



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS SOCIAIS E APLICADAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

THAMIRES ARAÚJO DE PONTES

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS À BASE DE CÉRIO EM *PALAEMON
PANDALIFORMIS* (CRUSTACEA, PALAEMONIDAE)**

JOÃO PESSOA

2022

THAMIRES ARAÚJO DE PONTES

EFEITO DE NANOPARTÍCULAS À BASE DE CÉRIO EM *PALAEMON PANDALIFORMIS* (CRUSTACEA, PALAEMONIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen de Oliveira

Coorientadora: Prof.^a Dra. Enelise Marcelle Amado

JOÃO PESSOA

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P814e Pontes, Thamires Araújo de.
Efeito de nanopartículas à base de cério em *Palaemon Pandaliformis* (Crustacea, Palaemonidae) [manuscrito] / Thamires Araújo de Pontes. - 2022.
33 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Elquio Eleamen de Oliveira ,
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."

"Coorientação: Profa. Dra. Enelise Marcelle Amado ,
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."

1. Crustáceo. 2. Nanopartículas de cério. 3.
Osmorregulação. I. Título

21. ed. CDD 595.3

THAMIRES ARAÚJO DE PONTES

EFEITO DE NANOPARTÍCULAS À BASE DE CÉRIO EM *PALAEMON PANDALIFORMIS*
(CRUSTACEA, PALAEMONIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

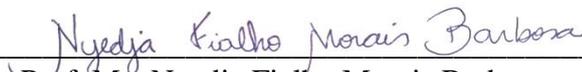
Área de concentração: Ciências Biológicas.

Aprovada em: 25/11/2022.

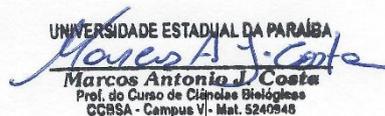
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Nyedja Fialho Morais Barbosa
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Marcos Antonio Jeronimo Costa
Prof. do Curso de Ciências Biológicas
CCBSA - Campus V - Mat. 5240948

Prof. Dr. Marcos Antonio Jeronimo Costa
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

DEDICATÓRIA:

A minha mãe, pela inspiração, exemplo de dedicação, esforço e força, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo, sem ti o que seria de mim. Agradeço primeiramente a Ele, por me permitir acreditar que seria possível a realização desse sonho, por ter me dado forças para eu não desistir de trilhar os caminhos ao longo dessa jornada. Gratidão por me manter de pé em dias difíceis. À minha família, em especial aos meus avós.

Ao meu orientador Elquio Eleamen de Oliveira, pelos ensinamentos e por acreditar no meu potencial para desenvolver esse trabalho. Obrigada por despertar em mim, o olhar crítico e científico. Pelas reuniões no laboratório e discussões que nos despertaram a procura pelo conhecimento.

À professora Enelise Marcelle Amado, coorientadora e amiga, meu eterno agradecimento por todos os ensinamentos, paciência e dedicação. Obrigada por me ajudar a realizar e desenvolver esse trabalho. Minha gratidão por sua amizade, disponibilidade, incentivo, parceria nas coletas, conversas e por todos os conselhos. A senhora é um exemplo de profissional que quero seguir, inteligente, linda por dentro e por fora. E acima de tudo “humana”. Excelente docente. Sempre solícita comigo quando mais precisei. Cuidadosa, dedicada, atenciosa. Grata pelas leituras sugeridas ao longo dessa coorientação.

A minha família, pela compreensão da minha ausência nas reuniões familiares.

À minha mãe Márcia Galdino de Araújo (*in memoriam*), embora fisicamente ausente, sentia sua presença ao meu lado, dando-me força. Um exemplo de mulher, mãe e esposa. Meu maior exemplo de vida. Quero ser como você e foi tudo por você. Te amo.

Aos professores da UEPB, em Ciências Biológicas, em especial, que contribuíram ao longo desses anos, por meio das disciplinas e debates, para o desenvolvimento desta pesquisa, meu muitíssimo obrigada por me ensinar a amar e a entender a Biologia.

Ao meu amigo Otoniel que me ajudou muito nas pesquisas, e no LEFA e sempre me convidava para participar das suas coletas. Meu ajudador e incentivador. Amo demais você, deixou a caminhada mais leve. Aos meus colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio.

Aos meus colegas do LSVM, Felipe, Camila, Marine, Rafael, Rodrigo, Silvana, Isabela pela troca de conhecimento, conselhos, amizade e discussões enriquecedoras no laboratório sobre artigos científicos.

Agradeço as técnicas do laboratório Marinalva e Alena que sempre foram prestativas e solícitas comigo durante as pesquisas.

Aos meus (as) amigos (as) que a Biologia me presenteou Aline, Izabele e Gabriel, obrigada pela troca de conhecimento ao longo do curso, pela ajuda nos trabalhos acadêmicos, e por dividir comigo os momentos de aflição até os de alegria na universidade, vocês tornaram essa jornada mais leve e divertida, gratidão a todos vocês.

E por fim, mas não menos importante agradeço ao meu marido, que me deu apoio e incentivo ao longo dessa caminhada, que me ajudou com estatística e matemática. Que em momentos de aflição me socorreu e foi meu ajudador. Te amo, e cada dia que passa tenho a certeza de que Deus reservou você para mim.

RESUMO

As nanopartículas de cério são utilizadas em produtos de uso diário, como aditivos para combustíveis e tintas. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos subletais da nCeO₂ em organismos aquáticos estão disponíveis. O cério (CeO₂) é um composto inorgânico usado em sensores eletrocromicos, revestimentos anticorrosivos e catalisadores. Os crustáceos possuem adaptações estruturais, comportamentais e fisiológicas que lhe conferem eficiência no controle osmo-iônico e resistência a eventuais compostos tóxicos liberados no meio aquático. Este trabalho teve como principal objetivo analisar o efeito tóxico de nanopartículas de cério em camarões da espécie *Palaemon pandaliformis*. Após um período de aclimatação de três dias, os animais foram submetidos a um sistema estático de exposição experimental (24 horas e 72 horas). Em três concentrações diferentes de nanopartículas de cério: 75 µg/L, 150 µg/L e 300 µg/L. Onde foram retiradas amostras da hemolinfa e músculo abdominal. Analisamos as amostras com ênfase nos seguintes parâmetros: concentração iônica da hemolinfa e o teor de hidratação tecidual. Os dados obtidos foram tratados e submetidos a análises estatísticas two way ANOVA. Os resultados demonstraram que na concentração de 75 µg/L não vemos um aumento significativo do íon cloreto (Cl⁻) no período de 24 horas, entretanto é notável o aumento na concentração de íon cloreto Cl⁻ no período de 72 horas, demonstrando que os animais tiveram sua regulação iônica afetada de acordo com o tempo de exposição. Os dados de hidratação tecidual do músculo abdominal, expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de cério, demonstraram que houve uma redução da capacidade de manutenção de volume celular, o que reflete no aumento de teor de hidratação nas concentrações mais altas e no tempo experimental de 72 horas.

Palavras-Chave: nanopartículas de cério, osmorregulação, crustáceo.

ABSTRACT

Cerium nanoparticles are used in everyday products, such as fuel and paint additives. However, few studies are available on the sublethal effects of nCeO₂ in crustacean organisms. Cerium (CeO₂) is an inorganic compound used in electrochromic sensors, anti-corrosive coatings and catalysts. Crustaceans have structural, behavioral and physiological adaptations that give them efficiency in osmo-ionic control and resistance to eventual toxic compounds released into the aquatic environment. The main objective of this article is to analyze the toxic effect of cerium nanoparticles on shrimp of the species *Palaemon pandaliformis*. After an acclimatization period of three days, the animals were submitted to a static exposure system (24 hours and 72 hours). In three different amounts of valuable nanoparticles: 75 µg/L, 150 µg/L and 300 µg/L. Where hemolymph and abdominal muscle were removed. We analyzed the samples with emphasis on the following parameters: osmolarity and ionic concentration of hemolymph and tissue hydration content. The data obtained were processed and submitted to two-way ANOVA statistical analysis. The results showed that at the concentration of 75 µg/L, we do not see a significant increase in chloride ion (Cl⁻) in the period of 24 hours, however it is notable the increase in the concentration of Cl⁻ in the period of 72 hours, the animals had their ionic regulation affected according to exposure time. The tissue hydration data of the abdominal muscle, exposed to different concentrations of cerium nanoparticles, showed that there was a reduction in the capacity to maintain cell volume, which reflects in the increase in hydration content at the highest concentrations and in the experimental time of 72 hours.

Keywords: cerium nanoparticles, osmoregulation, crustacean.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	<i>Palaemon pandaliformis</i>	18
Figura 2 –	Mapa da Área de Coleta.....	19
Figura 3 –	Esquema do ensaio in vivo de exposição às nanopartículas de cério.....	21
Figura 4 –	Foto do lado direito, do lago conectado à zona de manguezal.....	22
Figura 5 –	Foto do lado esquerdo, do lago conectado à zona de manguezal.....	23
Figura 6 –	Concentração do íon Cloreto (mM) na hemolinfa.....	24
Figura 7 –	Teor de Hidratação do músculo abdominal.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação Científica (tabela taxonômica)	18
Tabela 2 –	Tabela com dados de condições ambientais	20

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Nanopartículas	16
2.1.1	Ecotoxicologia	17
2.1.2	<i>Palaemon pandaliformis</i>	17
3	METODOLOGIA	20
4	RESULTADOS.....	24
5	DISCUSSÕES	26
6	CONCLUSÃO	27
	REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Tendo em vista a crescente utilização de nanopartículas de cério, diariamente, como no uso, por exemplo, de aditivos para combustíveis e tintas. Contudo, poucos estudos sobre os efeitos prejudiciais em organismos aquáticos estão disponíveis. O cério é um composto inorgânico usado em sensores eletrocromáticos, revestimentos anticorrosivos e catalisadores. Os crustáceos possuem adaptações estruturais, comportamentais e fisiológicas que lhe conferem eficiência no controle osmo-iônico e resistência a eventuais compostos tóxicos liberados no meio aquático. Para a análise da condição fisiológica do animal, alguns parâmetros fisiológicos foram escolhidos, como por exemplo, teor de hidratação tecidual, e concentração iônica da hemolinfa.

A análise do teor de hidratação tecidual pode ser utilizada para observar a capacidade do animal de regular seu volume celular em função da salinidade do meio, pois o grau de hidratação do tecido reflete o volume de água das células. Sabemos que a poluição afeta os mecanismos de transporte iônico e como consequência disso, afeta a regulação do volume celular e por isso, analisar as alterações na capacidade de manutenção do teor de hidratação tecidual pode ser um indicador da presença de poluentes no ambiente. A análise desse parâmetro foi usada em vários trabalhos fisiológicos, entre eles, temos: Shumway (1977), Gilles (1987), Amado (2010), Veiga (2013).

O processo de regulação do volume celular em um organismo é chamado osmorregulação. É através desse processo biológico, que os seres vivos regulam a homeostase de fluidos corporais e sais em relação ao meio ambiente, alterando suas concentrações a fim de se manter em equilíbrio, seja fazendo regulação iônica dos fluidos corpóreos ou regulando a pressão de osmose, precisando ser regulada para evitar dessecação (perda excessiva de água) ou picos de concentração de sais. Esse mecanismo de troca osmótica é regulado pela pressão e volume celular, que determina o estado de turgor que limita a contínua entrada de água nas células (Stricker, E. M.; Huang, W.; Sved, A. F. v. 76, n. 3, p. 415-421, 2002).

O objetivo deste trabalho é analisar os efeitos das nanopartículas de cério em camarões *Palaemon Pandaliformis* (Decapoda, Palaemonidae), após a aplicação das nanopartículas em aquários, de forma experimental e então fazer a análise da capacidade de regulação osmótica e iônica: concentração iônica da hemolinfa e teor de hidratação tecidual.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O prefixo “nano” possui origem grega. Nanômetro significa um bilionésimo do metro, usualmente representado por 10^{-9} m, ou pela unidade de medida nm. O estudo de estruturas atômicas e moleculares que possuem dimensões na escala nanométrica é chamado de nanociência. A manipulação industrial dessas estruturas nanométricas, é denominado nanotecnologia (Tonet, M. D.; Leonel, A. A. 2019). A Nanotecnologia é um campo multidisciplinar que vem desenvolvendo-se rapidamente. A capacidade de manipular átomos e moléculas, materiais com novas propriedades, pode ser sintetizada, dando origem a produtos e processos inovadores. Tal desenvolvimento tende a resultar na fabricação de dispositivos em escala nanométrica, entre 0,1 e 100 nanômetros, aplicáveis de acordo com suas propriedades físico-químicas, a inúmeras áreas do conhecimento (Mazzeo, A.; Santos, E. J. C., 2018). Atualmente, diferentes agências regulatórias internacionais definem nanomateriais com base em sua função, forma, carga, proporção da área superficial, volume ou outras propriedades físicas ou químicas. Na ISO/TC 229, estabelece como nanomaterial o material com qualquer dimensão externa ou estrutura interna e de superfície entre 1-100 nm (Dias, B. P. et al., 2021). A nanotecnologia também tem contribuído com o desenvolvimento de vários materiais que interagem de forma muito efetiva com o meio. Isso se deve a suas dimensões, que lhes conferem elevada área superficial específica e melhoram, conseqüentemente, suas propriedades químicas e físicas (Shinzato, M. C. et al., 2018).

As nanopartículas de dióxido de cério estão sendo cada vez mais usadas como catalisadores na indústria automotiva. Conseqüentemente, espera-se que quantidades crescentes entrem no ambiente onde seu destino e potenciais impactos são desconhecidos (K. V. Hoecke, et al 2009). Dentre os compostos de Cério, o dióxido de Cério, também chamado de óxido de Cério é o mais estável devido a sua estrutura cúbica do tipo fluorita tanto no material massivo como e na forma de nanopartículas - diâmetro entre 1 e 100 nanômetros (Rezende, T. 2018). As nanopartículas também podem ser utilizadas no tratamento de águas contaminadas com flúor. Utilizaram nanopartículas de bentonita e montmorilonita, destacaram o uso de nanopartículas magnéticas com superfície modificada na remoção de Flúor da água (Shinzato, M. C. et al., 2018).

Com o avanço da aplicação dos ensaios ecotoxicológicos no controle da poluição hídrica tivemos como resultado algumas leis vigentes de qualidade de águas (CONAMA 357) e efluentes industriais (CONAMA 430) que estabelecem padrões de qualidade de águas e

efluentes baseados nos objetivos de uso preponderante das águas. Em função dessas legislações, os Estados devem fazer o controle da qualidade das águas e efluentes líquidos por meio de ensaios ecotoxicológicos (Zagatto, P. A. et al., 2008). Ramade (1977) definiu a ecotoxicologia como ciência que tem como objetivo estudar as modalidades de contaminação do ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos, produzidos pelas atividades humanas, seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que habitam a biosfera. Para avaliar a toxicidade deve-se escolher organismos representativos, pelo fato de nos parâmetros utilizados em ensaios a sensibilidade ser variáveis quanto a espécies e grupos taxonômicos a fim de se evitar os riscos ambientais e subestimação de toxicidade (Grilo, P. C. da S. 2018).

Tem-se verificado que a determinação da contaminação de tecidos de organismos coletados de ambientes naturais é útil. Mas, para fornecer informações de contaminação antes da ocorrência da mortalidade ou do dano, também é necessária a determinação dos efeitos de doses subletais sobre biomarcadores - componentes celulares ou bioquímicos, estruturas e funções que são mensuráveis num sistema ou amostra biológica como bioindicador. De qualquer forma, os parâmetros estudados devem ser sensíveis como bioindicadores de bioconcentração (Andréa, M.M., 2002).

2.1. As nanopartículas

A nanotecnologia é a tecnologia que estuda a matéria em nanoescala, em escala atômica e molecular. A nanotecnologia é o termo utilizado para descrever a criação, manipulação e exploração de materiais em escala manométrica. A unidade de medida do nanômetro, é nm, é um metro dividido por um bilhão, ou seja, 10^{-9} m. No estudo da Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial, vários países como EUA, Japão, países da Europa e o Brasil perceberam que a nanotecnologia representa um novo patamar de conhecimento, com visão para imensos impactos científicos e econômicos. Estes países vêm tomando iniciativas que poderão render significativas melhorias na qualidade de vida de suas populações com o avanço em diversos setores, como, por exemplo, da agricultura, energia, preservação ambiental, saúde e outros (ABDI, 2010, p. 11). Uma das características marcantes da nanotecnologia é sua multidisciplinaridade. Trata-se de um encontro de química, física, engenharia e biologia. As diferentes interfaces são ricas em relevantes problemas científicos e oportunidades de geração de novas tecnologias (ABDI, 2010, p. 24). A nanotecnologia trata do estudo de nanomateriais em escala manométrica, bem como os nanomateriais, podem ser usados como ferramentas úteis

e interdisciplinares na educação possibilita trabalhar de maneira prática e de modo interdisciplinar uma diversidade de assuntos (SANTOS, Calink IL et al.,2020, p.813).

As nanopartículas de cério são amplamente utilizadas em produtos de uso diário, como aditivos para combustíveis e tintas. Enquanto isso, muito poucos estudos sobre os efeitos subletais da nanopartícula de cério em organismos aquáticos estão disponíveis. Tentamos preencher essa lacuna de conhecimento investigando os efeitos de curto prazo de nanopartículas de cério em concentrações ambientalmente realistas em dois invertebrados de água doce; as nanotecnologias estão se desenvolvendo rapidamente, emissão de nanomateriais manufaturados no meio ambiente e biota subsequente exposição tendem a aumentar drasticamente, assim como as preocupações sobre seu potencial impacto adverso (Moore, 2006; Sun et al., 2014).

2.1.1. Ecotoxicologia

Pesquisas ecotoxicológicas têm como objetivo entender os fenômenos toxicológicos em diferentes biotas, populações e ecossistemas, e diversos aspectos como mecanismos de ação tóxica e processos ecológicos em sistemas contaminados, e são importantes para a avaliação de efeitos e mecanismos de ação de agentes tóxicos em diferentes ambientes. Até pouco tempo, os testes utilizados para a avaliação de efeitos toxicológicos e ecotoxicológicos eram centrados em exposição de organismos inteiros (testes *in vivo*) à determinados produtos químicos preocupantes, o que sempre envolve alto custo e tempo, além de apresentarem resultados relacionados apenas à toxicidade aguda (mortalidade). Porém, os efeitos tóxicos induzidos por determinadas substâncias ou misturas podem ocorrer em todos os níveis de organização biológica, desde o molecular até o ecossistema. Em relação ao meio ambiente, não apenas certos organismos podem ser afetados, mas o ecossistema como um todo (terrestre e aquático), nas suas estruturas e funções (Rocha, P. S.; Umberto, G.A., 2022). A redução dos impactos ambientais certamente apresenta-se como um dos maiores desafios a serem enfrentados no século 21. A preocupação com a contaminação ambiental aumentou significativamente nos últimos anos em virtude da grande quantidade de substâncias tóxicas que vêm sendo lançadas no ambiente (Niva, C. C.; Brown, G. G., 2019).

2.1.2. *Palaemon Pandaliformis*

No subfilo Crustácea há uma grande diversidade de organismos entre os artrópodes, estes oferecem uma grande variedade de dimensões e padrões. Os camarões *Palaemon*

pandaliformis (Crustacea, decapoda) habitam em ambientes diversos, tanto marinho e salobro, quanto em ambientes dulciaquícolas (seres que vivem em água doce). Vivem num habitat bastante hostil, com bruscas e amplas variações de salinidade, desde ambientes de água doce até ambientes cuja salinidade ultrapassa a da água do mar no auge da estação seca. Nestas localidades, há variação também dos demais parâmetros químicos e físicos da água, por exemplo, com temperaturas variando entre 16 e 31° C. Seu aspecto externo é bastante semelhante aos demais “camarões fantasma”, com corpo pequeno, alongado e transparente. Atingem no máximo 5,0 cm. Preferem ambientes de baixa salinidade. Possui grande capacidade osmorregulatória, mas é muito raro a coleta em ambientes marinhos (M. Gas, 2003).

Os ambientes marinhos, estuários marinhos ou dulcícolas, estáveis ou variáveis, como espécies de camarões, mantêm uma concentração osmo-iônica da família independente da concentração do meio. Essas espécies hiper-regulam a osmolalidade e os íons da hemolinfa em meio diluído em água doce e hiporregulam em meio concentrado ou água do mar (Maraschi, A. Cristina, 2018).

Nos decapoda, está a maior parte das espécies conhecidas de crustáceos, que acumulam muitas novidades evolutivas. Este grupo inclui os siris, caranguejos, lagostas, camarões entre outros. Apresentam uma grande diversidade na estrutura do corpo e na forma dos apêndices. Os decapoda são em sua maioria marinhos, mas há alguns de água doce, estuários e poucos terrestres. Ocorrem em todos os ambientes aquáticos, alguns em grandes profundidades, mas outros passam parte de suas vidas em ambiente terrestre. O tamanho do corpo varia de poucos milímetros. Tem uma grande importância ecológica e econômica, já que muitas espécies são comestíveis. Os vários grupos de decápodes utilizam diversas estratégias alimentares, como predação, herbivoria e captura de alimento em suspensão, entre outras. A fêmea utiliza os pleópodes ou pernas abdominais para carregar os ovos sob o abdome. Do ovo, eclode a larva, o náuplio – que passa por várias mudas, transformando-se em protozoa, mysis ou zoea e pós-larva ou decapolito, até se transformar em organismo adulto. A carapaça dos Decapoda abriga uma câmara branquial, mas eles diferem de outras ordens de Eucarida por possuírem geralmente três pares de maxilípedes e cinco pares de pereópodes, de onde vem o nome Decapoda (Cibele S. Ribeiro- Costa et al, 2006). Nome científico: *Palaemon pandaliformis* (Stimpson, 1871). A seguir na (figura 1) demonstraremos a imagem de um macho e uma fêmea (ovígera), onde seus pleópodes carregam os seus ovos, formando uma câmara incubadora.

Figura 1 – *Palaemon pandaliformis*. Note os pleópodes ou pernas abdominais para carregar os ovos expandidos na fêmea, formando uma câmara incubadora.



Fonte: Planeta invertebrados Brasil, fotografia: Walther Ishikawa.

A seguir, na Tabela 1, temos uma tabela taxonômica demonstrando a classificação científica da espécie *Palaemon pandaliformis*, o animal que foi utilizado na pesquisa, cada grupo de classificação é chamado de táxon – de onde vem o nome taxonomia. Esse sistema de classificação permite que os seres vivos sejam agrupados conforme o seu grau de parentesco e permite compreender melhor a evolução na vida da terra.

Tabela 1 – Classificação Científica (tabela taxonômica)

Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Classe	Malacostraca
Ordem	Decapoda
Família	Palaemonidae
Gênero	Palaemon
Espécie	<i>Palaemon pandaliformis</i>

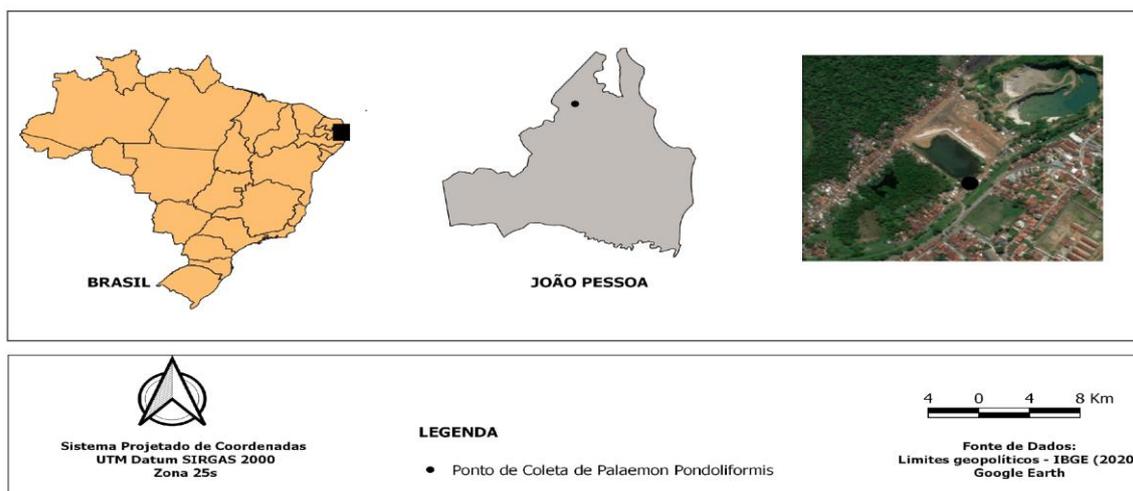
Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

3. METODOLOGIA

Coleta e Manutenção dos animais

Os espécimes foram coletados nos meses de outubro e novembro de 2018, em um lago conectado a zona de manguezal, na comunidade do S, no bairro do Baixo Roger, situada no município de João Pessoa, localizado aproximadamente a Latitude: $-7,106121^\circ$, e Longitude: -34.879054° , como demonstrado na (figura 2). Utilizamos o software QGIS como a principal ferramenta para elaboração do mapa e o Google Earth para imagem em tempo real. A fonte de dados dos limites geopolíticos foi do IBGE (2020). Os animais foram capturados manualmente por uma peneira na vegetação marginal, uma peneira de construtor, medindo cerca de 53 centímetros de diâmetro, de aro (material de plástico), capturados por entre a vegetação submersa das margens do local. Foram registrados dados quanto à salinidade do ambiente aquático que teve registro no refratômetro no valor de 15%.

Figura 2 – Mapa de localização do ponto de coleta, realizado na comunidade do S, Baixo Roger, João Pessoa, Paraíba.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Na Tabela 2, teremos alguns dados que foram coletados no habitat do *Palaemon Pandaliformis*, dados aferidos durante a coleta que são importantes quando passam pelo processo de aclimação no laboratório, onde há a necessidade de deixar nas mesmas condições encontradas no ambiente natural, como por exemplo a salinidade e temperatura da água.

Tabela 2: Tabela com alguns dados aferidos durante a coleta.

Local	Família	Espécie	Salinidade	Temperatura da água	Número de espécimes
Comunidade do S	Palaemonidae	<i>Palaemon pandaliformis</i>	15%	24°C	50

Fonte: elaborada pelo autor, 2022.

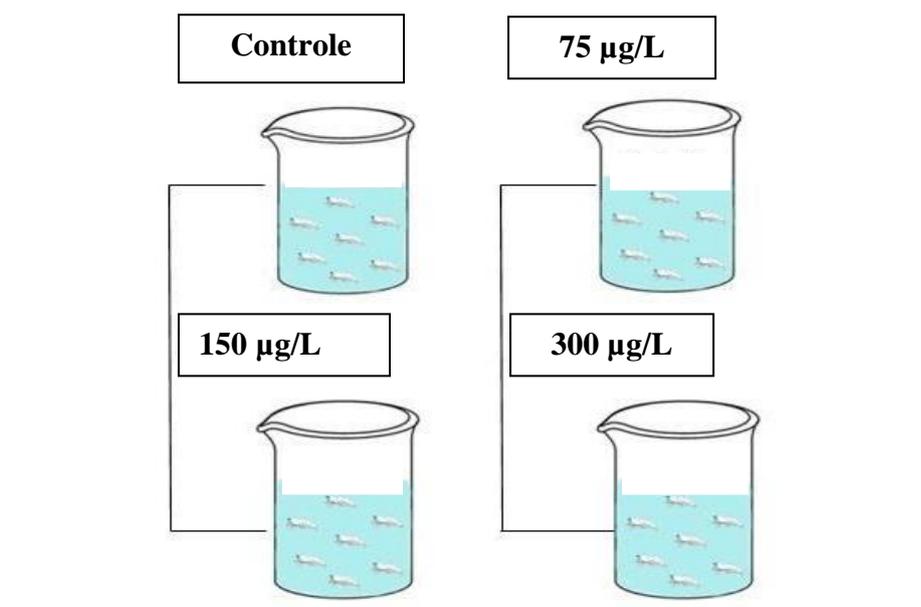
A amostra foi coletada por dois pesquisadores de forma manual, com o auxílio de uma peneira. Em seguida os indivíduos foram condicionados em caixas plásticas onde continha uma porção da água retirada de seu habitat. Em seguida a amostra foi conduzida para o laboratório de Ecofisiologia Animal (LEFA), localizado na Universidade Estadual da Paraíba, Campus V, onde foi mantida em aquários com salinidade apropriada para a espécie de 15%, filtro biológico de fundo e aeração constante. Os aquários foram mantidos em temperatura ambiente (~ 24°C). Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados diariamente. Por um período de aclimação de três dias, os animais foram alimentados a cada 24 horas com ração de peixe (Alcon - Basic, peso líquido 20g – alimento completo em flocos para peixes ornamentais, Lote: 00511). Cerca de 50 (camarões palaemonídeos), camarões adultos, não ovíferos, machos e fêmeas, medindo aproximadamente de 1,4 cm até 3,0 cm de comprimento total, foram coletados em um lago conectado a zona de manguezal, município de João Pessoa, no Nordeste do Brasil. Mas segundo a literatura tem indivíduos que podem chegar a medir até 5 cm de comprimento, dependendo da espécie desta família palaemonidae. Com relação ao peso dos camarões, chegam a ter de 0,15 a 0,87g (Stimpson,1871)

Desenho experimental

Após um período de aclimação de três dias, os animais foram submetidos a um sistema estático de exposição às nanopartículas de Cério na salinidade correspondente ao seu ambiente de origem, 15% para *Palaemon pandaliformis*. As nanopartículas de cério foram doadas pelo laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM), localizado na Universidade Estadual da Paraíba, Campus V, UEPB. As nanopartículas de Cério foram pesadas em balança eletrônica de precisão e o material em seguida aplicado nos aquários, onde os camarões foram expostos ao contaminante no período de 24 horas e 72 horas em três concentrações: 75µg/L, 150µg/L e 300µg/L e um grupo controle, como demonstrado na Figura 3. Utilizou-se 4 béqueres

com volume de 2L para colocar os camarões, ($n = 7$) em cada aquário, com aeração constante em todos os aquários do ensaio. Os animais foram anestesiados com gelo, retirados a hemolinfa de todos eles e em seguida, eutanasiados, utilizando-se tesoura e pinça.

Figura 3 – Esquema do ensaio *in vivo* de exposição às nanopartículas de cério.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Análise da capacidade de regulação osmótica e iônica

Após os experimentos *in vivo*, os animais foram criados anestesiados e a hemolinfa foi amostrada por punção cardíaca com o auxílio de micropipetas. Os animais foram sacrificados e amostras dos músculos foram retiradas. Todas as amostras foram armazenadas em *freezer* - 20°C para posterior análise dos seguintes parâmetros:

Concentração iônica da hemolinfa

A concentração de íon Cloreto (Cl^-) foi dosada em uma alíquota da amostra de hemolinfa coletada após exposição dos animais às condições experimentais. Os íons foram medidos por método colorimétrico através de kit comercial (Labtest).

Teor de hidratação tecidual

Para mensuração do teor de hidratação tecidual foram colhidas amostras dos músculos e colocados em eppendorf previamente etiquetados e pesados. Cada eppendorf contendo o tecido que foi pesado em balança analítica de precisão (SHIMADZU AUY 220), e assim foi obtido o peso úmido (Pu) em seguida foram levados a estufa (NOVA – NI 1524), a 60°C para secagem durante 24 horas. Após a secagem, o tecido foi pesado novamente para a obtenção do peso seco (Ps). O teor de hidratação tecidual foi calculado utilizando a seguinte fórmula (1):

$$TH(\%) = \frac{(Pu-Ps)}{Pu} \times 100 \quad (1)$$

Imagens do local de Coleta

Na Figura 4 temos a imagem do lado direito do lago conectado a zona de manguezal, foi registrada no dia da coleta dentro da comunidade do S, no bairro do Baixo Róger, no município de João Pessoa – PB, foi nas margens do lago que coletamos os espécimes.

Figura 4: Foto do lado direito, do lago conectado à zona de manguezal, local de coleta realizado na comunidade do S, no bairro do Baixo Róger, em João Pessoa – PB.



Fonte: Registro realizado pelo autor, 2018.

Já na Figura 5, temos o registro do lado esquerdo, do lago conectado à zona de manguezal, dentro da comunidade do S, no Baixo Róger, no município de João Pessoa – PB. Retiramos uma porção da água do lago, aferimos os dados de salinidade e temperatura da água, condicionamos os camarões dentro de caixas plásticas e levamos para Universidade Estadual da Paraíba, campus V, UEPB.

Figura 5: Foto do lado esquerdo, do lago conectado à zona de manguezal, local de coleta realizado na comunidade do S, no bairro do Baixo Róger, em João Pessoa – PB.

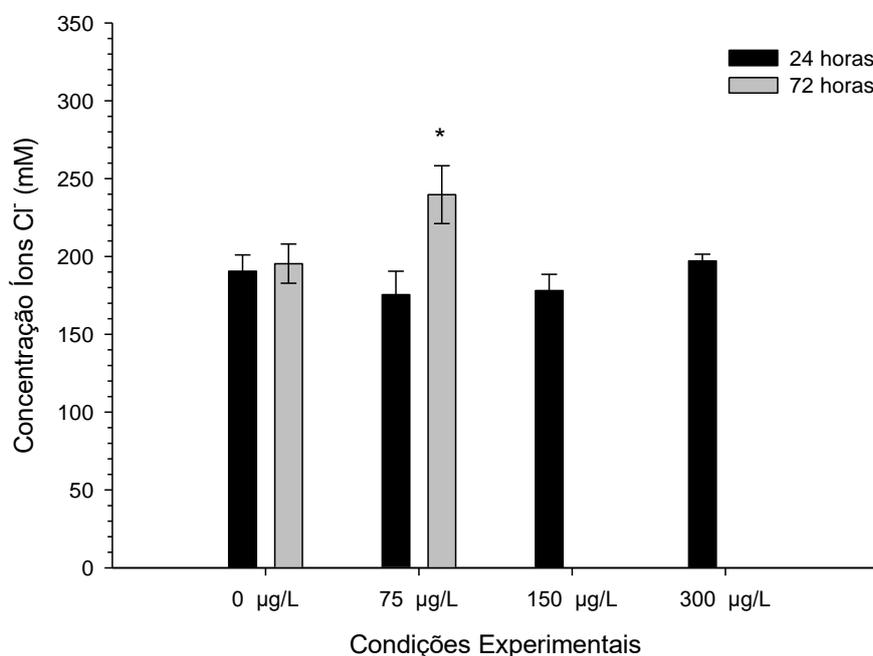


Fonte: Registro realizado pelo autor, 2018.

4. RESULTADOS

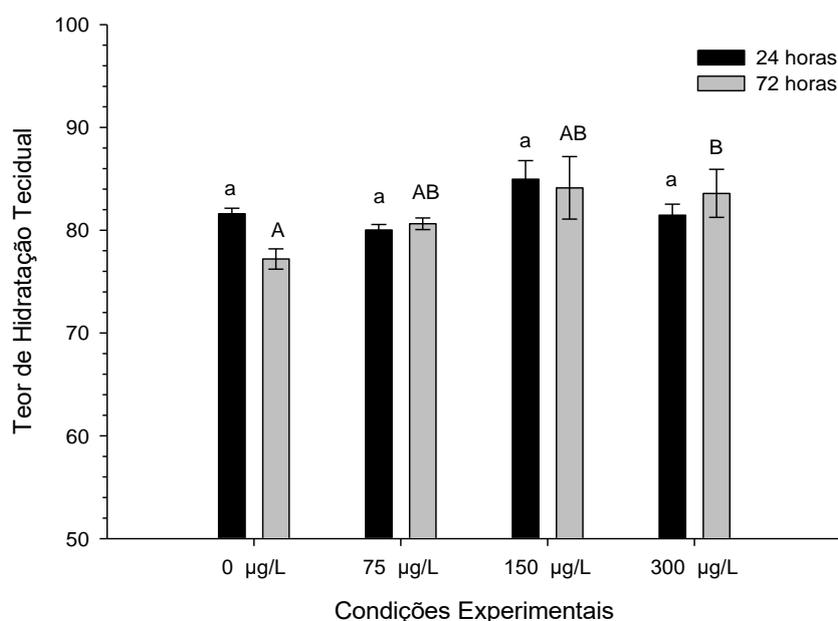
Na figura 6, temos o gráfico de concentração do íon Cloreto (Cl^-) na hemolinfa de *Palaemon pandaliformis* expostos às diferentes concentrações de nanopartículas de cério. Na concentração de $75 \mu\text{g/L}$ não vemos aumento significativo do íon cloreto no período de 24 horas, entretanto é notável o aumento na concentração de íon cloreto (Cl^-) no período de 72 horas, o que indica que houve diferenças estatísticas entre os tempos experimentais na mesma concentração. As amostras nas concentrações de $150 \mu\text{g/L}$ e $300 \mu\text{g/L}$ no período de 72 horas foram perdidas, então não foi possível analisar tais amostras. Abaixo está o gráfico e o * indica diferenças estatísticas entre os tempos experimentais na mesma concentração (two way ANOVA, $p < 0,05$; $n=7$).

Figura 6 – Concentração do íon Cloreto (mM) na hemolinfa de *Palaemon pandaliformis* expostos às diferentes concentrações de nanopartículas de cério. Não houve diferença significativa entre as concentrações em cada tempo experimental. * indica diferença estatística entre os tempos experimentais na mesma concentração (Two way ANOVA e Holm- Sidak method como pós teste, $p < 0,05$ $n=7$).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Figura 7 – Teor de Hidratação do músculo abdominal de *Palaemon pandaliformis* expostos às diferentes concentrações de nanopartículas de cério. Letras diferentes (minúsculas 24 horas e maiúsculas 72 horas) indicam diferença estatística entre as concentrações experimentais em cada tempo experimental (two way ANOVA e Holm-Sidak method como pós teste, $p < 0,05$; $n = 7$).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Obtivemos na Figura 7, o gráfico do Teor de Hidratação tecidual do músculo abdominal de *Palaemon pandaliformis* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de cério, onde foi demonstrado que houve um aumento de hidratação tecidual, o que pode refletir aumento de volume celular. E nas concentrações mais altas em 72 horas, causando um inchaço da célula. Ou seja, a osmorregulação foi afetada, que é a capacidade que alguns animais têm de manter de forma ativa o equilíbrio da quantidade de água e dos sais minerais do organismo, isto é, a manutenção da homeostasia através da regulação da pressão osmótica interna dentro de certos limites, independentemente da concentração do meio externo. Letras diferentes (minúsculas 24 horas e maiúsculas 72 horas) indicam diferença estatística entre as concentrações experimentais em cada tempo experimental (two way ANOVA, $p < 0,05$; $n = 7$).

Essa perda de equilíbrio pode ter sido influenciada pela bioacumulação nas concentrações de nanopartículas de cério que exerceu um efeito sobre os tecidos do músculo abdominal de *Palaemon pandaliformis*. Crustáceos osmoconformadores possuem maior capacidade de regular o volume de teor hídrico no músculo em 35%, com aumento da

osmolalidade da hemolinfa; ocupam ambientes aquáticos diferentes, desde água doce até lagoas hipersalinas, apresentando grande variedade de estratégias osmorregulatórias.

5. DISCUSSÃO

Como o principal íon negativamente carregado no corpo, o cloreto é um dos principais eletrólitos do meio extracelular. Em organismos de água doce o processo de osmorregulação envolve absorção ativa de íons cloreto do meio ambiente através das brânquias. O epitélio branquial captura íons do meio exterior que são necessários para a manutenção do metabolismo. Talvez seja esse o principal motivo de seu aumento com o passar das horas dentro do período experimental demonstrado na Figura 6.

Os *Palaemon pandaliformis* foram capturados nas margens, abrigado entre as raízes da vegetação submersa, em condições ambientais naturais. A família dos camarões Palaemonidae tem representantes de ambientes osmóticos diversos, sejam de ambientes marinhos, estuarinos ou dulcícolas, variáveis ou estáveis, as espécies destes camarões mantêm a concentração osmôica da hemolinfa independente da concentração do meio. Um local de transporte iônico responsável pela regulação osmo-iônica é o epitélio branquial, pois nas membranas de seus ionócitos, encontra-se um conjunto de transportadores que efetuam o movimento transepitelial de íons (MARASCHI, Anieli Cristina; FARIA, Samuel Coelho; MCNAMARA, John Campbell., v. 257, p. 110968, 2021).

O subfilo Crustácea inclui inúmeras espécies que se irradiaram em muitos ambientes diferentes de seus ambientes marinhos ancestrais. Para muitos crustáceos, a regulação dos movimentos de água e íons entre o meio interno e o meio externo pode constituir um desafio energeticamente exigente. Além disso, as concentrações osmóticas e iônicas estabelecidas nos fluidos corporais direcionam a intensidade e a direção dos fluxos de água e íons entre os fluidos intracelular e extracelular e entre estes e o meio externo. A capacidade de homeostase osmótica e iônica, portanto, pode determinar a diversificação de nicho, uma vez que a evolução das características osmorregulatórias pode ditar o grau de eurialinidade e o potencial de dispersão de uma espécie (MARASCHI, Anieli Cristina; FARIA, Samuel Coelho; MCNAMARA, John Campbell., v. 257, p. 110968, 2021). Os diferentes padrões de capacidade osmorregulatória observados entre os crustáceos derivam principalmente de arranjos distintos de seus transportadores de íons epiteliais branquiais que variam de osmoconformadores marinhos a hiperreguladores de água salobra e doce.

6 CONCLUSÃO

Devido ao seu mecanismo de osmorregular, esses organismos possuem grande capacidade de controlarem as concentrações de sais nos tecidos a fim de manter a regularidade das atividades necessárias para o seu funcionamento. Essa regulação é fundamental para a sobrevivência dos *Palaemon pandaliformis*. Pelos resultados obtidos acima, vimos que eles foram afetados em condições altas de nanopartículas de cério, porém serão necessários novos estudos, de preferência com outras espécies para que possamos ter mais resultados e mais dados acerca de outras espécies desta família Palaemonidae, é preferível em outro tipo de ambiente, como por exemplo, em ambiente de água doce para que possamos correlacionar com os dados obtidos aqui e compará-los e observá-los, de forma que teremos uma pesquisa mais abrangente, o que não foi possível realizar apenas neste presente trabalho. Recomendamos e sugerimos mais pesquisas, para termos mais dados acerca desta família.

REFERÊNCIAS

- ABDOLAHPUR MONIKH, Fazel et al. Method for extraction and quantification of metal-based nanoparticles in biological media: Number-based biodistribution and bioconcentration. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 2, p. 946-953, 2018.
- ALVES, Kelison Venício Brito et al. Co-exposure of carbon nanotubes with carbofuran pesticide affects metabolic rate in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). **Chemosphere**, v. 288, p. 132-359, 2022.
- ANDREA, M. M. et al. **Impact of long term applications of cotton pesticides on soil biological properties, dissipation of [14 C]-methyl parathion and persistence of multi-pesticide residues**. 2001.
- AZZI, Jamil et al. Polylactide-cyclosporin A nanoparticles for targeted immunosuppression. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 10, p. 3927-3938, 2010.
- BEGON, Michael. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas** / Michael Begon, Colin R. Townsend, John L. Harper; tradução Adriano Sanches Melo ... [et al.]. – 4. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2007.
- BUOSI, Ana Letícia Pirozzi et al. Hand ultrasound: Comparative study between “no rhus” lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. **Modern rheumatology**, v. 24, n. 4, p. 599-605, 2014.
- BURNETT, W. C. et al. Quantificação da descarga de águas subterrâneas submarinas na zona costeira através de múltiplos métodos. **Ciência do Meio Ambiente total**, v. 367, n. 2-3, p. 498-543, 2006.
- CASTRO, Peter; NG, Peter KL. Revision of the family Euryplacidae Stimpson, 1871 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Goneplacoidea). **Zootaxa**, v. 2375, n. 1, p. 1–130-1–130, 2010.

DA SILVA, Daniel Clemente Vieira Rêgo; POMPÊO, Marcelo; DE PAIVA, Teresa Cristina Brazil. A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil. **Ecologia de reservatórios e interfaces. Instituto de Biociência da USP, cap, v. 22, 2015.**

DA SILVA JÚNIOR, Carlos Alberto et al. CAPÍTULO 01: ENSINO DE NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIAS NO BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA CAPÍTULO 01: ENSEÑANZA DE NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA EN BRASIL: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA CHAPTER 01: TEACHING OF NANOSCIENCE AND NANOTECHNOLOGIES IN.

DAVOODBASHA, Mubarak Ali et al. Synthesis of Biocompatible Cellulose-Coated Nanoceria with pH-Dependent Antioxidant Property. **ACS Applied Bio Materials**, 2019.

DE MELO, Gustavo Augusto Schmidt. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil.** Edições Loyola, 2003.

DE FREITAS, Jilian Nei et al. **Celulas fotovoltaicas hibridas de polimeros condutores e nanoparticulas inorganicas.** 2009. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

DE MELO, Camila Batista et al. Co-exposure of graphene oxide with trace elements: Effects on acute ecotoxicity and routine metabolism in *Palaemon pandaliformis* (shrimp). **Chemosphere**, v. 223, p. 157-164, 2019.

DIAS, Bruna de Paula et al. A nanotecnologia no brasil e o desenvolvimento de produtos com atividade antimicrobiana. **Química Nova**, v. 44, p. 1084-1092, 2021.

ETTRUP, Kim et al. Development of comparative toxicity potentials of TiO₂ nanoparticles for use in life cycle assessment. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 7, p. 4027-4037, 2017.

FAN, Wenhong; LU, Huiting; WANG, Wen-Xiong. Aging Influences on the Biokinetics of Functional TiO₂ Nanoparticles with Different Surface Chemistries in *Daphnia magna*. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 14, p. 7901-7909, 2018.

FIORINA, Paolo et al. A mobilização e o efeito das células progenitoras endógenas da medula óssea na cicatrização de feridas diabéticas. **Transplante celular**, v. 19, n. 11, p. 1369-1381, 2010.

FREIRE, Carolina A. et al. Regulation of Muscle Hydration Upon Hypo-or Hyper-Osmotic Shocks: Differences Related to Invasion of the Freshwater Habitat by Decapod Crustaceans. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 319, n. 6, p. 297-309, 2013.

FOSTER, Clarice et al. Do osmoregulators have lower capacity of muscle water regulation than osmoconformers? A study on decapod crustaceans. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 313, n. 2, p. 80-94, 2010.

GAMBA, Alejandra L. The larval development of a fresh-water prawn, *Palaemon pandaliformis* (Stimpson, 1871), under laboratory conditions (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana**, p. 9-35, 1998.

GRILO, Priscilla Cavalcante da Silva. **Avaliação ecotoxicológica aquática de amostras provenientes de três estuários do Rio Grande do Norte/Brasil**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

HOECKE, Karen Van et al. Fate and effects of CeO₂ nanoparticles in aquatic ecotoxicity tests. **Environmental science & technology**, v. 43, n. 12, p. 4537-4546, 2009.

ITZYKSON, Raphaël et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. **Journal of clinical oncology**, v. 31, n. 19, p. 2428-2436, 2013.

LIANG, Yanhui et al. Self-supported FeP nanorod arrays: a cost-effective 3D hydrogen evolution cathode with high catalytic activity. **ACS Catalysis**, v. 4, n. 11, p. 4065-4069, 2014.

MAGALHÃES, Danielly de Paiva et al. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. 2008.

MARASCHI, Anieli Cristina; FARIA, Samuel Coelho; MCNAMARA, John Campbell. Salt transport by the gill Na⁺-K⁺-2Cl⁻ symporter in palaemonid shrimps: exploring physiological,

molecular and evolutionary landscapes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 257, p. 110968, 2021.

MARASCHI, Anieli Cristina. **O cotransportador Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ e a secreção de cloreto branquial em camarões Palaemonidae (Decapoda, Crustacea): padrões moleculares, fisiológicos e evolutivos**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MARKOVIC, Marijana et al. Ecotoxicology of manufactured graphene oxide nanomaterials and derivation of preliminary guideline values for freshwater environments. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1340-1348, 2018.

MA, Yuhui et al. Where does the transformation of precipitated ceria nanoparticles in hydroponic plants take place? **Environmental science & technology**, v. 49, n. 17, p. 10667-10674, 2015.

MAZZEO, Angela; SANTOS, Enrico Jardim Clemente. Nanotecnologia e as células progenitoras adultas multipotentes na Medicina Reparativa: perspectivas terapêuticas. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, 2018.

MELO, Rafael Leandro Fernandes et al. As nanopartículas como ferramentas biológicas: uma revisão exploratória. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e363974155-e363974155, 2020.

MÜLLER, Yara Maria Rauh et al. Aspectos da reprodução de *Palaemon pandaliformis* (Stimpson) (Decapoda, Palaemonidae) no manguezal de Ratoles, Florianópolis, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, p. 633-642, 1996.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. **Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE)**, 2019.

QUINA, Frank H. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1028-1029, 2004.

RAMADE, Francois et al. Elementos de ecología aplicada. 1977.

REZENDE, Talita. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL COM NANOPARTÍCULA DE CÉRIO, *Calendula officinalis* OU *Bixa orellana* L., COMO**

POTENCIAIS CURATIVOS DE FERIDAS CRÔNICAS. 2018. Tese de Doutorado. 00500: Universidade de Coimbra.

RIBEIRO-COSTA, Cibele S.; DA ROCHA, Rosana Moreira. **Invertebrados: manual de aulas práticas.** Holos, 2002.

RIBEIRO-COSTA, Cibele S.; PEREIRA, Paulo Roberto V. da S.; ZUKOVSKI, Luciana. Desenvolvimento de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae) em genótipos de *Phaseolus vulgaris* L.(Fabaceae) cultivados no Estado do Paraná e contendo arcelina. **Entomologia Neotropical**, v. 36, p. 560-564, 2007.

ROCHA, Paula Soares; UMBUZEIRO, Gisela de Aragão. AOPs são o futuro da ecotoxicologia? **Química Nova**, v. 45, p. 132-136, 2022.

RUMYANTSEVA, M. N. et al. Dopantes em dióxido de estanho nanocristalino. **Boletim químico russo**, v. 52, n. 6, p. 1217-1238, 2003.

SANTOS, Calink IL et al. Síntese e caracterização de pontos quânticos ambientalmente amigáveis, um meio simples de exemplificar e explorar aspectos da nanociência e nanotecnologia em cursos de graduação. **Química Nova**, v. 43, p. 813-822, 2020.

SANTOS, M. B. **Condição fisiológica de ostras *crassostrea sp.* dos estuários dos rios Paraíba do Norte e Mamanguape (Paraíba, Brasil)** [manuscrito]/Matheus Barbosa dos Santos. – 2015.52 p.; II.color. Trabalho de Conclusão de Curso, UEPB, 2015.

SHCHERBAKOV, A. B. et al. Nanocrystalline ceria based materials—Perspectives for biomedical application. **Biophysics**, v. 56, n. 6, p. 987-1004, 2011.

SHINZATO, Mirian Chieko et al. Métodos de remoção de íons fluoreto em água. **Revista do Instituto Geológico**, v. 39, n. 2, 2018.

SMITH, Catherine J.; SHAW, Benjamin J.; HANDY, Richard D. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. **Aquatic toxicology**, v. 82, n. 2, p. 94-109, 2007.

STRICKER, Edward M.; HUANG, Wan; SVED, Alan F. Early osmoregulatory signals in the control of water intake and neurohypophyseal hormone secretion. **Physiology & behavior**, v. 76, n. 3, p. 415-421, 2002.

TONET, Michele Duarte; LEONEL, André Ary. Nanociência e Nanotecnologia: uma revisão bibliográfica acerca das contribuições e desafios para o ensino de Física. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 36, n. 2, p. 431-456, 2019.

THEALL, Michael; FRANKLIN, Jennifer. Looking for bias in all the wrong places: A search for truth or a witch hunt in student ratings of instruction?. **New directions for institutional research**, v. 2001, n. 109, p. 45-56, 2001.

ZAGATTO, Pedro Antonio et al. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2008.