 2022.

Para o preparo das dietas, diariamente a ração foi pesada proporcionalmente ao peso médio das tilápias de cada tanque. Em seguida, foram determinadas as doses de $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.v e $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.v. de polipropileno, compondo as dietas T1 e T2, respectivamente, as quais foram previamente homogeneizadas em 2% de óleo vegetal, para depois serem misturadas na ração. Para padronização das dietas e balanço nutricional, foi adicionado 2% de óleo vegetal à dieta do grupo controle (T3).

4.4. ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

A dieta seguiu padrões normais, administrando duas refeições por dia, segundo ciclo básico alimentar. Essa dieta com microplástico foi administrado durante um período de 30 dias. Após o término do período experimental os animais foram removidos e eutanasiados para realização dos ensaios clínicos.

4.5. ANESTESIA DOS PEIXES

Os peixes foram anestesiados por imersão em solução aquosa de benzocaína na proporção de 10.000 mg/L para sedação dos animais para captura dos animais e 500 mg/L no momento do eutanásia.

4.6 COLETA DO SANGUE

O sangue dos animais foi coletado do vaso caudal com o auxílio de seringas descartáveis, conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11 - Coleta de Sangue.



Fonte: Próprio Autor, 2022.

4.7 COLETA DE ORGÃOS

Fragments de fígado, baço, coração, rins, estômago, brânquias e cérebro que foram coletados para realização do índice somático dos órgãos e foi coletado o intestino para o estudo da microbiota no laboratório de Microbiologia da Universidade Brasil, *Campus Fernandópolis* – SP, conforme Figura 12.

Figura 12 - Procedimento de coleta dos órgãos.



Fonte: Próprio Autor.

4.8. AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

Foi realizada a coleta das amostras de sangue dos peixes por punção de vaso caudal. As determinações das contagens globais de células vermelhas e brancas foram realizadas em câmara de Neubauer, utilizando a solução com diluente na proporção de 1:100 de (NATT; HERRICK, 1952). Foram realizadas a determinação do percentual de hematócrito em microcentrífuga e da quantidade de hemoglobina circulante com reagente de Drabkin's para leitura em comprimento de onda de 540 nm e os valores de volume corpuscular médio (VCM) foram obtidos pelo cálculo $VCM = (HT/HE) * 100$ e concentração hemoglobina corpuscular média (CHCM) pelo cálculo $CHCM = (HG/HT) * 100$. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões sanguíneas com a contagem de 200 células, estabelecendo o percentual de cada tipo celular de

interesse, após coloração prévia das extensões com May-Grünwald-Giensa-Wright (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003).

4.9. AVALIAÇÃO DO BIOQUÍMICO SÉRICO

Amostras de sangue colhidas sem anticoagulante (conforme item 4.8) foram centrifugadas a 5.000 rpm por cinco minutos para obtenção de soro. O estudo do bioquímico sérico de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), proteínas totais, albumina, glicose, colesterol, triglicerídeos e creatinina foram determinadas enzimática e colorimetricamente em analisador bioquímico semi-automático (Modelo LabQuest – Bioplus).

4.10. AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS ÓRGÃOS

Após a necropsia (conforme item 4.7) fígado, rim caudal e rim cranial, baço, estômago, cérebro, brânquias, intestino e coração foram coletados para avaliação morfométrica que foi realizada de acordo com Weibel et al. (1969), através da proporção entre peso do órgão (PO) e peso corporal (PC) expressos como índice somático pela fórmula: Índice somático (IS) = $PO \times 100/PC$.

4.11. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.11.1. COLETA DAS AMOSTRAS

Para a realização das análises microbiológicas foram coletados os intestinos dos animais usados nos três tratamentos sendo os animais do grupo controle, grupo com 500 µg do microplástico de polipropileno e 100 µg do microplástico de polipropileno, foram selecionados 5 indivíduos de cada grupo. O material já coletado foi mantido em refrigeração, e enviados diretamente para análise no laboratório de Microbiologia da Universidade Brasil *campus* Fernandópolis – SP.

4.11.2. MEIOS DE CULTURA APLICADOS PARA O CRESCIMENTO MICROBIANO.

Para o cultivo da microbiota intestinal foram utilizados os meios agarizados: triptecaseína soja (TSA), ágar sangue, McConckey, Salmonella-Shigella (SSA), Eosina-Azul de Metileno (EMB), Sabouraud-Dextrose e caldo selenito-cisteína. Todos da Marca Kasvi.

4.11.3. CULTIVO E IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

O material para o cultivo foi obtido com a ajuda de “swabs” estéreis, friccionados cinco vezes sobre o material e depositados em tubos contendo 10 mL de solução de NaCl estéril (0,5%), homogeneizados por três minutos (vórtex). A solução obtida foi utilizada para o cultivo em caldo selenito-cisteína, (utilizou-se 1,0 mL) e para realizar diluições seriadas (10^{-1} – 10^3).

As diluições seriadas (0,1 mL) foram empregadas para a inoculação nos meios agarizados: triptecaseína soja (TSA), ágar sangue, McConckey, Eosina-Azul de Metileno (EMB), Sabouraud-Dextrose. As placas de Petri foram incubadas em aerobiose a 37 °C por 24h e 48h. O cultivo de anaeróbios foi realizado em meio ágar sangue a 37 °C por 24h e 48h. Utilizou-se jarra de anaerobiose, e como gerador de anaerobiose Gaspak EZ Anaerobe (BBL®). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O Caldo selenito-cisteína foi incubado a 37 °C por 18h, sob agitação (225 rpm), quando 0,1 mL foi inoculado em placas de Petri contendo Ágar Salmonela/Sigella, incubadas a 37 °C por 24h e 48h.

Após o período de incubação verificou-se o crescimento, as características morfológicas das colônias e realizou a contagem das mesmas.

As colônias foram repicadas para realização da identificação por contador de colônias modelo CP 608 e também identificada pela coloração de Gram e por provas bioquímicas aplicando os meios S.I.M, meios TSI, e o meios CITRATO. As bactérias Gram-positivas foram submetidas a provas da coagulase, hemólise e DNase, enquanto que as Gram-Negativas foram avaliadas pelo sistema API20E (BioMérieux®).

4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos e 20 repetições, sendo que cada peixe foi considerado como uma repetição. Os dados de hemograma, leucograma, bioquímico, análise somática dos órgãos e microbiota intestinal foram analisados pelo programa Minitab (2018), por meio de análise de variância (ANOVA), normalidade dos erros (Cramer-Von-Mises) e a homocedasticidade da variância (Levene). Quando observado significância estatística, foi aplicado o teste de LSD de Fisher ($P < 0,01$; 0,05; 0,10), para comparação entre as médias e o erro padrão das médias (EP).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microplásticos (MPs) no ambiente aquático vêm sendo uma grave preocupação. Wright e Kelly (2017) associam a ingestão deste material pelas espécies aquática em água doce e marinha, como um problema ambiental sem precedentes que pode afetar de forma direta a saúde desses animais.

Os resultados observados na contagem de eritrócitos, valores percentuais de hematócrito, hemoglobina, HCM, CHCM e VCM dos animais não revelaram diferenças estatísticas ($P < 0,01$; $0,05$; $0,10$) entre peixes controles e tratados com as duas doses de microplástico (MP) – $100 \mu\text{g}$ de microplástico de polipropileno e $500 \mu\text{g}$ de microplástico de polipropileno apresentado na Tabela 3. Para Kim et al. (2021), os resultados associados ao hemograma do animal podem demonstrar o estado de saúde do mesmo, isso após os animais passarem por diversos meios estressantes, como também ambiente que apresente toxicidade química, tornando-se um excelente parâmetro para avaliar a saúde dos animais após a dieta com o polipropileno. Iheanacho e Odo (2020) observaram que a presença do microplástico causou mudanças nos valores de eritrócitos, nos valores percentuais de hematócrito e na quantidade de hemoglobina dos animais como em outros parâmetros como hematócrito e hemoglobina do catfish africano, *Clarias gariepinus*.

Tabela 3 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem total de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, MCHC.

Tratamento ³	Eritrócitos Totais ($10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócritos (%)	VCM ⁵ (fL)	MCHC ⁵ (g/dL)
Controle	1,51 \pm 0,04	5,43 \pm 0,18	22,72 \pm 0,73	148,31 \pm 4,92	24,49 \pm 1,08
T100 μg	1,43 \pm 0,04	5,65 \pm 0,23	21,75 \pm 0,51	143,84 \pm 4,09	26,19 \pm 1,20
T500 μg	1,54 \pm 0,07	5,77 \pm 0,31	21,61 \pm 0,73	148,31 \pm 7,68	28,51 \pm 1,99
Valor P	0,49	0,76	0,63	0,92	0,33
Valor F	0,71	0,28	0,47	0,09	1,12

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher ($P < 0,01$ - $0,05$ - $0,10$)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas compararam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com $100 \mu\text{g}$ de Polipropileno; $500 \mu\text{g}$ - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para $P < 0,10$; **significativo para $P < 0,05$; ***Significativo para $P < 0,01$.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

Hamed et al. (2019) relataram que a presença de microplástico (MP) 10000 µg/L e 100000 µg/L após 15 dias de exposição resultou em variações no hematócrito, na contagem total de hemácias e na quantidade de hemoglobina circulante em tilápias, *O. niloticus*. Diferentemente dos achados destes autores, não se observou alterações significativas ($P \geq 0,05$) em tilápias alimentadas com 100 µg e 500 µg de microplástico de polipropileno Tabela 3. A forma e o tempo de exposição, bem como o tamanho e composição dos microplásticos entre ambos os estudos podem justificar tais achados.

Nos estudos realizados por Choi et al. (2021) é relatado em teste *in vitro* danos à membrana das hemácias causados pela exposição a microplástico de polietileno. Estes danos poderiam causar distúrbios hematológicos mais graves, podendo levar a um quadro de hemólise. Praveena et al. (2013) apontam que a diminuição da hemoglobina pela ação lesiva do microplástico provocaria disfunções teciduais, já que são responsáveis pelo transporte de gases no organismo dos peixes. Digka et al. (2018) e Hou et al. (2020) sugerem que o tamanho do microplástico (MP) pode afetar diretamente o sistema circulatório dos animais provocando mudanças nas propriedades hematológicas dos animais. Ainda de acordo com estes autores, a presença deste material na corrente sanguínea causa problema como peroxidação lipídica, distúrbios metabólicos e reações inflamatórias.

Os resultados do estudo leucocitário das tilápias alimentadas com polipropileno estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem total de leucócitos, trombócitos, monócitos, linfócitos, neutrófilos das tilápias tratadas com o polipropileno.

Tratamento ³	Leucócitos Totais (μ L)	Trombócitos (μ L)	Monócitos (μ L)	Linfócitos (μ L)	Neutrófilos (μ L)
Controle	41747,95 \pm 2699,82 ^B	40502,04 \pm 2448,73 ^B	1995,89 \pm 277,26	34665,04 \pm 2438,33 ^B	5087,01 \pm 608,27
T100 µg	47512,18 \pm 2784,26 ^B	41237,81 \pm 2088,99 ^B	2203,78 \pm 193,07	38282,67 \pm 1965,07 ^B	5157,24 \pm 512,81
T500 µg	59291,77 \pm 3117,22 ^A	52858,22 \pm 2842,20 ^A	1932,57 \pm 288,65	51091,06 \pm 2825,60 ^A	6060,41 \pm 807,57
Valor P	0,003***	0,010***	0,777	0,001***	0,627
Valor F	6,47	5,00	0,25	8,29	0,47

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher ($P < 0,01 - 0,05 - 0,10$)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas comparam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com 100µg de Polipropileno; 500µg - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para $P < 0,10$; **significativo para $P < 0,05$; ***Significativo para $P < 0,01$.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

Os leucócitos são células brancas responsáveis pela defesa do organismo contra agente invasores e infecções (BARARDI et. al. 2010). Quando comparados os grupos que receberam o tratamento com microplástico de polipropileno com o grupo controle observou-se aumento significativo ($P < 0,01$) no número circulante de leucócitos totais em animais alimentados com 500 μg de microplástico de polipropileno Tabela 4. Estes achados foram fortemente influenciados pelo aumento significativo ($P < 0,01$) de linfócitos Tabela 4.

Para Barardi et. al. (2010), os linfócitos são células de defesa com papel central no sistema imune dos peixes, auxiliando na coordenação da imunidade inata e adaptativa. O aumento dos leucócitos nas tilápias expostas ao polímero sugere a ocorrência de alterações inflamatórias pela ação lesiva do polipropileno no organismo dos peixes.

Nos peixes os trombócitos participam dos mecanismos de defesa e auxiliam o processo de coagulação sanguínea, participando dos processos de cicatrização e reparação tecidual (BARARDI et. al. 2010). O aumento significativo ($P < 0,01$) na contagem de trombócitos em tilápias alimentadas com 500 μg de microplástico de polipropileno Tabela 4, corroboram a hipótese de alterações inflamatórias decorrentes da presença do polímero. Bhagat et. al. (2020) associam lesões no intestino da *Sparus aurata* com a presença dos nanoplástico de polimetilmetacrilato (NPs-PMMA). A concentração de 1000 e 10000 $\mu\text{g/L}$ pode ocasionar efeitos diretamente ao sistema imune do peixe.

Não se observou variações significativas nas contagens de monócitos e neutrófilos, respectivamente em tilápias alimentadas com polipropileno Tabela 4. Ambos os tipos de células apresentam grande importância na imunidade inata, sendo os neutrófilos associados principalmente em reações agudas e os monócitos/macrófagos associados às respostas crônicas (ARACATI et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2021; COSTA et al., 2022).

O contato com microplástico de polietileno aumentou significativamente a respostas imunes em *Dario rerio* adulto que receberam 1000 $\mu\text{g/L}$ e 100 $\mu\text{g/L}$, incluindo tanto os níveis de lisozima associado às contagens de neutrófilos (LIMONTA et. al. 2019). Tilápias, *O. niloticus*, expostas a microplásticos apresentaram aumento do número de neutrófilos após exposição de 10000 $\mu\text{g/L}$ e 100000 $\mu\text{g/L}$ do microplástico na água (HAMED et. al., 2019).

A exposição ao polipropileno resultou em aumento significativo da atividade sérico enzimática de ALT e AST nas tilápias Tabela 5. E aumento não significativo na atividade da enzima fosfatase alcalina. De acordo com Kim e Kang (2016) AST, ALT, FA são componentes enzimáticos usados como indicadores de citotoxicidade hepática nos peixes.

Tabela 5 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na atividade enzimática de AST, ALT, FA das tilápias tratadas com o polipropileno.

Tratamento ³	ALT (U/L)	FA (U/L)	AST (U/L)
Controle	8,50 \pm 0,88 ^B	22,68 \pm 2,39	89,80 \pm 3,67 ^C
T100 μ g	11,13 \pm 0,30 ^B	25,79 \pm 6,44	154,38 \pm 4,12 ^B
T500 μ g	19,90 \pm 0,81 ^A	29,40 \pm 1,00	226,93 \pm 12,23 ^A
Valor P	0,001***	0,300	0,001***
Valor F	3,14	1,56	18,05

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher (P<0,01 - 0,05 - 0,10)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas comparam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com 100 μ g de Polipropileno; 500 μ g - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para P<0,10; **significativo para P<0,05; ***Significativo para P<0,01.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

O aumento observado nos grupos que receberam 500 μ g de microplástico de polipropileno para os parâmetros AST e ALT Tabela 5 indica danos as membranas celulares dos hepatócitos, confirmando os achados descritos por Kavitha et al. (2012) em *Cyprinus carpio*. Hamed et. al. (2019) observaram o mesmo aumento significativo em tilápias, *O. niloticus*, quando expostas em aquários com dosagem de 10000 e 100000 μ g/L. Banaee et. al. (2019) também relataram o mesmo aumento dos parâmetros ALT e FA em *C. carpio* após contato com microplástico de polietileno a dosagem de 250 e 500 μ g/L o autor complementa relacionando a causa do aumento por danos sofridos a mitocôndrias e membranas celulares. Haghi e Banaee (2017) demonstraram aumento significativo de ALT em *C. carpio* após o contato destes animais com microplástico (MP) nas dosagens de 1000 μ g/L e 2000 μ g/L.

Wen et al. (2018) apresentaram um relato de aumento significativo para FA na espécie *Symphysodon aequifasciatus* após exposição a microplástico de polietileno na dosagem de 25000 μ g/L, sugerindo a ocorrência de danos hepáticos nestes animais. Entretanto, não se observou aumento significativo na

atividade enzimática de FA em tilápias alimentadas com dieta contendo polipropileno. Em contra partida, Brandts et al. (2020) observaram diminuição nos níveis de glicose, colesterol, AST, ALT e FA em *Sparus aurata* quando expostos a microplásticos de PMMA (polimetilmetacrilato) na dosagem de 10000 µg/L.

Os danos causados nas membranas celulares dos hepatócitos com extravasamento de AST e ALT, podem causar distúrbios hormonais e na funcionalidade metabólica dos peixes (Kim et al., 2021), ocasionado alterações nos valores circulantes de glicose, colesterol e triglicerídeos. Foram avaliados neste estudo os níveis séricos de proteína total, glicose, colesterol, triglicerídeos, albumina e creatinina das tilápias *O. niloticus* expostas ao consumo de microplástico de polipropileno Tabela 6. Para Roda et al. (2020) os níveis circulantes de glicose dos animais são mantidos por meio da homeostase, assim existe um equilíbrio da produção da glicose e o armazenamento do glicogênio como fonte de energia. A glicemia observa a quantidade de glicose presente na corrente sanguínea de um indivíduo e pode ser provocada por diversos fatores (GOMES et. al. 2017). Quando comparados os grupos que receberam o tratamento com microplástico de polipropileno não revelou-se diferenças estatística ($P>0,10$) após os 30 dias da dieta, conforme Tabela 6.

Tabela 6 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na atividade enzimática de, albumina, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais, creatina, glicemia das tilápias tratadas com o polipropileno.

Tratamento ³	Albumina (g/dL)	Colesterol (g/dL)	Glicemia (mg/dL)
Controle	1,19 \pm 0,07	114,33 \pm 8,27 ^B	56,23 \pm 1,49
T100 µg	1,38 \pm 0,09	117,41 \pm 9,80 ^B	55,50 \pm 2,82
T500 µg	1,25 \pm 0,06	147,93 \pm 7,93 ^A	62,05 \pm 3,75
Valor P	0,430	0,019**	0,44
Valor F	0,84	4,56	0,84

Tratamento ³	Triglicerídeos (pg)	Proteínas Totais (g/dL)	Creatina (mg/dL)
Controle	77,20 \pm 11,73	2,79 \pm 0,18	0,89 \pm 0,03 ^A
T100 µg	72,63 \pm 7,84	2,74 \pm 0,13	0,76 \pm 0,04 ^{AB}
T500 µg	108,26 \pm 9,90	3,07 \pm 0,13	0,63 \pm 0,04 ^B
Valor P	0,364	0,502	0,100*
Valor F	1,05	0,70	1,39

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher ($P<0,01 - 0,05 - 0,10$)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas comparam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com 100µg de Polipropileno; 500µg - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para $P<0,10$; **significativo para $P<0,05$; ***Significativo para $P<0,01$.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

Hamed et al. (2019) descreveram aumento significativo da glicemia de tilápias expostos a aquários com dosagem de 10000 µg/L e 100000 µg/L de microplástico. Diferentemente, deste estudo, em que as tilápias que receberam 100 µg e 500 µg de microplástico de polipropileno na dieta não demonstraram diferenças significativas nos valores séricos de glicose. Banaee et al. (2019) verificaram o aumento da glicemia, colesterol e proteínas totais em *Cyprinus carpio* após após contato com microplástico de polietileno nas dosagens de 250 µg/L e 500 µg/L.

Os níveis séricos de colesterol podem estar associados a problemas metabólicos e danos no fígado dos animais. (SLHESSARENKO, 2018; KIM et al., 2021). Tilápias alimentadas com 500 µg microplástico de polipropileno apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) nos valores séricos deste lipídeo Tabela 6. Para Brandts et al. (2020), o colesterol é uma das fontes de energia essencial do organismo do animal como também das membranas celulares e vias de sinalização e do reconhecimento celular. Kim et al. (2021) sugerem que os microplásticos (MPs) podem inibir enzimas fundamentais do metabolismo lipídico, provocando o aumento do mesmo na corrente sanguínea.

Brandts et al. (2020) descreveram um aumento significativo do colesterol na espécie *Sparus aurata* quando exposta a microplástico de PMMA (polimetilmetacrilato) na dose de 10000 µg/L levando assim o animal a problemas nutricionais severos. Karami et al. (2016) apontam a importância do fígado como órgão responsável pela metabolização dos lipídeos e relatam como o MPs podem afetar seu funcionamento. Com relação aos dados apresentados por estes autores houve um declínio significativo do colesterol na espécie *C. gariepinus* quando colocados em contato com a microplástico polietileno na concentração de 500 µg/L.

Os triglicerídeos são lipídeos essenciais para manutenção do organismo e podem ser usados como fonte de energia (SLHESSARENKO, 2018). Quando comparados os grupos que receberam o tratamento com microplástico de polipropileno não se observou diferenças estatísticas ($P > 0,10$) após os 30 dias de dieta com este polímero Tabela 6. Banaee et al. (2019) observaram que os microplásticos (MPs) provocaram aumento nos níveis séricos de triglicerídeos em *Cyprinus carpio*.

Creatinina é um parâmetro que permite analisar o funcionamento dos rins (FISCHER, 2021). Quando comparados os grupos que receberam o tratamento com microplástico de polipropileno revelou-se diferenças estatística ($P < 0,10$) após os 30 dias de dieta, com diminuição significativa dos níveis de creatinina nos peixes tratados com 500 μg de microplástico de polipropileno Tabela 6.

Os valores de proteínas totais e albumina Tabela 6 revelaram diferenças estatísticas ($P > 0,10$) após os 30 dias de dieta com os tratamentos de 100 e 500 μg de microplástico de polipropileno, corroborando os achados de Espinosa et al. (2017) que não verificaram mudanças nos níveis de proteínas totais em *S. aurata* após 30 dias de exposição a microplástico de PVC (policloreto de vinila) na dose de 500 mg/kg, indicando normalidade no equilíbrio osmótico nos peixes após 30 dias de exposição a microplástico de PVC (policloreto de vinila). Por outro lado, Karami et al. (2016) constataram aumento das proteínas totais em *C. gariepinus* após a exposição a 500 $\mu\text{g/L}$ de polietileno de baixa densidade. Hamed et al. (2019) observaram aumento significativo das proteínas totais em *O. niloticus* após contato com dosagem de 10000 $\mu\text{g/L}$ e 100000 $\mu\text{g/L}$ de microplástico na água dos aquários.

Diversos fatores podem provocar o aumento ou diminuição das proteínas totais na corrente sanguínea em animais, estudos apontam é que o microplásticos (MPs) presente diretamente na dieta de um peixe ou de água doce ou marinha pode interromper processos importantes como a síntese de novas proteínas e até outras funções importantes das células (YONG et al. 2020; KIM et al. 2021).

O estudo somático dos órgãos revelou aumento significativo dos índices somáticos do coração, fígado e estômago de tilápias expostas ao microplástico de polipropileno Tabela 7. Não se observou variações significativas nos índices somáticos do baço, cérebro, brânquias, rim cranial e caudal Tabela 7. Lu et. al. (2022) relataram aumento do índice hepatossomático como também o tamanho dos hepatócitos e o nível de glicogênio hepático em perca amarela (*Perca flavescen*) expostas a polietileno de alta densidade (HDPE) em concentrações de 100 a 125 μm .

Tabela 7 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados no índice somático do baço, coração, fígado e estômago, rim caudal, rim cranial, brânquias e cérebro das tilápias tratadas com o polipropileno.

Tratamento ³	Baço (%)	Coração (%)	Fígado (%)	Estômago (%)
Controle	0,025 \pm 0,0022	0,030 \pm 0,002 ^B	0,350 \pm 0,034 ^B	0,131 \pm 0,008 ^B
T100 μ g	0,028 \pm 0,0028	0,043 \pm 0,003 ^{AB}	0,471 \pm 0,028 ^{AB}	0,179 \pm 0,013 ^A
T500 μ g	0,030 \pm 0,0023	0,060 \pm 0,006 ^A	0,520 \pm 0,059 ^A	0,161 \pm 0,010 ^{AB}
Valor P	0,562	0,050**	0,093*	0,077*
Valor F	0,58	3,09	2,48	2,68
Tratamento ³	Rim Caudal (%)	Rim Cranial (%)	Brânquias (%)	Cérebro (%)
Controle	0,062 \pm 0,005	0,077 \pm 0,008	0,086 \pm 0,006	0,092 \pm 0,005
T100 μ g	0,074 \pm 0,006	0,077 \pm 0,007	0,105 \pm 0,008	0,094 \pm 0,005
T500 μ g	0,059 \pm 0,006	0,071 \pm 0,007	0,095 \pm 0,006	0,100 \pm 0,004
Valor P	0,395	0,870	0,0327	0,700
Valor F	0,94	0,14	1,14	0,36

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher (P<0,01 - 0,05 - 0,10)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas comparam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com 100 μ g de Polipropileno; 500 μ g - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para P<0,10; **significativo para P<0,05; ***Significativo para P<0,01.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

O aumento somático do fígado em tilápias expostas ao microplástico de polipropileno corrobora os achados de aumento de ALT e AST, bem como de aumento do número de leucócitos circulantes, confirmando a hipótese de distúrbios inflamatórios resultados da exposição crônica ao polímero. Resultados de alterações hepáticas decorrentes de exposição a diferentes tipos de polímeros foram descritos por diversos autores (KIM; KANG et. al., 2016; PITT et. al. 2018; WEN et. al. 2018; UMAMAHESWARI et. al. 2020).

O índice somático dos corações das tilápias que receberam os tratamentos com o microplástico de polipropileno quando comparados entre os tratamentos revelou-se diferenças significativas apresentando um efeito dose-resposta para o aumento do índice somático do órgão Tabela 7. De acordo com Browne et al. (2008), a exposição de peixes aos microplásticos pode ainda provocar danos aos tecidos vasculares e até mesmo as atividade cardíacas. Para estes autores a presença do microplástico no organismos dos peixes induz a trombose nos animais, corroborando os achados de tilápias que além de apresentarem cardiomegalia apresentavam aumento significativo na contagem

de trobócitos circulantes. O aumento do coração da *O. niloticus* foi verificado conforme aumentou a dosagem do microplástico de polipropileno, um indicio é que o material possa estar provocando alterações circulatórias congestivas, aumentando o esforço cardíaco e resultando em hipertrofia do órgão.

Obsevou-se aumento no índice somático do estômago de animais alimentados com microplástico polipropileno na dieta, sendo estatisticamente superior quando comparado animais alimentados com 100 µg do microplástico aos peixes do grupo controle Tabela 7. O aumento deste órgão sugere a ocorrência de alterações inflamatórias, resultando em extravasamento de líquidos e formação edema pela ação lesiva exercida pelo microplástico, corroborando observações descritas por BRATE et al. (2016), LIBOIRON et al. (2016), AZAD et al. (2018) e SILVA et al. (2022).

O índice somático do baço, brânquia, cérebro, rim caudal e cranial não apresentaram alterações significativas Tabela 7, após os 30 dias de alimentação com 100 e 500 µg do microplástico de polipropileno quando comparado aos animais controles. Bem como alterações branquiais, possivelmente devido a exposição ter sido realizada por via digestória e não respiratória na água dos aquários.

A ausência de alterações nos rins, no baço, no cérebro e brânquias sugerem a hipótese de baixa absorção do microplástico no intestino, assim sendo as alterações observadas estariam relacionadas a presença lesivo do mesmo no trato gastrintestinal das tilápias, comprometendo o estômago e o sistema porta-hepático, e conseqüentemente a circulação de retorno venoso para o coração, possivelmente associados distúrbios inflamatórios decorrentes da presença do polímero.

Para aumentar a compreensão dos impactos causados pela presença do microplástico no trato gastrintestinal das tilápias foi realizada a análise da microbiota presente no intestino delgado. Os resultados das contagens de mesófilos aeróbios e microrganismos Gram negativos estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores médios (\pm SD) e ANOVA observados na contagem de mesófilos e bactérias Gram negativas presentes no intestino das tilápias tratadas com o polipropileno.

Tratamento ³	Mesófilos	Gram Negativas
Controle	11,92 \pm 0,02 ^A	8,27 \pm 0,47 ^C
T100 μ g	10,62 \pm 0,04 ^B	9,84 \pm 0,14 ^B
T500 μ g	10,23 \pm 0,02 ^C	10,86 \pm 0,02 ^A
Valor P	0,001 ^{***}	0,001 ^{***}
Valor F	794,69	21,31

¹Médias (n=10) seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Fisher (P<0,01 - 0,05 - 0,10)

²Análise de variância estatística representada por letras maiúsculas comparam na coluna os diferentes tratamentos

³Tratamento com 100 μ g de Polipropileno; 500 μ g - Controle - animais não tratado com Polipropileno

*significativo para P<0,10; **significativo para P<0,05; ***Significativo para P<0,01.

Fonte: Próprio Autor, 2022.

Os mesófilos são microrganismos que conseguem se desenvolver em um ambiente com temperatura entre 20 °C e 40 °C (NASCIMENTO, 2010). O estudo da microbiota intestinal das tilápias-do-Nilo demonstrou disbiose da microbiota intestinal com a diminuição de microrganismos aeróbios mesófilos e aumento de microrganismos Gram-negativos em animais tratados com o polímero, sendo estes achados mais significativos em animais alimentados com 500 μ g do microplástico de polipropileno (Figura 19).

Hou et al. (2022) relataram que o partículas de poliestireno (PS-MPs) de 1 μ m e 1000 μ g/L em peixinho raros (*Gobiocypris rarus*) em um período de 14 e 28 dias, observando com seu estudo inflamação intestinal, estresse oxidativo, com 28 dias a análise intestinal já apresentava aumentos significativos das *Proteobacteria* (Gram-negativas) e diminuição das *Actinobacteria* (Gram-positiva), sugerindo a disbiose da microbiota.

Medriano e Bae (2022) observaram aumento significativo de *Fusobacteria* e *Proteobacteria* (Gram Negativas), e a diminuição significativa *Firmicutes* (Gram-positiva) em peixe-zebra (*Danio rerio*) expostos a microplásticos de polietileno (PE) e microplástico de poliéster (PES), além de vários outros distúrbios metabólicos.

Xie et al. (2021) constararam em seu estudo com peixe-zebra (*Danio rerio*) a diminuição de *Firmicutes* (Gram Positiva) e *Verrucomicrobiota* (Gram-positiva) no intestino depois 21 dias exposto a 1000 μ g/L de microplásticos (MPs) e nanoplásticos (NPs). Entretanto, gêneros de *Actinobacteria* (Gram-positiva)

diminuiu em contato com microplásticos (MPs), mas aumentou em contato com nanoplásticos (NPs). Vale destacar no estudo destes autores que ocorreu também aumento significativo de bactérias do gênero *Aeromonas* (Gram-negativas) nos dois tratamentos microplásticos (MPs) e nanoplásticos (NPs).

Marana et al. (2022) relataram que peixe-zebra (*Danio rerio*) expostos a partículas de poliestireno de 500 nm apresentaram disbiose da microbiota intestinal, inflamação e distúrbios metabólicos. Zhang et. al. (2021) em seu estudo com *Oryzias melastigma* expostos a microplástico de poliestireno (PS-MPs) 10000 µg/L por 60 dias, relataram que houve alterações na diversidade e composição microbiana do intestino com aumento do filo *Verrucomicrobia* e relação *Firmicutes/Bacteroidetes* (Gram-negativas), bem como diminuição de *Fusobacteria* (Gram-negativas).

Montero et al. (2022) descreveram em seu estudo com Juvenis de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) alimentados por um período 60 dias com rações compostas por microplásticos de polipropileno (PP), alterações na composição bacteriana da microbiota intestinal, tendo como consequência a diminuição de bactérias benéficas do ácido láctico e o aumento de microrganismos patogênicos (*Proteobacteria* e *Vibrionales*).

De acordo com Belo e Charlie-Silva (2021), alterações na imunidade de trato gastrointestinal podem resultar em variações significativas dos microrganismos presentes no intestino, favorecendo determinados grupos de microrganismos em detrimento a outros. Tilápias tratadas com 500 µg do polipropileno foram positivas para a presença de *Salmonella* spp., *Proteus vulgaris*, *Bacteroides* spp. e *Aeromonas* spp. que são microrganismos Gram-negativos, além de serem negativas ao crescimento de microrganismos Gram-positivos como *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. e *Lactobacillus* spp. Tabela 9. Estas alterações comprometem a funcionalidade do trato gastrointestinal, resultando em alterações do processo digestivo e na saúde dos peixes.

Tabela 9 - Microrganismos observados na contagem de bactérias Gram negativas presentes no intestino das tilápias tratadas com o polipropileno.

Espécies bacterianas	Tratamentos		
	100 µg	500 µg	Controle
<i>Escherichia coli</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>Salmonella spp</i>	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Pseudomonas spp</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>Proteus vulgaris</i>	Negativo	Positivo	Negativo
<i>Bacteroides spp</i>	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Aeromonas spp</i>	Negativo	Positivo	Negativo
<i>Staphylococcus spp</i>	Negativo	Negativo	Positivo
<i>Micrococcus spp</i>	Positivo	Negativo	Positivo
<i>Bacillus spp</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>Lactobacillus spp</i>	Positivo	Negativo	Positivo

Fonte: Próprio Autor, 2022.

Os peixes são fontes primordiais de alimentação, sendo que a *O. niloticus* tem um lugar de destaque na economia brasileira. Nesse sentido, a presença de microrganismo como *Salmonella spp* torna-se preocupante, pois, pode ser patogênicos aos seres humanos (MELLO, 2008).

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a presença do microplástico de polipropileno na dieta da tilápia-do-nilo provocou efeitos deletérios na saúde dos peixes entre os impactos diretos provocado pelo material na saúde das tilápias-do-nilo são, processos inflamatórios apresentado pelo parâmetro leucograma, danos hepáticos, renal e cardíaco apresentados pelos parâmetros bioquímicos e a avaliação do índice somáticos dos órgãos, como também disbiose da análise microbiológica do material intestinal.

Os microplásticos continuaram sendo um problema ambiental relevante, pouco se sabe sobre seus efeitos diretos no organismo dos peixes como a relação entre o tamanho do microplástico e os efeitos diretos as análises de hemograma, e como o tipo de microplástico pode interferir na microbiota intestinal e os efeitos metabólicos provocados pelo material.

REFERÊNCIAS

- ACAR, U.; INANAN, B. E.; ZEMHERI, F.; KESBIÇ, O. S.; YILMAZ, S. Exposição aguda ao boro em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): concentração letal mediana (LC 50), parâmetros sanguíneos, fragmentação de DNA de células sanguíneas e espermáticas. **Quimiosfera**. V. 213, p. 345-350, 2018. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.063. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.063>. Acesso em: 19/12/2022.
- ARACATI, M. F.; RODRIGUES, L. F.; OLIVEIRA, S. L.; MORAES, A. C.; PRADO, E. J. R.; FERNANDES, D. C.; ETO, S. F.; SILVA, I. C.; BELO, M. A. A. Clinical safety of zafirlukast treatment during acute inflammatory reaction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **ARS VETERINÁRIA** Jaboticabal, v. 37, p. 67-73, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2021v37n2p67-73>. Disponível em: <http://arsveterinaria.org.br/ars/article/view/1400>. Acesso em: 07/12/2022.
- AZAD, S. M. O.; TOWATANA, P.; PRADIT, S.; PATRICIA, B. G.; HUE, H. T. T.; JUALAONG, S.. First evidence of existence of microplastics in stomach of some commercial fishes in the lower gulf of Thailand. **APPLIED ECOLOGY AND ENVIRONMENTAL RESEARCH** 16(6), 7345-7360, 2018. DOI: 10.15666/aeer/1606_73457360. Disponível em: https://aloki.hu/pdf/1606_73457360.pdf. Acesso em: 20/03/2022.
- BADREY, A. A.; OSMAN, A.; FARRAG, M. S.; TOUTOU, M. MM.; MOUSTAFA, M. A.; Influências de dietas suplementadas com casca de romã na hematologia, bioquímica sanguínea e estado imunológico em monossexuais de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**. V. 23:2, P. 133-144, 2019. DOI: 10.21608/EJABF.2019.33559. Disponível em: https://ejabf.journals.ekb.eg/article_33559.html. Acesso em: 19/12/2022.
- BANAEE E, SOLTANIAN S, SUREDA A, GHOLAMHOSSEINI A, HAGHI BN, AKHLAGHI M, DERIKVANDY A. Evaluation of single and combined effects of cadmium and microplastic particles on biochemical and immunological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). **Chemosphere** 236. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.066>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.066>> Acesso em: 20/05/2022.
- BARARDI, C. R. M.; CAROBREZ, S. G.; PINTO, A. R. Imunologia. Florianópolis: **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2009. ISBN:07.007.007-7, E-book. Disponível em: <https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Imunologia.pdf>> Acesso em: 25/10/2022.
- BELO, MAA, CHARLIE-SILVA, I. Teleost Fish as an Experimental Model for Vaccine Development. In: Sunil Thomas. (Org.). Vaccine Design: Methods in Molecular Biology 2411 Methods and Protocols, Volume 2. Vaccines for Veterinary Diseases. 2ed. New York: **Springer Nature**, v.2, p. 175-194. 2021. Disponível em: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-1888-2_10. Acesso em: 14/11/2022.

BENINCÁ, C. **Biomonitoramento das lagoas estuarinas do Camacho - Jaguaruna (SC) e Santa Marta - Laguna (SC); utilizando Geophagus brasiliensis (Cichlidae)**. 2006, 112 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/3737/bonecofinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 01/08/2022.

BHAGAT, J; ZANG, L; NISHIMURA, N; SHIMADA, Y; Zebrafish: An emerging model to study microplastic and nanoplastic toxicity, **Science of the Total Environment** 728. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138707> Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138707>> Acesso em: 20/05/2022.

BRANDTS, I; BARRIA, C; MARTINS, MA; MARTINEZ, LF; BARRETO, A; Tvarijonaviciute A, Tort L, Oliveira M, Teles M Waterborne exposure of gilthead seabream (*Sparus aurata*) to polymethylmethacrylate nanoplastics causes effects at cellular and molecular level, **Journal of Hazardous Materials**. 403:123590. 2021. DOI: /10.1016/j.jhazmat.2020.123590. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123590>> Acesso em: 01/07/2022.

BRASIL, 1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura, **Ministério da Pesca e Aquicultura**, 1ed, 2014.136p.

BRÅTE, I. L. N. Plastic ingestion by Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the Norwegian coast, **Marine Pollution Bulletin** xxx (2016) xxx–xxx. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.08.034 Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.034>> Acesso em: 10/05/2022.

BROWNE MA, DISSANAYAKE A, GALLOWAY TS, LOWE DM, THOMPSON RC. Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis* (L.). **Environ Sci Technol** 42: 5026–5031, 2008. DOI: 10.1021/es800249a. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es800249a>. Acesso em: 15/10/2022.

BOERGER, C. M; LATTIN, G. L.; MOORE, S. L.; MOORE, C. J. Ingestão de plástico por peixes planctívoros no Giro Central do Pacífico Norte. **Boletim de Poluição Marinha** 60, 2010 2275–2278. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2010.08.007. Disponível em:< doi:10.1016/j.marpolbul.2010.08.007> Acesso em: 05/03/2022.

BOYD, C E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama Agriculture Experimental Station, Auburn University, Alabama. 482. 1990.

CAIXETA, D. S.; CAIXETA, F. C. FILHO, F. C. M. M. Nano e microplásticos nos ecossistemas: impactos ambientais e efeitos sobre os organismos, **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15 n.27; p.19. 2018. DOI: 10.18677/EnciBio_2018A92 Disponível em:< <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2018a/biol/nano.pdf>> Acesso em: 15/04/2022.

CAIXETA, D. S.; MORAIS, E. B. Panorama mundial de produção de plástico e estratégias de degradação, **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Jandaia-GO, v.19 n.39; p. 230 2022. DOI: 10.18677/EnciBio_2022A19 Disponível em:< <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2022a/panorama.pdf>> Acesso em: 20/04/2022.

CALLISTER JR., W. D.; RETHWISCH, D. G. Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma Introdução. **LTC**, v. 8º Edição, 201.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Salt as stress response mitigator of matrinxã Brycon cephalus during transport. *Aquaculture Research*, v.32, p. 297-304, 2001.

CARPENTER, E. J.; ANDERSON, S. J.; HARVEY, G. R.; MIKLAS, H. P.; PECK, B. B.; Esférulas de poliestireno em águas costeiras, **Science** Vol 178 , Edição 4062. p 749 – 750. 1972. DOI: 10.1126/science.178.4062.749. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.178.4062.749>. Acesso em: 20/02/2022.

CAUWENBERGHE, L. V; JANSSEN, C. R. Microplásticos em bivalves cultivados para consumo humano, **Poluição Ambiental** 193. 65e70. 2014. DOI: Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>. Acesso em: 09/03/2022.

CHEN, X; YAN, N. A.. (b). brief overview of renewable plastics. **Materials Today Sustainability**. v. 7-8, 2020. DOI: 10.1016/j.mtsust.2019.100031 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtsust.2019.100031>> Acesso em: 16/05/2022.

CHOI, D.; HWANG J.; BANG, J.; HAN, S.; KIM, T.; OH, Y.; HWANG, Y.; CHOI, J. In vitro toxicity from a physical perspective of polyethylene microplastics based on statistical curvature change analysis, **Science of the Total Environment** 752 142242. 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142242. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142242>. Acesso em: 1/04/2022.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GOODHEAR, R.; MOGER, J.; GALLOWAY, T.S. Ingestão de Microplásticos pelo Zooplâncton. **Ciência e Tecnologia Ambiental** 47 (12) 6646-6655. 2013 DOI: 10.1021/es400663f. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es400663f>. Acesso em: 05/07/2022.]

COSTA, C. C.; OLIVEIRA, S. L. ; ARACATI, M. F.; RODRIGUES, L. F.; COLTURATO, L.; MONTASSIER, H. J.; BELO, M. A. A. Clinical safety of treatment with zileuton, 5-lox inhibitor, during acute inflammatory reaction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **ARS VETERINÁRIA**, Jaboticabal, v. 38, p. 23, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2022v38n1p23-30>. Disponível em: <http://arsveterinaria.org.br/ars/article/view/1448>. Acesso em:07/12/2022.

DIGKA, N.; TSANGARIS, C. TORRE, M. ANASTASOPOULOU, A.; ZERI, C. Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea, **Marine Pollution Bulletin** 135 30–40. 2018. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2018.06.063 Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.063>. Acesso em: 17/04/2022.

DING, J.; MA, T.; CUI, M.; SHAO, R.; GUAN, R.; WANG, P. Gas phase dehydration of glycerol to acrolein over Cs_{2.5}H_{0.5}PW₁₂O₄₀/ZrMCM-41 catalysts prepared by supercritical impregnation, **Molecular Catalysis** 461. 1–9. 2018. DOI: 10.1016/j.mcat.2018.09.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.09.021>. Acesso em: 25/05/2022.

ESPINOSA, C.; CUESTA, A.; ESTEBAN, M. A. Effects of dietary polyvinylchloride microparticles on general health, immune status and expression of several genes related to stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), **Fish and Shellfish Immunology**. Volume 68, p. 251-259. 2017. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.07.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S105046481730390X>. Acesso em: 20/06/2022.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). O Estado Mundial da Pesca e Aquicultura 2022 (SOFIA). Disponível em: <https://www.fao.org/publications/sofia/2022/en/> Acessado 14 de junho de 2022.

FISCHER, A K. **Efeitos adversos do inseticida Malation sobre peixes**. Trabalho de Conclusão de Curso, INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN) BIOTECNOLOGIA. Foz do Iguaçu, 2021. Disponível em: <https://dspace.unila.edu.br/bitstream/handle/123456789/6345/Efeitos%20Adversos%20do%20Inseticida%20Malation%20sobre%20Peixes%20-%20Amanda%20Kawka%20Fischer.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10/11/2022.

FORTUNA, A. L. L. **Impactos ambientais dos plásticos: biopolímeros como alternativa para a redução do acúmulo de embalagens flexíveis de Polipropileno no meio**. Monografia (Engenharia Química) Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2020. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/12581/1/ALLFortuna.pdf> Acesso em: 16/06/2021.

FREITAS, C. E. C.; SIQUEIRA-SOUZA, F. K. O uso de peixes como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia amazônica, Departamento de Ciências Pesqueiras Universidade Federal do Amazonas - Av. Gen. Rodrigo Otávio, 3000. Manaus - Amazonas. **Revista Agrogeoambiental** 2009. Disponível em: file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/admin,+agrogeoambiental_volume_01_num_02.48-54.pdf. Acesso em: 15/07/2022.

GALLO, F.; FOSSI, C.; WEBER, R.; SANTILLO, D.; SOUSA, J.; INGRAM, I.; NADAL, A.; ROMANO, D. Marine litter plastics and microplastics and their toxic chemicals components: the need for urgent preventive measures. **Environmental Sciences Europe**, v. 30, n. 13, 2018. DOI: 10.1186/s12302-018-0139. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0139>. Acesso em: 16/06/2022.

GEDEL, Plástico. Polipropileno, 2021. Disponível em:<<https://gedelplasticos.com.br/artigos/pp-polipropileno/>> Acesso em 25/01/2022.

GEYER R.; JAMBECK J.R.; LAW K.L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Sci Adv.** Jul 19; 3(7):e1700782. 2017. DOI: 10.1126/sciadv.1700782. Disponível em: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.1700782>. Acesso: 18/04/2022.

GOMES, A.; BERGAMIN, G. T.; SILVA, T. B.; VEIVERBERG, C. A.; NEIS, A. S. K. T. Validação do glicosímetro portátil na dosagem de glicose sanguínea em peixes: resultados preliminares. **Anais do 9º salão internacional de ensino, pesquisa e extensão – siepe.** Disponível em:<https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arq_trabalhos/13536/seer_13536.pdf> Acesso em: 26/11/2022.

HAMED M, SOLIMAN HAM, OSMAN AGM, SAYDE AEDH. Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. **Chemosphere** 228:345-350. 2019. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.04.153 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.153>. Acesso em: 15/04/2022.

HAGHI, N. B.; BANAEI, M. Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. **Int. J. Environ. Sci. Technol.** 14, 521–530. 2017. DOI: 10.1007/s13762-016-1171-4 Disponível em:<https://doi.org/10.1007/s13762-016-1171-4>. Acesso em: 15/04/2022.

HOU, B.; WANG, F. LIU, T. WANG, Z. Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: In vivo experimental study on testicular toxicity in mice, **Journal of Hazardous Materials.** V. 405, 124028, 2021 Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124028>> Acesso em: 17/05/2022.

HOU, M.; XU, C.; ZOU, X.; XIA, Z.; SU, L.; QIU, N.; CAI, L.; YU, F.; WANG, Q.; ZHAO, X.; HE, Y.; WANG, C.; WANG, J. Exposição prolongada a microplásticos induz disbiose da função intestinal em peixinho raro (*Gobiocypris rarus*). **Ecotoxicol Environ.** 246:114157. 2022. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114157. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36228361/>. Acesso em: 15/11/2022.

HUANG J. N.; WEN, B.; XU, L.; MA, H. C.; LI, X. X.; GAO, J. Z.; CHEN, Z. Z. Micro/nano-plastics cause neurobehavioral toxicity in discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*): Insight from brain-gut-microbiota axis, **Journal of Hazardous Materials** 421:126830. 2022. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126830>. Acesso em: 19/02/2022.

IHEANACHO, S. C.; ODO, G. E., Neurotoxicity, oxidative stress biomarkers and haematological responses in African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to polyvinyl chloride microparticles. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 232 108741. 2020. DOI: 10.1016/j.cbpc.2020.108741. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108741>> Acesso em: 16/04/2022.

IVLEVA, N. P; WIESHEU, A. C; NIESSNER, R. Microplástico em Ecossistemas Aquáticos. **Angewandte Chemie International Edition**, 56(7), 1720-1739. 2016. DOI:10.1002/anie.201606957. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.201606957>. Acesso em: 15/04/2022.

JAKUBOWSKA, E.; GIERSZEKIST, M.; NOWACZSKI, J.; KRUSZKOWSKA, E. O. O papel de um solvente eutético profundo nas alterações das propriedades físico-químicas e antioxidantes de filmes à base de quitosana. **Polímero de Caridratos**, 255: 117527. 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117527. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117527>. Acesso em: 15/10/2022.

KARAMI, A.; ROMANO, N.; GALLOWAY, T. HAMZAH, H. Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker responses in African catfish (*Clarias gariepinus*), **Environmental Research** 151 58–70. 2016. DOI: 10.1016/j.envres.2016.07.024 Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.024>. Acesso em: 25/04/2022.

KARAMI, A.; GOLESKARDI, A.; CHOO, C. K.; LARAT, V.; GALLOWAY, T.; SALAMANITIA, B. A presença de microplásticos em sais comerciais de diferentes países. Relatório Científico, 7: 46173. 2017. DOI: 10.1038/srep46173. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep46173>. Acesso em: 15/08/2022.

KAVITHA, C.; RAMESH, M.; KUMARAN, S. S.; LAKSHMI, S. A. Toxicidade do extrato da semente de *Moringa oleifera* em alguns perfis hematológicos e bioquímicos em um peixe de água doce, *Cyprinus carpio*. **Patologia Experimental e Toxicológica**. V 64, edições 7–8, p. 681-687, 2012. DOI: 10.1016/j.etp.2011.01.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.01.001>. Acesso em: 05/01/2022.

KIM, JH.; KANG, JC. The chromium accumulation and its physiological effects in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*, exposed to different levels of dietary chromium (Cr6+) concentrations, **Environmental Toxicology and Pharmacology** 41, 152–158. 2016. DOI: 10.1016/j.etap.2015.12.001 Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.12.001>. Acesso em 20/06/2022.

KIM, JH.; SOHN, S.; KIM, S. K.; HUR, O. J. Effects on hematological parameters, antioxidant and immune responses, AChE, and stress indicators of olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater challenged by *Edwardsiella tarda*, **Fish and Shellfish Immunology**, Volume 97, p. 194-203, 2020. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.12.011. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.011>> Acesso em: 25/05/2022.

KIM, JH; YU, Y. B.; CHOI, J. H. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review, **Journal of Hazardous Materials** 413, 125423. 2021. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125423 Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125423>> Acesso em: 15/04/2022.

LIBOIRON, M.; LIBOIRON, F. WELLS, E. RICHARD, N.; ZAHARA, A. MATHER, C. BRADSHAW, H. MURICHI, J. Low plastic ingestion rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland destined for human consumption collected through citizen science methods, **Marine Pollution Bulletin** xxx, xxx–xxx. 2016. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.10.043. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.043>. Acesso em: 06/05/2022.

LIMONTA, G. MANCIA, A.; BENKHALQUI, A.; BERTOLUCCI, C. ABELLI, L. FOSSI, M. C. PANTI, C. Microplásticos induzem alterações transcricionais, resposta imune e alterações comportamentais em peixes-zebra adultos. **Sci. Rep** 9, 15775. 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-52292-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52292-5>. Acesso 26/06/2022.

LU, X.; DENG, D. F.; HUANG, F.; CASU, F.; KRACO, E.; NEWTON, R. J.; ZONH, F.; TEH, S. J.; WATSON, A. M.; SHEPHERD, B.; MA, Y. DAWOOD, M. A.; MENDOZA, L. M. R. A exposição crônica ao microplástico de polietileno de alta densidade através da alimentação altera o metabolismo de nutrientes de juvenis de perca amarela (*Perca flavescens*). **Anim Nutr.**;9:143-158. 2022 doi: 10.1016/j.aninu.2022.01.007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35573095/>. Acesso em: 05/11/2022.

MARANA M. H.; POULSEN R.; THORMAR E. A., CLAUSEN C. G., THIT A., MATHIESSEN H., JAAFAR R., KORBUT R., HANSEN A. M. B., HANSEN M., LIMBORG M. T., SYBERG K., JØRGENSEN L. VG. Nanopartículas de plástico causam inflamação leve, interrompem as vias metabólicas, alteram a microbiota intestinal e afetam a reprodução no peixe-zebra: um estudo multi-ômico de geração completa. **J Hazard Mater.** 424:127705. 2022 DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127705. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34802818/>. Acesso em: 14/11/2022.

MANRICH, S. **Processamento de termoplásticos**. 1 ed, São Paulo: Artiber Editora, 2005. 431 p.

MEDRIANO, C. A.; BAE, S. Exposição aguda a microplásticos induz distúrbios metabólicos e disbiose intestinal em peixe-zebra adulto (*Danio rerio*). **Ecotoxicol Environ** 245:114125. 2022. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114125. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36183426/>. Acesso em: 15/11/2022.

MELLO, C. A. **Qualidade microbiológica do Brycon microlepis (piraputanga) capturado na bacia do rio cuiabá e de cultivo no estado do mato grosso**. Tese (Pós-graduação em Ciência Veterinária), Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/5385>. Acesso em: 10/11/2022.

MINITAB Inc. **Statistical software data analysis software**. Version 18.1, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. Brasília MS, 2022. E-book. Disponível em: <http://www.tce.ms.gov.br/portal->

modernizacao/assets/downloads/cartilha-ods/cartilha-ods-15-09-18.pdf. Acesso em: 19/12/2022.

MIRANDA, D. A.; CARVALHO-SOUZA, G. F. Presença de pellets plásticos em conteúdos estomacais de peixes desembarcados na costa de Salvador, Bahia, Brasil, **XIV Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar – XIV COLACMAR** Balneário Camboriú (SC / Brasil), 2011. Disponível em:< <http://www.globalgarbage.org/praiadownloads/XIV-COLACMAR-2011/1648.pdf>> Acesso em: 21/03/2021.

MIZOGUCHI, I. H. **Os desafios do plástico e cenários para o futuro**, Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Econômicas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2019. Disponível em:< <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/198027/001098943.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 20/04/2021.

MONTAGNERA, C. C.; DIASA, M. A., PAIVAA, E. M.; VIDALA, C. Microplásticos: ocorrência ambiental e desafios analíticos. **Química Nova**, Vol. 44, No. 10, 1328-1352, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170791>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170791>. Acesso em: 15/10/2022.

MONTERO, D.; RIMOLDI, S.; TORRECILLAS, S.; RAPP, J.; MORONI, F.; HERRERA, A. GOMEZ, M.; MONTERO, A. F.; TEROVA, G. Impacto de microplásticos de polipropileno e poluentes químicos na Microbiota intestinal e saúde do robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), **Ciência do Meio Ambiente Total** 805, 150402. 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150402. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150402>> Acesso em: 04/05/2022.

NASCIMENTO, J. S. **Biologia de Microrganismos**. Universidade Federal da Paraíba. Ebook. Disponível em:< http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf> Acesso em: 20/08/2022.

NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A new blood diluents for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v. 31, p. 735-738, 1952.

OMNEXUS. **Guia Completo sobre Polipropileno (PP)**, EBook. Disponível em:< <https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polypropylene-pp-plastic>> Acesso em: 25/02/2022.

OLIVATTO G. P., CARREIRA, R.; TORNISIELO, V. L.; MONTAGNER, C. C. Microplásticos: Contaminantes de Preocupação Global no Antropoceno. **Revista Virtual da Química**, 10 (6), 1968-1989, 2018. Disponível em:< <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v10n6a16.pdf>> Acesso em: 21/03/2021.

PASSATORE, C. R. **Química dos Polímeros**. SÃO PAULO - 1º Semestre 2013. Ebook. Etec Tiquatira – SP. Disponível em: <https://docplayer.com.br/21110603-Quimica-dos-polimeros.html>. Acesso em: 15/08/2022.

PLASTICEUROPE, **Plastic – The facts 2020**, Ebook. Disponível em:<<https://plasticseurope.org/>> Acesso em: 25/02/2022.

PLASTICEUROPE, **Plastic – The facts 2021**, Ebook. Disponível em:<<https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2021/12/Plastics-the-Facts-2021-web-final.pdf>> Acesso em: 05/10/2022.

PEIXEBR, **Anuario 2022: Peixe BR da Piscicultura (Peixe BR)**. Ebook. Disponível em:< <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>> Acesso em: 20/08/2022.

PEREIRA, A. O. K.; CALGARO C.; PEREIRA, H. M. K., **O consumo na sociedade moderna: consequências jurídicas e ambientais**, Caxias do Sul, RS, Educ. ISBN 978-85-7061-808-5. 2016. Ebook. Disponível em: <https://www.ucs.br/educs/livro/consumo-na-sociedade-moderna-consequencias-juridicas-e-ambientais/>. Acesso em: 01/11/2022.

PETRY, A. **Mercado brasileiro de polímeros com ênfase no setor automobilístico**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/36895/000793010.pdf>. Acesso em: 05/03/2021.

PITT, J. A.; KOSAL, J. S.; JAYASUNDARA, N.; MASSARSKY, A.; TREVISAN, R. GEITNER, N.; WIESNER, M.; LEVIN, E. D.; DI GIULIO, R. T. Uptake, tissue distribution, and toxicity of polystyrene nanoparticles in developing zebrafish (*Danio rerio*), **Aquatic Toxicology** 194:185–194. 2018. DOI: 10.1016/j.aquatox.2017.11.017. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.017>. Acesso em: 20/04/2022.

PORRI, L. Os Anos 1954-1963 no Politécnico de Milão, **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 19, nº 3, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/f5gW65fzyfhK4n65jrMNx3f/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 15/03/2021.

PRAVEENA M., SANDEEP V., KAVITHA N. JAYANTHA Rao K. **Impact of Tannery Effluent, Chromium on Hematological Parameters in a Fresh Water Fish, Labeo Rohita (Hamilton)**, Division of Toxicology, Department of Zoology, Sri Venkateswara University, Tirupati -517 502, AP, INDIA. Ebook. Disponível em:ISSN 2320 – 6535. Acesso em: 17/04/2022.

REGINATO, A. S., **Modelagem e simulação dos Reatores de polimerização em fase líquida do processo Spheripol**, Dissertação (Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2001. Disponível em:<<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/3317/000336021.pdf>> Acesso em: 05/06/2021.

RODA, J. F. B.; LAUER, M. M.; RISSO, W. E.; MARTINEZ, C. B. R. Microplastics and copper effects on the neotropical teleost *Prochilodus lineatus*: Is there any interaction?, **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A 242,110659.

2020. DOI: 10.1016/j.cbpa.2020.110659. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110659>. Acesso em: 17/05/2022.

SÁ, L. C. G. **Efeitos do Microplástico na Função Predatória e no Estado de Saúde de Juvenis do Góbio Comum (*Pomatoschistus micros*)**, Universidade de Porto – Portugal 2013. Ebook. Disponível em: <http://www.ijup.up.pt/2013/DOCS/poster.pdf>. Acesso em: 15/06/2022.

SANTANA, L.M.B.M. A toxicidade dos microplásticos de polietileno e nanoargilas em peixes chatos (*Solea senegalensis*) ser influenciado pela presença de uns aos outros. **Ciência do Meio Ambiente Total**. 804. 150188. 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150188 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150188>. Acesso em: 25/03/2022.

SANTOS, A. F., **Química dos Polímeros**. Tese (Química) Universidade Estadual São Paulo. 2010. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3133/tde-05082011-141252/publico/Tese_Alessandra_Fernandes_Santos.pdf. Acesso em: 20/05/2021.

SANTOS, T. **Presença de Microplástico no Trato Gastrointestinal de *Astyanax lacustris* (Pisces, Characidae) na Bacia do Médio Uruguai, RS, Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Fronteira Sul Campus Cerro Largo Curso de Ciências Biológicas, CERRO LARGO 2019. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/3562/1/SANTOS.pdf>. Acesso em: 19/06/2022.

SHIM, G. J.; THHOMPOSON, Richard C. Microplásticos no Oceano, **Arch Environ Contam Toxicol**. 69:265–268. 2016. DOI 10.1007/s00244-015-0216-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-015-0216-x>. Acesso em: 15/08/2021.

SILVA, A. C. A. **Microplásticos em vários tecidos de espécies de peixes pelágicos com interesse comercial**. Dissertação (Mestrado em Ecologia Marinha) Universidade de Lisboa, departamento de biologia animal, 2020. Disponível em: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/45152/1/ulfc125957_tm_Ana_Catarina_Silva.pdf. Acesso em: 19/04/2022.

SILVA, D. C.; VIEIRA, H. A. G.; MORE, V. S. R. S.; SILVA, W. F. SOUSA, M. G.; PAULINO, M. G.; MARIANO, W. S. Contaminantes ambientais: efeitos dos microplásticos em organismos aquáticos e terrestres, **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, e54310716761, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i7.16761. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16761>. Acesso em: 15/04/2022.

SILVA, E. S. **Estudo da influência do índice de fluidez do pp homo na cinética de cristalização de blendas pp homopolímero com PP copolímero heterofásico, São Cristóvão**. Dissertação (Ciências e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Sergipe. 2017. Disponível em:

https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/7654/2/EMANUELA_SANTOS_SILVA.pdf.
Acesso em: 16/06/2021.

SILVA, M A. **Vivenciar para apreender: o meio ambiente como contexto para o ensino de Polímeros**. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de São Carlos, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/6662/6435.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 16/09/2022.

SLHESSARENKO, J. **Coração em dia: Identifique seus fatores de risco cardíaco e tenha um estilo de vida saudável**. Barueri – SP, Ebook. Novo Século Editora, 2018. ISBN: 9788542845405

OLIVATTO GP, CARREIRA R, TORNISIELO VL, MONTAGNER CC. Microplásticos: Contaminantes de Preocupação Global no Antropoceno, **Rev. Virtual Química** 10(6):1968-1989. 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180125. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180125>. Acesso em: 15/05/2022.

OLIVEIRA, M. M. D.; MENDES, M.; HANSEL, C. M.; DAMIANI, S. **Cidadania, meio ambiente e sustentabilidade**. Ebook. Caxias do Sul, RS: EducS, 2017. ISBN 978-85-7061-846-7. Disponível em: https://www.ucs.br/site/midia/arquivos/ebook-cidadani-meioamb_3.pdf Acesso em: 21/10/2022.

OLIVEIRA, S. L.; ARACATI, M. F.; RODRIGUES, L. F.; COSTA, C. C.; CONDE, G.; MORAES, A. C.; MANRIQUE, W. G.; CHARLIE-SILVA, I.; BELO, M. A. A. . Clinical safety of zafirlukast treatment during a foreign body inflammatory reaction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENT RESEARCH**, p. 47914-47919, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37118/ijdr.22149.06.2021>. Disponível em: <https://www.journalijdr.com/clinical-safety-zafirlukast-treatment-during-foreign-body-inflammatory-reaction-nile-tilapia>. Acesso em: 07/12/2022.

OSMAN, A. G. M.; ABOUELFAD, K. Y.; REHEEM, A. E. B. M. A. E.; MAHMOUD, U. M.; KLOAS, W.; MOUSTAFA M. A. Blood Biomarkers in Nile tilapia *Oreochromis niloticus niloticus* and African Catfish *Clarias gariepinus* to Evaluate Water Quality of the River Nile. **Journal of Fisheries**. Volume 12, Issue 1, 2018. Acesso em: 19/12/2022.

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F.R. **Características hematológicas da Tilapia rendalli Boulenger, 1896 (Osteichthyes: cichlidae) capturada em “pesque-pague” de ranca**, São Paulo, Brasil. *Bioscience Journal*, v.19, p.103-110, 2003.

UMAMAHESWARI, S., PRIYADARSHINEE, S., BHATTACHARJEE, M. Exposure to polystyrene microplastics induced gene modulated biological responses in zebrafish (*Danio rerio*), **Chemosphere**. 281:128592. 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128592. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128592>. Acesso em: 17/10/2022.

VASCONCELOS, Y. **Planeta plástico**. Ebook Ed. 281, Julho, 2019. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/planeta-plastico/>. Acesso em: 22/04/2021.

WEIBEL, E.R.; STAUBLI, W.; GNAGI, H.R.; HESS, F.A. **Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell**. *Journal of Cell Biology*, p.68-91, 1969.

WEN, B.; JIM, S. J.; CHEN, Z. Z.; GAO, J. Z.; LIU, Y. M.; LIU, J. H, FENG, J. Z. Single and combined effects of microplastics and cadmium on the cadmium accumulation, antioxidant defence and innate immunity of the discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*), **Environmental Pollution** 243, 462e471. 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.09.029. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.029>> Acesso em: 02/07/2022.

WRIGHT, S. L.; KELLY, F. J. Plastic and human health: a micro issue?, **Environ. Sci. Technol.** Just Accepted Manuscript; Publication Date (Web): 22 May 2017. Disponível em: <<http://pubs.acs.org>> Acesso em: 15/04/2022.

XIE, S.; ZHOU, A.; WEI, T.; LI, S.; YANG, B.; XU, G. ZOU, J.; Nanoplásticos induzem disbiose microbiana mais grave e inflamação no intestino de peixes-zebra adultos do que microplásticos. **Bull Environ Contam Toxicol.** 107(4):640-650. 2021. DOI: 10.1007/s00128-021-03348-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34379141/>. Acesso em: 12/11/2022.

YONG, C. Q. Y.; VALIYAVEETILL, S.; TANG, B. L. Toxicity of Microplastics and Nanoplastics in Mammalian Systems, **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 17, 1509. 2020. DOI: 10.3390/ijerph17051509. Disponível em: <[doi:10.3390/ijerph17051509](https://doi.org/10.3390/ijerph17051509)> acesso em: 01/07/2022.

ZHANG, X.; WEN, K.; DING, D. LIU, J.; LEI, Z.; CHEN, X.; YE, G.; ZHANG J. SHEN, H.; YAN, C.; DONG, S.; HUANG, Q.; LIN, Y. Efeitos adversos dependentes de tamanho de microplásticos na microbiota intestinal e homeostase metabólica no medaka marinho (*Oryzias melastigma*). **Environ Int**;151:106452. doi: 10.1016/j.envint.2021.106452. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33639345/>. Acesso em: 10/11/2022.

ZICA, E. O. P. **Ectoparasitos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em sistema de tanques-rede e da ictiofauna associada à piscicultura na represa de Chavantes, município de Ipaussu, São Paulo**. 2012, Tese (Ciências Biológicas) Instituto de Biociências – UNESP. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/106503/zica_eop_dr_botib.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 19/12/2022.

ZIMMERMANN, S; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. in CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva**, Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal , Brasil, SP, 2004. p.239-266.