

CATARINA SERRÃO CARLOS DA COSTA

**USO DO GÊNERO *ARTEMIA* NA INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS DE
MICRO E NANOPLÁSTICOS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

João Pessoa
2021

CATARINA SERRÃO CARLOS DA COSTA

**USO DO GÊNERO *ARTEMIA* NA INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS DE
MICRO E NANOPLÁSTICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Nome do Orientador: Luis Fernando Marques dos Santos

João Pessoa
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C837u Costa, Catarina Serrão Carlos da.

Uso do gênero *Artemia* na investigação dos efeitos
tóxicos de micro e nanoplasticos / Catarina Serrão
Carlos da Costa. - João Pessoa, 2021.
100 f. : il.

Orientação: Luis Fernando Marques dos Santos.

TCC (Graduação/Bacharelado em Ciências Biológicas) -
UFPB/CCEN.

1. Camarão de salmoura. 2. Cenários realísticos de
exposição. 3. Ecotoxicologia. 4. Transferência trófica.
5. Zooplâncton. 6. Branchiopoda. 7. *Artemia*. I. Santos,
Luis Fernando Marques dos. II. Marques-Santos, Luis
Fernando. III. Título.

UFPB/CCEN

CDU 594.8:502(043.2)

CATARINA SERRÃO CARLOS DA COSTA

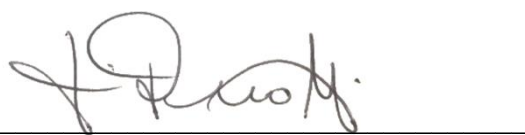
**USO DO GÊNERO ARTEMIA NA INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS DE
MICRO E NANOPLÁSTICOS**

Monografia apresentada ao Curso de
Ciências Biológicas, como requisito à
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas da Universidade Federal da
Paraíba

Data: 02 de julho de 2021

Resultado: Aprovada (10,0)

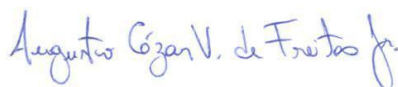
BANCA EXAMIDORA:



Luis Fernando Marques dos Santos (Orientador), Professor Doutor, UFPB



Davi Felipe Farias, Professor Doutor, UFPB



Augusto César V. de Freitas Jr, Professor Doutor, UFPB

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, aos meus pais, Veronica Serrão e Antônio Carlos, que sempre souberam a importância dos estudos e possibilitaram que tivesse tudo o que eu precisava para me desenvolver. Vocês sempre apoiaram os meus objetivos e fizeram de tudo, muitas vezes mais do que podiam, para que eu chegasse até aqui e eu não teria chegado se não fosse essa base tão forte que me foi oferecida. Muito obrigada!

Aos meus tios, Yuri Marinho, Luciana Carlos e Diane Soares, que, junto com os meus pais, sempre ajudaram na minha educação e aumentaram essa rede de suporte que eu recebi. Obrigada por fazerem parte do meu caminho até aqui.

À Álvaro Braga, meu maior companheiro, que sempre está comigo em todos os momentos, me ouvindo, apoiando, ajudando e torcendo pelas minhas conquistas. Graças a você eu tive os melhores momentos de distração e pude levar minhas responsabilidades com mais leveza. Obrigada pela paciência, dedicação, atenção e cuidado oferecidos a mim. Esse companheirismo foi e é muito importante para mim e me possibilita chegar cada vez mais longe.

Às minhas primas-irmãs Ana Beatriz Moura e Vivian Marinho, que dividiram vários momentos da vida e da minha educação, além de sempre me escutar e dar os conselhos necessários para que eu possa seguir em frente. Mesmo à distância, vocês também foram fundamentais para que eu atingisse esse objetivo.

Ao meu orientador, Luís Fernando, que me mostrou o incrível mundo da Biologia Celular e logo em seguida me acolheu muito bem em seu laboratório. Essa parceria científica foi fundamental para mim e vejo o quanto pude aprender e crescer como cientista graças a ela. Muito obrigada pelas inúmeras oportunidades que me foram oferecidas, sempre muito bem orientadas com bastante disposição, disponibilidade e atenção. Eu não poderia ter escolhido orientador melhor para me acompanhar durante toda a graduação.

À toda a equipe do LABID: Amanda Dantas, Bianca Mataribu, Leo Gustavo Beltrão, Leanderson Silvestre e Seu Bosco. O LABID se tornou a minha casa dentro da UFPB e essas pessoas dividiram comigo, de forma companheira e leal, todos os momentos vividos lá. Eu aprendi e cresci muito junto com vocês e graças a essa equipe as experiências foram mais leves e mais divertidas. Aos ex-labidiandos, Maria Talita Pacheco e Judson Machado, também, que com suas bagagens maiores do que as minhas sempre estiveram abertos a dividir experiências e a aprender com os mais novos também.

Um agradecimento em especial para Amanda Dantas e Bianca Mataribu. Amanda passou por essa experiência antes de mim e me ajudou imensamente com todas as minhas

dúvidas e aflições sobre esse processo. Bianca me acompanhou a cada passo dado desde 2019, e em especial nesses últimos momentos da minha graduação. Sem o suporte diário que Bianca me ofereceu teria sido muito mais difícil atingir o objetivo final e eu espero que um dia eu possa retribuir à altura.

Aos meus companheiros de turma, Adriennius Carneiro, Ana Clara Martins, Anna Beatriz Marques, Brenda Luany, Daniel Cesarino, Erica Falcão, Jamilah Lucena, Lidiane Nascimento, Mateus Estrela, Natália das Neves, Nathalia Martins, Rafael Vitor, Ruãn Pontes e Rubens Almeida. Com vocês eu dividi os momentos mais engraçados e conturbados da graduação. Sei que só consegui concluir essa etapa da minha vida e sobreviver até o final graças a toda a ajuda e apoio que proporcionamos uns aos outros.

Junto ao 2016.1, gostaria de agradecer também ao 2016.2, que se fundiu com o nosso grupo e nos tornamos uma turma maior da metade do final do curso. À André Barbosa, Eduardo Afonso, Igor Cauê, Pedro Henrique e Sara Rikeley. Com vocês nossa turma se tornou ainda mais especial e a rede de suporte se tornou ainda maior. Também gostaria de deixar meu obrigada aos agregados de outros períodos, Anderson Coimbra, Beatriz Araújo, Jade Medeiros, João Paulo Nunes, Marcus Vinícius, Samuel Freire e Vanessa Espínola, que também passaram os melhores momentos com esse grande grupo de pessoas e se tornaram nossos amigos.

Gostaria de deixar um agradecimento especial aos meus amigos Beatriz, Brenda, Eduardo, Igor, João Paulo e Nathalia. Com vocês eu dividi mais intensamente os momentos da graduação e da vida, e pude chegar até aqui com mais segurança e sanidade mental, além de construir amizades importantíssimas para mim.

Aos meus amigos não biólogos, Filipe Coutinho, Maria Clara Cavalcante e Rochelly Bezerra, que estiveram comigo nessa caminhada e me estimularam a ir mais longe. Mesmo não convivendo diretamente comigo na graduação, as conversas e o suporte foram importantes para mim.

Ao corpo docente do curso de Ciências Biológicas, que me guiaram na construção do conhecimento e são essenciais para a sociedade com seus projetos de ensino, pesquisa e extensão. Em especial, gostaria de agradecer aos membros de banca, os professores Augusto César e Davi Farias, por terem aceitado o convite e pela grande disponibilidade e atenção que me foram oferecidas. Suas sugestões serão muito importantes e engrandecedoras ao trabalho. Além disso, também agradeço a suplente Marta Muniz, sempre muito solícita e cordial comigo.

Por fim, gostaria de agradecer à UFPB e ao CNPq, pelo apoio em estrutura e financeiro que foram fundamentais para a realização das minhas pesquisas. Ambas são instituições muito importantes para a sociedade e devem, sempre, ser preservadas.

RESUMO

A poluição por plástico é uma grande preocupação para o ecossistema, em especial ao marinho, que é destino final dos resíduos plásticos produzidos pela população. Devido ao seu tamanho reduzido, o micro (MP) e nanoplástico (NP) possuem grande potencial de interação com diversos organismos. Entre esses está o gênero *Artemia*, que são microcrustáceos zooplânctônicos filtradores não seletivos. Esse animal representa o zooplâncton, um importante grupo para a teia alimentar, pois faz a conexão entre os produtores primários e os consumidores secundários. Além disso, a artemia é utilizada a bastante tempo na ecotoxicologia. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi revisar os conhecimentos obtidos pelos estudos dessas partículas plásticas com esses microcrustáceos, apontando os principais aspectos metodológicos utilizados e os efeitos encontrados, além de demonstrar a importância desses trabalhos, as principais limitações e oferecer direcionamentos para as futuras pesquisas. Foram encontrados 19 estudos sobre o tema, que ainda está no começo e em expansão. A partir disso, foram analisados 21 parâmetros diferentes, separados em 4 tabelas de acordo com o tema abordado: características das partículas plásticas, particularidades gerais das artemias, metodologias das culturas e parâmetros toxicológicos analisados. Foi possível perceber que as principais lacunas nos estudos são em relação a padronização metodológica e desenvolvimento de pesquisas que avaliem cenários realísticos de exposição. Além disso, ficou claro que o MP e NP são prejudiciais para o zooplâncton e, assim, podem gerar impactos também para o ecossistema. Portanto, devido à sua posição ecológica na base da cadeia alimentar e a facilidade de utilização em laboratório, as artemias são animais estratégicos para pesquisas investigando os efeitos desses poluentes e devem ser utilizados em pesquisas futuras.

Palavras-chave: Camarão de Salmoura. Cenários Realísticos de Exposição. Ecotoxicologia. Transferência Trófica. Zooplâncton.

ABSTRACT

Plastic pollution is a major concern for the ecosystems, especially to marine ones which are the final destination of mismanaged plastic waste generated by population. Due to their reduced size, micro (MP) and nanoplastic (NP) can interact with a wide range of organisms. One of these animals are the non-selective filter feeder zooplanktonic microcrustaceans from the genus *Artemia*. This arthropod represents the zooplankton, an ecologically important group for the food web because they link primary producers to secondary consumers. Furthermore, artemia has been used in ecotoxicology for a long time. Thus, the aim for this work was to review the knowledge obtained by studies using plastic particles and artemia, pointing out the main methodological aspects used and the main effects caused by the plastic, demonstrating the importance of these works, their limitations and offering directions for future researches. There are 19 studies in this area. From these works, 21 parameters were analysed, divided into 4 tables: characteristics of plastic particles, general particularities of artemia, culturing methodologies and toxicological parameters analyzed. It was noticed that the main gaps in the studies are in regard to methodological standardization and development of researches that assess realistic exposure scenarios. Moreover, it is clear the MP and NP are harmful to zooplankton, thus they can also generate impacts for the ecosystems. Therefore, due to its key ecological posição at the base of the food web and easy use in laboratories, this microcrustacean are strategic animals for research investigating the effects of these pollutants and should be used in future research.

Keywords: Brine Shrimp. Ecotoxicology. Realistic Exposure Scenarios. Trophic Transfer. Zooplankton.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Progressão da produção mundial de plástico (em toneladas métricas por ano – Mt/ano) ao longo do tempo e as suas diferentes fases.....	15
Figura 2 – Principais aplicações dos plásticos no ano de 2019	16
Figura 3 – Origens das partículas plásticas (MPs e NPs): primária e secundária	19
Figura 4 – Interação com contaminantes do meio e liberação de substâncias potencialmente tóxicas pelos MPs e NPs, os tornando vetores desses elementos para a biota	21
Figura 5 – Transferência trófica dos MPs e NPs no ambiente aquático.....	24
Figura 6 – Principais estágios do desenvolvimento do gênero <i>Artemia</i> estudados na literatura	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características das partículas plásticas avaliadas em publicações que utilizaram o gênero <i>Artemia</i>	58
Tabela 2 – Microcrustáceos do gênero <i>Artemia</i> utilizados em estudos com micro e nanopartículas plásticas	66
Tabela 3 – Características das metodologias avaliadas a partir de publicações sobre micro e nanoplásticos com o gênero <i>Artemia</i>	74
Tabela 4 – Testes, <i>endpoints</i> e efeitos observados obtidos a partir de publicações sobre micro e nanoplásticos utilizando o gênero <i>Artemia</i>	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE: Acetilcolinesterase

ACP: Ácido fosfatase

APAT: Agência de Proteção do Meio Ambiente e Serviços Técnicos

ARC-test: Teste do Centro de Referência em Artêmia (do inglês *Artemia Reference Center Test*)

ASW: Água do mar artificial (do inglês *artificial seawater*)

BaP: Benzo[a]pireno

CAT: Catalase

CbE: Carboxilase

ChE: Colinesterases

CL₅₀: 50% da concentração letal

CuSO₄: Sulfato de cobre

DAH: Dias após a eclosão (do inglês *days after hatching*)

DLS: espalhamento dinâmico de luz (do inglês *dynamic light scattering*)

EC₅₀: 50% do efeito máximo

EM: Mobilidade eletroforética

EPS: Poliestireno expandido

FMR: Microesferas fluorescentes vermelhas

FTIR: Infravermelho por transformada de Fourier

GST: Glutathione S-transferase

HSP70: Proteína de choque térmico

IR: Espectroscopia de infravermelho

ISO: Organização Internacional de Normalização

$K_2Cr_2O_7$: Dicromato de potássio

KCl: Cloreto de potássio

ME: Microscopia eletrônica

MF: Microfibra

MFs: Microfibras

MP: Microplástico

MPs: Microplásticos

Mt: Milhões de toneladas

NAFTA: Tratado Norte Americano de Livre Comércio (do inglês *North American Free Trade Agreement*)

NP Ag: Nanopartículas de prata

NP: Nanoplástico

NPs: Nanoplásticos

NSW: Água do mar natural (do inglês *natural seawater*)

OECD: Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

PChE: Propionilcolinesterase

PDI: Índice de polidispersão

PE: Polietileno

PE-HD/ PE-MD: Polietileno de alta e média densidade

PE-LD/ PE-LLD: Polietileno de baixa densidade

PET: Polietileno tereftalato

POP: Poluente Orgânico Persistente

PP: Polipropileno

PS: Poliestireno

PS-COOH: Nanopartículas de poliestireno funcionalizadas com grupamentos carboxila

PS-NH₂: Nanopartículas de poliestireno funcionalizadas com grupamentos amino

PUR: Poliuretano

ROS: Espécies reativas de oxigênio (do inglês *reactive oxygen species*)

rpm: Rotações por minuto

SEM: Microscopia eletrônica de varredura

SOD: Superóxido dismutase

TEM: Microscopia eletrônica de transmissão

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
1.1 ECOTOXICOLOGIA.....	14
1.2 PLÁSTICO	14
1.2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO	14
1.2.2 PRODUÇÃO E APLICAÇÕES	15
1.3 POLUIÇÃO POR PLÁSTICO	17
1.3.1 PLÁSTICO NO AMBIENTE MARINHO	17
1.3.2 TAMANHO E ORIGENS DO PLÁSTICO	18
1.4 MICRO E NANOPLÁSTICO	20
1.4.1 CONSEQUÊNCIAS DO MICRO E NANOPLÁSTICO	20
1.5 IMPORTÂNCIA DO ZOOPLÂNTON	22
1.5.1 FLUXO DE ENERGIA	22
1.5.2 INTERAÇÃO DO ZOOPLÂNTON COM O PLÁSTICO	22
1.5.3 O GÊNERO <i>ARTEMIA</i>	24
1.5.4 O GÊNERO <i>ARTEMIA</i> NA ECOTOXICOLOGIA	26
1.5.5 ESTUDOS DO GÊNERO <i>ARTEMIA</i> COM PARTÍCULAS PLÁSTICAS	27
2 REFERÊNCIAS	29
3 ARTIGO CIENTÍFICO (MANUSCRITO)	40
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	100

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Ecotoxicologia

A ecotoxicologia é uma área de estudo na Ciência que avalia o efeito tóxico que contaminantes, sintéticos ou naturais, podem causar aos ecossistemas (TRUHAUT, 1977). Assim, segundo esse autor, tal área se diferencia da toxicologia devido ao seu foco não ser apenas no efeito que tais produtos podem causar em um só indivíduo, mas às populações e comunidades do ambiente em questão. Ainda de acordo com Truhaut, a ecotoxicologia obteve maior desenvolvimento em virtude do avanço da indústria química e a necessidade de analisar o seu impacto nos ecossistemas, possuindo preocupação tanto com a entrada quanto com o destino desses contaminantes na biosfera. Além disso, também houve um aumento nas pesquisas nessa área devido à ocorrência de acidentes industriais (KAHRU & DOBOURGUIER, 2010).

Atualmente, a poluição por plásticos também se tornou um campo de estudo da ecotoxicologia, devido às preocupações que surgiram com relação às consequências da presença desses materiais nos ecossistemas. Mesmo sendo reconhecido como um problema ambiental, esse impacto de origem antrópica continua aumentando e, mesmo que fosse interrompido agora, irá persistir por séculos (BARNES et al. 2009). Assim, foram, e estão sendo realizados diversos estudos visando a elucidação dos efeitos toxicológicos e ecotoxicológicos gerados por esses polímeros.

1.2 Plásticos

1.2.1 Definição e histórico

Os plásticos são polímeros orgânicos sintéticos ou semi-sintéticos, maleáveis e que podem ser moldados em formas diversas (DA COSTA et al., 2016). Geralmente, eles são constituídos a partir da polimerização de monômeros derivados de combustíveis fósseis com adição de aditivos químicos (THOMPSON et al., 2009). Em 1907, o primeiro polímero sintético foi produzido por Leo Baekeland e ficou conhecido como Bakelite, a partir do qual outros plásticos foram desenvolvidos (THOMPSON et al., 2009). Contudo, só a partir dos anos

1940 e 1950 houve o significativo aumento da produção e uso dos plásticos (figura 1), especialmente devido à sua popularização após o largo uso na Segunda Guerra Mundial (GEYER, JAMBECK & LAW, 2017; JAMBECK et al., 2015; WORM et al., 2017).

Segundo Worm e colaboradores (2017), três períodos de produção podem ser destacados: 1) de 1910 a 1950 quando houve o crescimento lento; 2) de 1950 a 2000 em que ocorreu o crescimento rápido e exponencial; 3) e de 2000 a 2015 em que o crescimento foi linear, acompanhando o crescimento econômico mundial (figura 1). Atualmente, nos encontramos na “Era dos Plásticos”, pois eles, devido a sua versatilidade e durabilidade, fazem parte de quase todos os aspectos do cotidiano da sociedade humana (AVIO, GORBI & REGOLI, 2017).

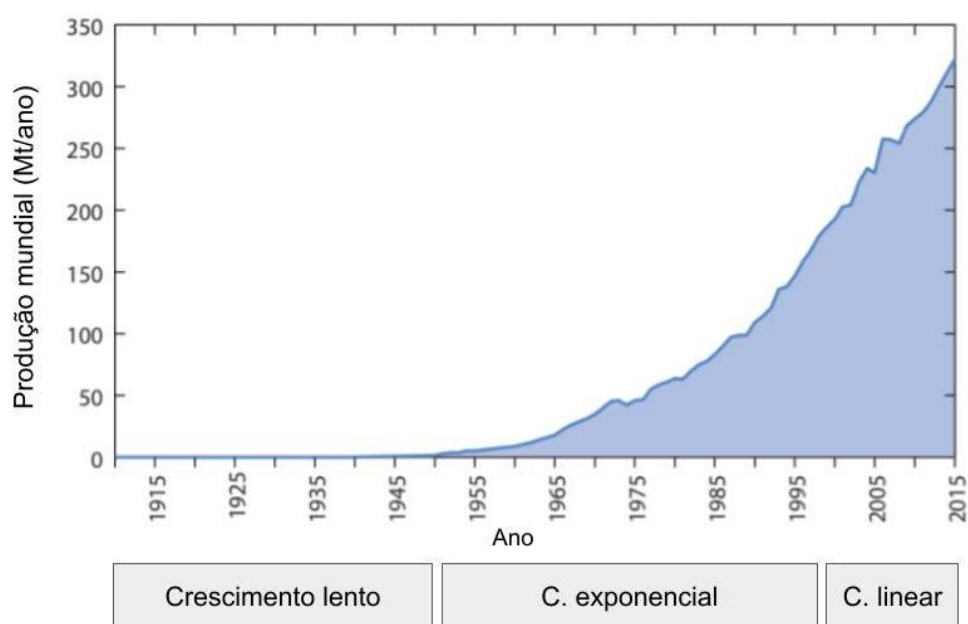


Figura 1 – Progressão da produção mundial de plástico (em toneladas métricas por ano – Mt/ano) ao longo do tempo e as suas diferentes fases. C. = abreviação de crescimento. Adaptado de Worm e colaboradores (2017).

1.2.2 Produção e Aplicações

Devido à diversas características, o material plástico possui uma elevada produção global, que inclui diferentes tipos de polímeros, aplicações distintas e benefícios para a sociedade. Com relação à produção mundial, em 2019 foram fabricadas 368 milhões de toneladas (Mt) de plásticos. Em todo o planeta, a produção de plásticos apresentou a seguinte distribuição: América Latina, 4%; Oriente Médio e África, 7%; Europa, 16%; NAFTA, 19%;

e a Ásia, 51%; sendo a China o seu principal representante (31% da produção mundial) (PLASTICS EUROPE, 2020). Esse dado mostra um incremento de 9 Mt em relação ao ano anterior, 2018 (PLASTICS EUROPE, 2019; PLASTICS EUROPE, 2020). Além disso, estima-se que, em 2018, 9,4 Mt de plástico foram recicladas. Desde o seu desenvolvimento, até hoje, acredita-se que foram produzidas 8.300 Mt de plásticos, com uma futura projeção de 26.000 Mt até 2050, caso a produção e o uso continuem em uma curva de crescimento constante (GEYER, JAMBECK & LAW, 2017).

Quanto à natureza química dos plásticos, a produção de 2019 para a Europa foi dividida em sete principais tipos: polipropileno (PP; 19,4%), polietileno de baixa densidade (PE-LD/PE-LLD; 17,4%), polietileno de alta e média densidade (PE-HD/PE-MD; 12,4%), policloreto de vinila (PVC; 10%), poliuretano (PUR; 7,9%), polietileno tereftalato (PET; 7,9%), poliestireno e poliestireno expandido (PS/EPS; 6,2%) e outros (18,8%) (PLASTICS EUROPE, 2020). Quanto às aplicações, destacam-se o uso em embalagens (39,6%), seguido da construção civil (20,4%), indústria de automóveis (9,6%), eletroeletrônicos (6,2%), utensílios domésticos e esportivos (4,1%), agricultura (3,4%) e outros (16,7%) (figura 2) (PLASTICS EUROPE, 2020). Esse mesmo relatório também detalhou que, nesse mesmo ano, a indústria do plástico da Europa empregou mais de 1,5 milhões de pessoas, incluindo mais de 55 mil empresas e apresentando um faturamento de mais de 13 bilhões de euros.



Figura 2 – Principais aplicações dos plásticos no ano de 2019. Observa-se um destaque para as embalagens como a maior aplicação desses materiais. Adaptado do relatório Plastics Europe (2020).

1.3 Poluição por Plástico

Além dos seus benefícios e suas inúmeras aplicações, o plástico também possui consequências. Devido às suas propriedades químicas e aparente falta de toxicidade, o plástico era considerado um material inerte e seu uso e descarte passou a ser desordenado (WORM et al., 2017). Somando a isso, com sua elevada produção é inevitável o seu descarte crescente. Características como leveza, baixo custo, durabilidade e resistência, o tornam um material propício para utilização apenas uma vez antes do descarte (BARNES, et al., 2009), como no caso das embalagens, que são a principal aplicação dos plásticos.

Estima-se que 60% de todo o plástico já produzido no mundo foi descartado e está se acumulando no ambiente (GEYER, JAMBECK & LAW, 2017), sendo encontrados nos sistemas terrestre, aquático e atmosférico, podendo, ainda, se deslocar entre estes (LI et al., 2020; WU et al., 2019). As mesmas características que trazem os benefícios do plástico são as que o tornam um contaminante persistente, pois fazem com que esse material seja de difícil degradação na natureza e se acumule no ambiente por longos períodos de tempo (DA COSTA et al., 2016; GEYER, JAMBECK & LAW, 2017; KUMAR et al., 2020; LI et al., 2020; RHODES, 2018; WORM et al., 2017). Dessa forma, Li e colaboradores (2020) definiram que a poluição por plásticos seria a partir da introdução desse material no ambiente, apresentando o potencial de causar danos aos organismos e a saúde humana.

1.3.1 Plástico no Ambiente Marinho

Os ambientes estuarinos e marinhos representam uma grande preocupação para órgãos ambientais e para a comunidade científica, pois são os destinos finais desses polímeros (FERREIRA et al., 2019). Com relação à presença dos plásticos nos oceanos, o primeiro registro na literatura foi em 1972, no qual Carpenter e Smith (1972) encontraram diferentes tipos de partículas plásticas, na sua maioria entre 0,25 e 0,5 cm de diâmetro, no Mar dos Sargãos (Atlântico Norte). Além disso, observações sobre a presença de plásticos no ecossistema marinho já foram reportadas em diversas regiões, indo de áreas costeiras altamente poluídas até regiões remotas, como locais de grande profundidade nos oceanos (THOMPSON et al., 2009) e até mesmo no continente Antártico (BERGAMI et al., 2020).

A principal fonte de poluição por plásticos são os resíduos sólidos, e a sua entrada nos oceanos tem sido atribuída, principalmente, à má administração pública (RYBERG et al., 2018). Foi estimado que 91% desses resíduos plásticos mal gerenciados atingem bacias hidrográficas, sendo os rios considerados os principais veículos para a entrada de plásticos nos oceanos (LEBRETON & ANDRADY, 2019). Jambeck e colaboradores (2015) demonstraram que a população costeira de 192 países produziu 99,5 Mt de resíduos plásticos no ano de 2010, sendo que 31,9 Mt foram considerados mal administrados, com 4 a 12 Mt destes resíduos atingindo os oceanos. Neste mesmo estudo, os autores fizeram uma previsão de que, no ano de 2025, a entrada de resíduos plásticos no mar terá um aumento de uma ordem de magnitude (JAMBECK et al., 2015). No entanto, Lebreton e Andrady (2019) estimaram que, no ano de 2015, 181 Mt de plástico foram mal administradas mundialmente, sendo que 47% (60-99 Mt) foram descartadas no ambiente. Os autores preveem, para o ano de 2025, que 230 Mt de resíduos plásticos sejam mal administrados (LEBRETON & ANDRADY, 2019). Assim, o acúmulo de plásticos no ambiente marinho pode resultar, potencialmente, em grandes impactos ambientais (KUMAR et al., 2020).

1.3.2 Tamanho e Origens do Plástico

Os plásticos podem ser classificados de acordo com seu tamanho, podendo ser divididos em: macroplásticos (>200 mm); mesoplásticos (5-200 mm); microplásticos (1-5 mm); pequenos microplásticos (25 μ m a 1 mm) e nanoplásticos (1-100 nm ou 1-1.000 nm) (DA COSTA et al., 2016; ERIKSEN et al., 2014; GIGAULT et al., 2018; KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015; WORM et al., 2017). Os macroplásticos tem sido bastante estudados e diversas consequências negativas já foram evidenciadas; incluindo desde efeitos biológicos e ecológicos, como a ingestão e emaranhamento pela biota, podendo levar a morte, até efeitos estéticos e econômicos, com impacto negativo no turismo em regiões praianas (AVIO, GORBI & REGOLI, 2017; GREGORY, 2009; MOORE, 2008; SCHMID, COZZARINI & ZAMBELLO, 2021; WORM et al., 2017). Além dos macroplásticos, a ocorrência dos fragmentos menores nos oceanos se tornou uma notável preocupação, com destaque para os micro (incluindo os pequenos microplásticos) e os nanoplásticos (ANDRADY et al., 2011).

Os micro (MPs) e nanoplásticos (NPs) podem ser definidos como primários ou secundários, dependendo da sua origem (figura 3). Os primários são aqueles fabricados na

escala micro ou nanométrica (figura 3) (COLE et al., 2011; PICCARDO, RENZI & TERLIZZI, 2020). Diversos itens utilizam estes materiais na sua composição, como cosméticos (esfoliantes, sabonetes, shampoos e pastas de dente), produtos biomédicos e de diagnósticos médicos e eletrônicos (FENDALL & SEWELL, 2009; GUERRANTI et al., 2019; KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015). Tais plásticos podem ser liberados pelos produtos e aplicações, atingindo os ecossistemas aquáticos pelo escoamento (ANDRADY et al., 2011; KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015).

Os plásticos secundários se originam a partir da degradação de partículas maiores (como macro e mesoplásticos), em fragmentos menores, sob condições ambientais (figura 3) (ANDRADY et al., 2011; PICCARDO, RENZI & TERLIZZI, 2020). A degradação é uma alteração química que reduz o peso molecular do polímero (ANDRADY et al., 2011). A fotodegradação (decomposição do composto pela ação da luz) é considerada o tipo de degradação que inicia esse processo, pois a luz UV, abundante no ambiente, é capaz de quebrar as ligações químicas da cadeia de polímeros (ANDRADY et al., 2011; SINGH & SHARMA, 2008). A quebra das ligações químicas leva ao enfraquecimento do polímero, que em combinação com ações físicas (como atrito, vento e ondas) produzem partículas menores (AVIO, GORBI & REGOLI, 2017; KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015). Além dos macro e mesoplásticos, os microplásticos também podem continuar a se degradar em tamanhos menores, gerando nanoplásticos (ANDRADY et al., 2011; COLE et al., 2011).

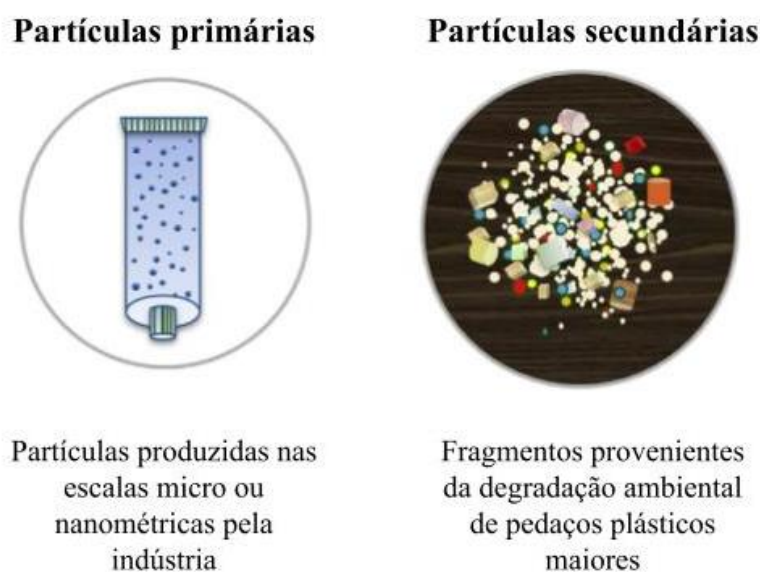


Figura 3 – Origens das partículas plásticas (MPs e NPs): primária e secundária. Adaptado de Wu e colaboradores (2019).

A degradação, contudo, não diminui a massa total de plásticos na natureza, ocasionando, apenas, uma redistribuição do seu tamanho (WORM et al., 2017). A redução do tamanho dos plásticos, para escalas micro e nanométrica, torna a sua remoção ambiental ainda mais difícil, conferindo ao plástico um caráter de contaminante persistente, que se acumula no ambiente em diferentes tamanhos (DA COSTA et al., 2016; JAMBECK et al., 2015; WORM et al., 2017). Desta forma, somada às partículas fabricadas originalmente em escala micro e nanométrica, as partículas resultantes da fragmentação do plástico representam um desafio adicional aos ecossistemas (ANDRADY et al., 2011).

1.4 Micro e nanoplásticos

O termo microplástico foi usado por Thompson e colaboradores (2004), sendo esse estudo considerado o primeiro com tais partículas. Assim, estudos avaliando a presença dos MPs no ambiente marinho passaram a ter mais destaque a partir dos anos 2000 (AUTA, EMENIKE & FAUZIAH, 2017). A partir de 2017 foi constatado um grande aumento nos estudos sobre os efeitos ecotoxicológicos do MP nos ecossistemas marinhos (WU et al., 2021). Dessa forma, os MPs deixaram de ser considerados apenas um contaminante emergente, para ser tratados como ameaça emergente pela ecotoxicologia (AVIO, GORBI & REGOLI, 2017).

Os estudos com partículas plásticas focam, majoritariamente, nos MPs; porém, também há uma necessidade crescente de ampliar os conhecimentos sobre os efeitos dos NPs sobre os ecossistemas (DA COSTA et al., 2016). As pesquisas sobre os NPs ainda são incipientes e as consequências dessas partículas sobre a fisiologia dos seres vivos são menos conhecidas (KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015). No entanto, os NPs são considerados potencialmente mais danosos para os sistemas biológicos (DA COSTA et al., 2016; KOELMANS, BESSELING & SHIM, 2015). Principalmente devido ao seu tamanho reduzido, estas partículas entram mais facilmente em contato com os constituintes da biota marinha, além de serem capazes de cruzar barreiras biológicas e de interagir a nível celular (LOOS et al., 2014; PICCARDO, RENZI & TERLIZZI, 2020; ROSSI, BARNOUD & MONTICELLI, 2014).

1.4.1 Consequências dos micro e nanoplásticos

Estudos ecotoxicológicos tem demonstrado impactos negativos de MPs e NPs sobre uma ampla diversidade de espécies (BOTTERELL et al., 2019). Além de se acumular cada vez

mais nos ecossistemas, o tamanho reduzido facilita a ingestão ou internalização destas partículas por vários organismos (FOLEY et al., 2018; SETÄLÄ, FLEMING-LEHTINEN & LEHTINIEMI, 2014; WAN et al., 2018). Entre os táxons mais estudados estão: cnidários (MORAIS et al., 2020); crustáceos (COLE et al., 2013; SUN et al., 2017); rotíferos (MANFRA et al., 2017); anelídeos (VAN CAUWENBERGHE, et al., 2015); moluscos (BROWNE et al., 2008; SETÄLÄ, NORKKO & LEHTINIEMI, 2016); equinodermos (MURANO et al., 2020); e mamíferos marinhos (BESSELING et al., 2015). Além do acúmulo das partículas nos organismos, a possibilidade de propagação para outros táxons, através da transferência trófica, é preocupante (BATEL et al., 2016; CEDERVALL et al., 2012; MATTSON et al., 2014; SETÄLÄ, FLEMING-LEHTINEN & LEHTINIEMI, 2014).

Além disso, efeitos deletérios do acúmulo de MPs e NPs também tem sido reportados em diferentes organismos, afetando, principalmente, a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução (DELLA TORRE et al., 2014; LEE et al., 2013; PINSINO et al., 2017; TRESTRAIL et al., 2020; WAN et al., 2018). Somado a isso, por apresentarem uma grande área de superfície em relação ao volume, e natureza hidrofóbica, estas partículas possuem uma elevada capacidade de adesão de outros compostos na sua superfície, como poluentes orgânicos persistentes (POPs) e metais pesados (figura 4) (HOLMES, TURNER & THOMPSON, 2012; MATO et al., 2001; WAN et al., 2018). Assim, o MP e NP não impactam os ecossistemas apenas como partículas isoladas, mas também como vetores de diferentes compostos notoriamente tóxicos (MATO et al., 2001). Ademais, os aditivos que são adicionados ao plástico, para melhorar algumas de suas características, ou os monômeros podem ser lixiviados da partícula e também são potencialmente danosos a biota (figura 4) (FRED-AHMADU et al., 2020).

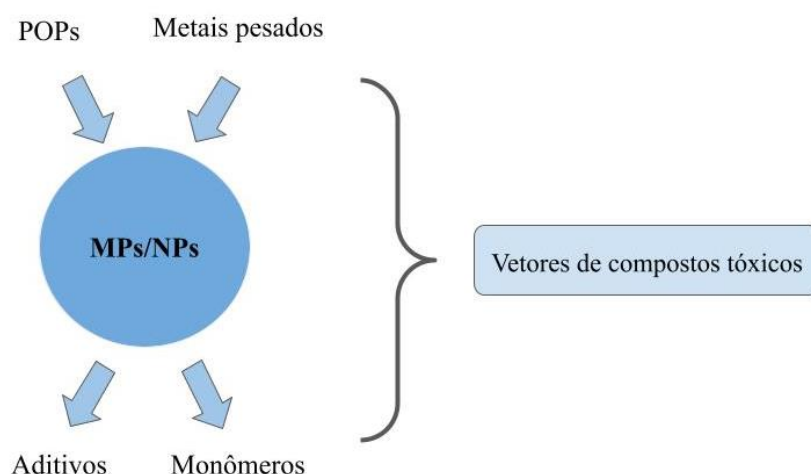


Figura 4 – Interação com contaminantes do meio e liberação de substâncias potencialmente tóxicas pelos MPs e NPs, os tornando vetores desses elementos para a biota.

1.5 Importância do Zooplâncton

1.5.1 Fluxo de Energia

O zooplâncton é um grupo de pequenos organismos aquáticos presentes em ambientes marinhos ou de água doce (FERDOUS & MUKTADIR, 2009) que apresenta grande diversidade morfológica e taxonômica, incluindo representantes protistas, invertebrados e vertebrados (KIØRBOE, 2011). A sua principal fonte de alimento é o fitoplâncton, podendo incluir também outros constituintes do zooplâncton. Essa energia é transmitida pela teia alimentar, pois os organismos zooplancctônicos são a fonte de alimento dos consumidores secundários e terciários (BOTTERELL et al., 2019; FERDOUS & MUKTADIR, 2009). Assim, o zooplâncton tem papel ecológico importante nos ecossistemas, sendo a principal ligação entre os produtores primários e os níveis tróficos mais elevados da teia alimentar (FERDOUS & MUKTADIR, 2009; SOMMER et al., 2002; SUN et al., 2017).

Existem diferentes formas de alimentação no zooplâncton e a filtração é uma das principais (KIØRBOE, 2011; WIRTZ, 2012). Nesse grupo, essa forma de alimentação parece ser uma adaptação para se alimentar de partículas menores (SETÄLÄ, FLEMING-LEHTINEN & LEHTINIEMI, 2014). Porém, a sua região de alimentação é uma área diluída, e, para isso, é necessário a filtração de um volume de aproximadamente 10^6 vezes a de seu próprio corpo, por dia, para a manutenção nutricional das suas populações (KIØRBOE, 2011). Assim, esses animais estão em contato constante com partículas em suspensão no meio.

1.5.2 Interação do Zooplâncton com o Plástico

Devido à grande presença dos pequenos fragmentos plásticos nos ambientes marinhos e o seu tamanho reduzido, é presumível a interação do zooplâncton com esses materiais (COLE et al., 2013; BOTTERELL et al., 2019). Estudos realizados, em diferentes localidades do mundo, utilizando redes de coleta de zooplâncton, demonstraram a presença de pequenos fragmentos de plásticos em suas amostras (COLLINGNON et al., 2012; FRIAS, OTERO &

SOBRAL, 2014; MOORE et al., 2001), confirmando a ocorrência dessa interação. Consequentemente, os MPs e NPs podem ser confundidos com as presas ou ingeridos passivamente através da alimentação por filtração nestes animais (BOTTERELL et al., 2019).

Dessa forma, a ingestão aparenta ser a principal rota de entrada dos plásticos nestes organismos (WAN et al., 2018). Diferentes estudos confirmam a ingestão dessas partículas pelo zooplâncton, tanto em laboratório (LEE et al., 2013, COLE et al., 2013; SETÄLÄ, FLEMING-LEHTINEN & LEHTINIEMI, 2014), quanto no ambiente natural (SUN et al., 2017). Cole e colaboradores (2013) demonstraram que 13 táxons desse grupo foram capazes de ingerir, através da alimentação por filtração, micropartículas de poliestireno numa faixa de 1,4 a 30,6 μm de diâmetro. Além disso, Botterell e colaboradores (2019) encontraram 28 ordens taxonômicas do zooplâncton capazes de ingerir microplástico. Sun e colaboradores (2017) reportaram a ingestão de pequenos fragmentos de plástico do ambiente pelo zooplâncton em todos os pontos coletados, evidenciando a grande distribuição dessas partículas no ambiente (SUN et al, 2017).

Foley e colaboradores (2018) sugerem que o zooplâncton seja o grupo da biota mais suscetível aos efeitos tóxicos do plástico. A interação com estas partículas pode levar a efeitos deletérios nestes animais, tais como: alterações no comportamento alimentar; comprometimento do desenvolvimento e crescimento; redução da capacidade reprodutiva e sobrevivência (BOTTERELL et al, 2019; FOLEY et al., 2018; LEE et al., 2013). Somado a isso, a ingestão destas partículas pelo zooplâncton pode gerar consequências também para os ecossistemas. Devido ao seu importante papel como elemento chave de conexão da teia alimentar marinha, esses animais podem se tornar vetores destes contaminantes e levar a sua transferência para os demais níveis tróficos (figura 5) (COLE et al., 2013; FOLEY et al., 2018; SETÄLÄ, FLEMING-LEHTINEN & LEHTINIEMI, 2014; SUN et al., 2017) (Figura TAOKSOAKS). Portanto, é importante compreender os efeitos causados pelos plásticos em diferentes grupos do zooplâncton para estabelecer uma adequada avaliação ecológica do risco desses contaminantes (SUN et al., 2017).

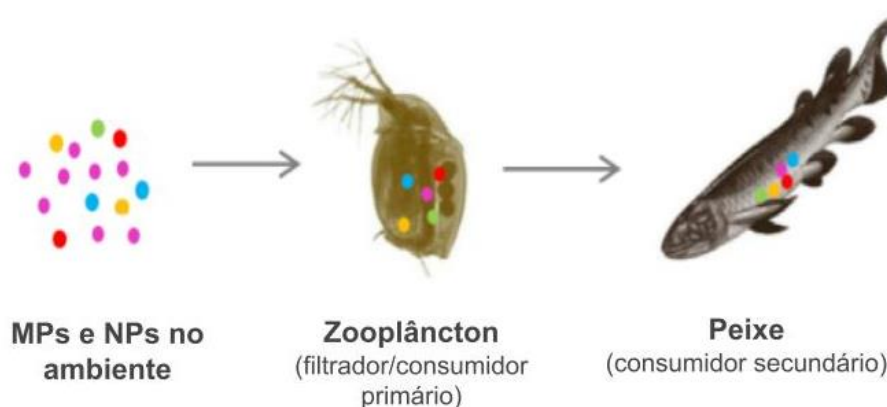


Figura 5 – Transferência trófica dos MPs e NPs no ambiente aquático. O zooplâncton é representado como importante conexão para a teia alimentar e é vetor para a transferências das partículas plásticas para o nível trófico seguinte. Adaptado de Kik e colaboradores (2020).

1.5.3 O Gênero *Artemia*

Os zooplânctons invertebrados, em particular os microcrustáceos, possuem destaque nos estudos ecotoxicológicos. Além dos motivos abordados acima, os invertebrados aquáticos são amplamente utilizados em estudos de avaliação toxicológica de risco devido a facilidade de manutenção laboratorial, a sensibilidade aos compostos, além de fatores éticos e econômicos (PIAZZA et al., 2012). A maioria dos protocolos para as investigações toxicológicas/ecotoxicológicas é direcionada a espécies de água doce, existindo poucos dados sobre organismos de água salgada (JOHARI et al., 2019; PIAZZA et al., 2012). Grande parte dos estudos ecotoxicológicos com zooplânctons são realizados com cladóceros, em particular com o gênero *Daphnia* (PIAZZA et al., 2012). Entretanto, é importante a ampliação dos estudos ecotoxicológicos para os ambientes de água salgada. Por esse motivo, alguns ensaios tem sido desenvolvidos com microcrustáceos de água salgada, com destaque para o gênero *Artemia* (MANFRA et al., 2016).

O gênero *Artemia* (subfilo Crustacea, classe Branchiopoda, ordem Anostraca), também conhecido como camarão de salmoura, é um microcrustáceo filtrador não seletivo (NUNES et al., 2006). Esse animal apresenta o corpo segmentado, dividido em cabeça, tórax e abdômen, sendo coberto por um exoesqueleto de quitina fino e flexível no qual os músculos estão ligados (CRIEL & MACRAE, 2002a). Na região torácica, cada um de seus segmentos apresenta um par de apêndices, os filópodes, que possuem função de natação, respiração e alimentação (DVORAK, BENOVA & VITEK, 2012). Na fase larval, esse animal apresenta um náuplio

com um corpo formado pela cabeça e um tórax curto, havendo na região cefálica um olho naupliar medial e dois pares de antenas, no qual o segundo par está ligado as funções de natação e alimentação (DVORAK, BENOVA & VITEK, 2012).

O desenvolvimento desses animais pode começar logo em seguida da postura dos ovos, ou pode haver a produção de cistos, quando as condições ambientais são desfavoráveis, podendo persistir viáveis por um longo período de tempo (CRIEL & MACRAE, 2002b; DVORAK, BENOVA & VITEK, 2012). Quando eclodidos, os animais passam pela fase de *umbrella*, em seguida um náuplio de natação livre é liberado no estágio Instar I e em algumas horas acontece a muda para o Instar II, momento em que a alimentação por filtração se inicia (figura 6) (TREECE, 2000). Os náuplios passaram por 15 ecdises até atingirem a fase adulta, dentro de um período de 8 dias (figura 6) (TREECE, 2000).

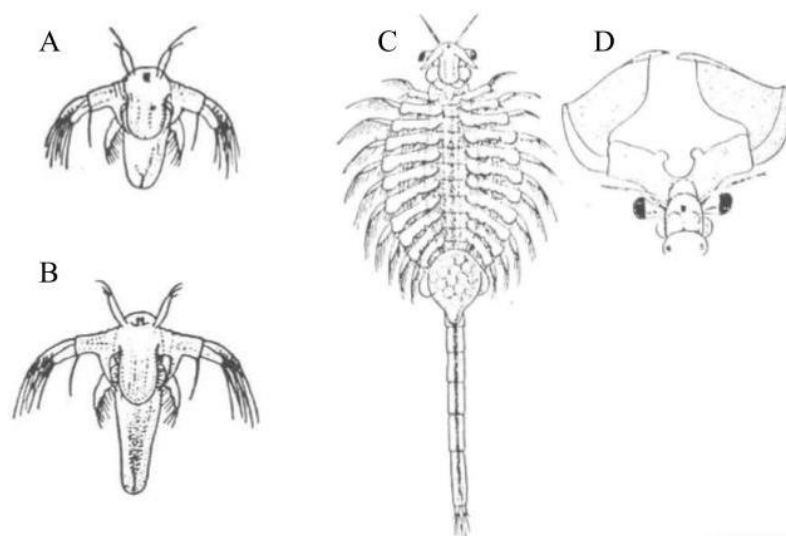


Figura 6. Principais estágios do desenvolvimento do gênero *Artemia* estudados na literatura. A: estágio Instar I; B: estágio Instar II; C: adulto fêmea; D: região cefálica do adulto macho. Adaptado de Ward-Booth & Reiss (1988).

Esse gênero contém sete espécies bissexuais: *A. salina*, *A. monica*, *A. urmiana*, *A. franciscana*, *A. persimilis*, *A. sinica* e *A. tibetana* (ASEM, RASTEGAR-POUYANI & RÍOS-ESCALANTE, 2010). Além disso, existem populações de artêmias partenogenéticas, comumente chamadas de *Artemia parthenogenetica*; porém, estas não representam uma única espécie (BAXEVANIS, KAPPAS & ABATZOPOULOS, 2006; KOS et al., 2016). Esse artrópode apresenta ampla distribuição mundial, sendo encontrado, nos cinco continentes, em lagos salinos e regiões costeiras (VANHAECKE, TACKAERT & SORGELOOS, 1987). Uma

das principais características dos representantes desse grupo é que, apesar de habitarem águas hipersalinas, são organismos eurialinos, tolerando uma ampla faixa de salinidade (de 5 a 250) (PERSOONE & WELLS, 1987). Ademais, estes organismos também apresentam tolerância a uma larga faixa de temperatura (6 a 35°C) (OLIVEIRA & VAZ, 2018).

1.5.4 O Gênero *Artemia* na Ecotoxicologia

A artêmia é usada como animal modelo em estudos sobre o efeito de diferentes compostos há mais de 60 anos. Em 1956, Michael, Thompson e Abramovitz publicaram um estudo no qual esse microcrustáceo foi considerado o melhor animal, entre os outros testados, para investigações toxicológicas em laboratório. A partir disso, houve um maior desenvolvimento dos estudos com esse animal, e em 1975 foram iniciados trabalhos na Bélgica que culminaram no surgimento do *Artemia Reference Center Test (ARC-test)*, protocolo visando padronizar as metodologias experimentais com esse crustáceo (LIBRALATO et al., 2016; PERSOONE & WELLS, 1987). Vanhaecke e colaboradores (1980), que faziam parte desse grupo belga, apontaram a artêmia como um organismo teste para a área da toxicologia aquática e selecionaram parâmetros metodológicos importantes que deveriam ser seguidos nos estudos. Posteriormente, em 1987, devido às suas características, Persoone e Wells também citam esse gênero como um modelo adequado para a área da ecotoxicologia. Atualmente, esse invertebrado é um dos principais organismos utilizados nos estudos ecotoxicológicos de ambientes salinos (LIBRALATO, 2014).

São diversos os fatores que levam as espécies do gênero *Artemia* a serem consideradas como organismos modelo para a ecotoxicologia. Além da relevância ecológica discutida anteriormente, diretamente correlacionada ao fato de serem organismos zooplantônicos, esses organismos apresentam características vantajosas para o desenvolvimento de estudos ecotoxicológicos. Entre os quais pode-se destacar: ampla distribuição global; disponibilidade de cistos comerciais que podem ser armazenados e utilizados por longos períodos de tempo; fácil cultivo e manutenção em laboratório; baixo custo; ciclo de vida curto (2 a 4 meses); tamanho reduzido (8 a 12 mm para os adultos); e amplo conhecimento sobre a ecologia e biologia dos animais (DVORAK, BENOVA & VITEK, 2012; LIBRALATO et al., 2016; MANFRA et al., 2012; NUNES et al., 2006; SORGELOOS, REMICHE-VAN DER WIELEN & PERSOONE, 1978; VANHAECKE et al., 1980).

Os estudos desenvolvidos nessa área apresentam dois tipos principais de testes de toxicidade: curta e longa duração (LIBRALATO et al., 2016). Os testes de curta duração (≤ 96 h) são mais utilizados e estão mais bem estabelecidos, já os estudos de longa duração (geralmente de 7 a 14 dias) têm apresentado maior desenvolvimento na última década (LIBRALATO et al., 2016; MANFRA et al., 2015). Entre os *endpoints* (indicadores de toxicidade) mais investigados, nos testes de curta, duração pode-se citar: a eclosão dos cistos; a imobilização das larvas; a natação; e a atividade de enzimas antioxidantes. Para os ensaio de longa duração, os principais *endpoints* são: o crescimento, a reprodução e a imobilização dos animais (LIBRALATO et al., 2016). Porém a falta de padronização dos protocolos, desde as condições de realização dos ensaios, tais como temperatura, salinidade, e estágios do desenvolvimento, além de outros, até as características das espécies de artêmias utilizadas, podem gerar resultados variados e conclusões divergentes, representando, atualmente, o principal obstáculo no uso desses organismos em estudos ecotoxicológicos (KOS et al., 2016; LIBRALATO, 2014; LIBRALATO et al., 2016; MANFRA et al., 2015). Entretanto, órgãos ambientais têm procurado estimular o uso de protocolos padrão para ensaios toxicológicos com o gênero *Artemia*, com destaque para os protocolos elaborados pelas agências ambientais dos EUA (ISO/TS 20787) e da Itália (APAT IRSA CNR 8060). Mais recentemente, outros autores têm reforçado a importância da padronização dos desenhos experimentais com fins toxicológicos para gênero (JOHARI et al., 2019). Assim, alguns autores sugerem que, desde que ocorra uma padronização nos procedimentos laboratoriais, o gênero *Artemia* pode responder adequadamente às diversas questões levantadas pela ecotoxicologia (NUNES et al., 2006), contribuindo, sobremaneira, para o desenvolvimento da área.

1.5.5 Estudos do Gênero *Artemia* com Partículas Plásticas

O estudo sobre os efeitos tóxicos de partículas plásticas no microcrustáceo *Artemia* encontra-se em expansão na área da ecotoxicologia. Com um começo recente, o primeiro estudo foi publicado em 2016 por Bergami e colaboradores (2016), utilizando nanopartículas de poliestireno. Até maio de 2021, foram publicados 19 trabalhos científicos abordando o efeito tóxico de MPs e NPs no gênero *Artemia*. Os principais alvos investigados nos estudos estão relacionados às consequências fisiológicas (BERGAMI et al., 2016; COLE, 2016; KIM et al., 2021; PEIXOTO et al., 2019; TRESTRAIL et al., 2020), morfológicas (KOKALJ, KUNEJ & SKALAR, 2018; WANG et al., 2019a,b), bioquímicas (EOM, NAM & RHEE, 2020; MISHRA

et al., 2019), genéticas (BERGAMI et al., 2017; SUMAN et al., 2020; VARÓ et al., 2019) e comportamentais (GAMBARDELLA et al., 2017; SENDRA et al., 2020) à exposição aos MPs e NPs. Além disso, alguns autores têm realizado estudos com abordagens experimentais visando cenários realísticos da interação desses contaminantes com o microcrustáceo (BATEL et al., 2016; BOUR et al., 2020; HAN et al., 2020; MACHADO et al., 2021).

Tais estudos têm contribuído para o entendimento do efeito de MPs e NPs de tamanhos, formatos, composições e funcionalizações químicas variadas sobre organismos zooplanctônicos. No entanto, por ser uma área ainda em desenvolvimento, questões relacionadas a padronizações metodológicas necessitam de ajustes para ampliar e aprofundar o entendimento do efeito de MPs e NPs sobre tais organismos.

Em suma, as investigações dos impactos de pequenos fragmentos plásticos no gênero *Artemia* se mostram relevantes não apenas no nível individual, mas também para a possível extrapolação para níveis organizacionais superiores, como populações, comunidades e o ecossistema como um todo. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica crítica e organizada dos estudos toxicológicos de MPs e NPs no gênero *Artemia*, apresentando os principais aspectos metodológicos empregados e os efeitos tóxicos observados, discutindo, ainda, as principais limitações e direcionamentos para futuras pesquisas.

2 REFERÊNCIAS

ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596-1605, 2011.

ASEM, A.; RASTEGAR-POUYANI, N.; DE LOS RÍOS-ESCALANTE, P. The genus *Artêmia* leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 38, n. 3, p. 501-506, 2010.

AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S. H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environment international**, v. 102, p. 165-176, 2017.

AVIO, C. G.; GORBI, S.; REGOLI, F. Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat. **Marine environmental research**, v. 128, p. 2-11, 2017.

BARNES, D. K. A. et al. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences**, v. 364, n. 1526, p. 1985-1998, 2009.

BATEL, A. et al. Transfer of benzo [a] pyrene from microplastics to *Artêmia* nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 35, n. 7, p. 1656-1666, 2016.

BAXEVANIS, A. D.; KAPPAS, I.; ABATZOPOULOS, T. J. Molecular phylogenetics and asexuality in the brine shrimp *Artêmia*. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 40, n. 3, p. 724-738, 2006.

BERGAMI, E. et al. Nano-sized polystyrene affects feeding, behavior and physiology of brine shrimp *Artêmia franciscana* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, p. 18-25, 2016.

BERGAMI, E. et al. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artêmia franciscana*. **Aquatic toxicology**, v. 189, p. 159-169, 2017.

BERGAMI, E. et al. Plastics everywhere: first evidence of polystyrene fragments inside the common Antarctic collembolan *Cryptopygus antarcticus*. **Biology letters**, v. 16, n. 6, p. 20200093, 2020.

BESSELING, E. et al. Microplastic in a macro filter feeder: humpback whale *Megaptera novaeangliae*. **Marine pollution bulletin**, v. 95, n. 1, p. 248-252, 2015.

BOTTERELL, Z. L.R. et al. Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. **Environmental Pollution**, v. 245, p. 98-110, 2019.

BOUR, A. et al. Synthetic Microfiber and Microbead Exposure and Retention Time in Model Aquatic Species Under Different Exposure Scenarios. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, p. 83, 2020.

BROWNE, M. A. et al. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). **Environmental science & technology**, v. 42, n. 13, p. 5026-5031, 2008.

CARPENTER, E. J.; SMITH, K. L. Plastics on the Sargasso Sea surface. **Science**, v. 175, n. 4027, p. 1240-1241, 1972.

CEDERVALL, T. et al. Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. **PloS one**, v. 7, n. 2, p. e32254, 2012.

COLE, M.. A novel method for preparing microplastic fibers. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2016.

COLE, M. et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588-2597, 2011.

COLE, M. et al. Microplastic ingestion by zooplankton. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 12, p. 6646-6655, 2013.

COLLIGNON, A. et al. Neustonic microplastic and zooplankton in the North Western Mediterranean Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 4, p. 861-864, 2012.

CRIEL, G. R.J.; MACRAE, T. H. Artêmia morphology and structure. In: **Artêmia: Basic and Applied Biology**. Springer, Dordrecht, 2002a. p. 1-37.

CRIEL, G. R. J.; MACRAE, T. H. Reproductive biology of Artêmia. In: **Artêmia: Basic and applied biology**. Springer, Dordrecht, 2002b. p. 39-128.

DA COSTA, J. P. et al. (Nano) plastics in the environment—sources, fates and effects. **Science of the Total Environment**, v. 566, p. 15-26, 2016.

DELLA TORRE, C. et al. Accumulation and embryotoxicity of polystyrene nanoparticles at early stage of development of sea urchin embryos *Paracentrotus lividus*. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 20, p. 12302-12311, 2014.

DVORAK, P.; BENOVA, K.; VITEK, J. Alternative biotest on *Artêmia franciscana*. **Ecotoxicology**, v. 146, p. 51-74, 2012.

ERIKSEN, M. et al. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PloS one**, v. 9, n. 12, p. e111913, 2014.

EOM, H; NAM, S.; RHEE, J. Polystyrene microplastics induce mortality through acute cell stress and inhibition of cholinergic activity in a brine shrimp. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 16, p. 233-243, 2020.

FENDALL, L. S.; SEWELL, M. A. Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. **Marine pollution bulletin**, v. 58, n. 8, p. 1225-1228, 2009.

FERDOUS, Z.; MUKTADIR, A. K. M. A review: potentiality of zooplankton as bioindicator. 2009.

FERREIRA, I. et al. Nanoplastics and marine organisms: what has been studied?. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 67, p. 1-7, 2019.

FOLEY, C. J. et al. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. **Science of the total environment**, v. 631, p. 550-559, 2018.

FRED-AHMADU, O. H. et al. Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. **Science of The Total Environment**, v. 706, p. 135978, 2020.

FRIAS, J. P. G. L.; OTERO, V.; SOBRAL, P. Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters. **Marine Environmental Research**, v. 95, p. 89-95, 2014.

GAMBARDELLA, C. et al. Effects of polystyrene microbeads in marine planktonic crustaceans. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 145, p. 250-257, 2017.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science advances**, v. 3, n. 7, p. e1700782, 2017.

GIGAULT, J. et al. Current opinion: What is a nanoplastic? **Environmental pollution**, v. 235, p. 1030-1034, 2018.

GUERRANTI, C. et al. Microplastics in cosmetics: Environmental issues and needs for global bans. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 68, p. 75-79, 2019.

HAN, X. et al. Effect of polystyrene microplastics and temperature on growth, intestinal histology and immune responses of brine shrimp *Artêmia franciscana*. **Journal of Oceanology and Limnology**, p. 1-10, 2020.

HOLMES, L. A.; TURNER, A.; THOMPSON, R. C. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. **Environmental Pollution**, v. 160, p. 42-48, 2012.

IRSA-CNR, A. P. A. T. 8030 Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti. **Metodi analitici per le acque-Volume Terzo (in italian)**, 2003.

ISO/TS 20787 (2017) Nanotechnologies - Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artêmia* sp. Nauplii. ISO, Geneva, p 15

JAMBECK, J. R. et al. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, v. 347, n. 6223, p. 768-771, 2015.

JOHARI, S. A. et al. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artêmia* sp. nauplii. **Toxicology mechanisms and methods**, v. 29, n. 2, p. 95-109, 2019.

KAHRU, A.; DUBOURGUIER, H. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. **Toxicology**, v. 269, n. 2-3, p. 105-119, 2010.

KIM, L. et al. Synthetic and natural microfibers induce gut damage in the brine shrimp *Artêmia franciscana*. **Aquatic Toxicology**, v. 232, p. 105748, 2021.

KIØRBOE, T. How zooplankton feed: mechanisms, traits and trade-offs. **Biological reviews**, v. 86, n. 2, p. 311-339, 2011.

KOELMANS, A. A.; BESSELING, E.; SHIM, W. J. Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review. **Marine anthropogenic litter**, p. 325-340, 2015.

KOKALJ, A. J.; KUNEJ, U.; SKALAR, T.. Screening study of four environmentally relevant microplastic pollutants: uptake and effects on *Daphnia magna* and *Artêmia franciscana*. **Chemosphere**, v. 208, p. 522-529, 2018.

KOS, M. et al. A case study to optimise and validate the brine shrimp *Artêmia franciscana* immobilisation assay with silver nanoparticles: The role of harmonisation. **Environmental Pollution**, v. 213, p. 173-183, 2016.

KUMAR, G. A. et al. Review on plastic wastes in marine environment–Biodegradation and biotechnological solutions. **Marine Pollution Bulletin**, v. 150, p. 110733, 2020.

LEBRETON, L.; ANDRADY, A. Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. **Palgrave Communications**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2019.

LEE, K. et al. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 19, p. 11278-11283, 2013.

LIBRALATO, G. The case of *Artêmia* spp. in nanoecotoxicology. **Marine environmental research**, v. 101, p. 38-43, 2014.

LIBRALATO, G. et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artêmia* spp. **Ecological indicators**, v. 69, p. 35-49, 2016.

LI, P. et al. Characteristics of plastic pollution in the environment: A review. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, p. 1-8, 2020.

LOOS, C. et al. Functionalized polystyrene nanoparticles as a platform for studying bio–nano interactions. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 5, n. 1, p. 2403-2412, 2014.

MACHADO, A. J. T. et al. Single and combined toxicity of amino-functionalized polystyrene nanoparticles with potassium dichromate and copper sulfate on brine shrimp *Artêmia franciscana* larvae. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-18, 2021.

MANFRA, L. et al. Intercalibration of ecotoxicity testing protocols with *Artêmia franciscana*. **Ecological Indicators**, v. 57, p. 41-47, 2015.

MANFRA, L. et al. Lethal and sublethal endpoints observed for *Artêmia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 123, p. 60-64, 2016.

MANFRA, L. et al. Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artêmia franciscana*. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 62, p. e3790, 2012.

MANFRA, L. et al. Comparative ecotoxicity of polystyrene nanoparticles in natural seawater and reconstituted seawater using the rotifer *Brachionus plicatilis*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 145, p. 557-563, 2017.

MATO, Y. et al. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. **Environmental science & technology**, v. 35, n. 2, p. 318-324, 2001.

MATTSSON, K. et al. Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 1, p. 553-561, 2015.

MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ, M. *Artêmia salina* as a test organism for bioassay. **Science**, v. 123, n. 3194, p. 464-464, 1956.

MISHRA, P. et al. Distinctive impact of polystyrene nano-spherules as an emergent pollutant toward the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 1537-1547, 2019.

MOORE, C. J. et al. A comparison of plastic and plankton in the North Pacific central gyre. **Marine pollution bulletin**, v. 42, n. 12, p. 1297-1300, 2001.

MOORE, C. J. Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. **Environmental research**, v. 108, n. 2, p. 131-139, 2008.

MORAIS, L. M. S. et al. The sea anemone *Bunodosoma cangicum* as a potential biomonitor for microplastics contamination on the Brazilian Amazon coast. **Environmental Pollution**, v. 265, p. 114817, 2020.

MURANO, C. et al. How sea urchins face microplastics: uptake, tissue distribution and immune system response. **Environmental Pollution**, v. 264, p. 114685, 2020.

NUNES, B. S. et al. Use of the genus *Artêmia* in ecotoxicity testing. **Environmental pollution**, v. 144, n. 2, p. 453-462, 2006.

OLIVEIRA, T. M. N.; VAZ, C. Marine toxicology: Assays and perspectives for developing countries. In: **Bioassays**. Elsevier, 2018. p. 387-401.

PEIXOTO, D. et al. Uptake and effects of different concentrations of spherical polymer microparticles on *Artêmia franciscana*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 176, p. 211-218, 2019.

PERSOONE, G.; WELLS, Peter G. *Artêmia* in aquatic toxicology: a review. **Artêmia research and its applications**, v. 1, p. 259-275, 1987.

PIAZZA, V. et al. A standardization of *Amphibalanus* (*Balanus*) *amphitrite* (Crustacea, Cirripedia) larval bioassay for ecotoxicological studies. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 79, p. 134-138, 2012.

PICCARDO, M.; RENZI, M.; TERLIZZI, A. Nanoplastics in the oceans: Theory, experimental evidence and real world. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111317, 2020.

PINSINO, A. et al. Amino-modified polystyrene nanoparticles affect signalling pathways of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*) embryos. **Nanotoxicology**, v. 11, n. 2, p. 201-209, 2017.

PLASTICS EUROPE, E. P. R. O. Plastics—the facts 2019. An analysis of European plastics production, demand and waste data. Plastics Europe, 2019.

PLASTICS EUROPE, E. P. R. O. Plastics—the facts 2020. An analysis of European plastics production, demand and waste data. Plastics Europe, 2020.

ROSSI, G.; BARNOUD, J.; MONTICELLI, L. Polystyrene nanoparticles perturb lipid membranes. **The journal of physical chemistry letters**, v. 5, n. 1, p. 241-246, 2014.

RHODES, C. J. Plastic pollution and potential solutions. **Science progress**, v. 101, n. 3, p. 207-260, 2018.

RYBERG, M. W. et al. Mapping of global plastics value chain and plastics losses to the environment. **With a Particular Focus on Marine Environment**, 2018.

SCHMID, C.; COZZARINI, L.; ZAMBELLO, E. Microplastic's story. **Marine Pollution Bulletin**, p. 111820, 2020.

SENDRA, M. et al. Ingestion and bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effects on the microalgal feeding of *Artêmia franciscana*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 188, p. 109853, 2020.

SETÄLÄ, O.; FLEMING-LEHTINEN, V.; LEHTINIEMI, M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. **Environmental pollution**, v. 185, p. 77-83, 2014.

SETÄLÄ, O.; NORKKO, J.; LEHTINIEMI, M. Feeding type affects microplastic ingestion in a coastal invertebrate community. *Marine pollution bulletin*, v. 102, n. 1, p. 95-101, 2016.

SHEN, M. et al. Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: A review. **Environmental pollution**, v. 252, p. 511-521, 2019.

SINGH, B.; SHARMA, N. Mechanistic implications of plastic degradation. **Polymer degradation and stability**, v. 93, n. 3, p. 561-584, 2008.

SOMMER, U. et al. Pelagic food web configurations at different levels of nutrient richness and their implications for the ratio fish production: primary production. In: **Sustainable increase**

of marine harvesting: Fundamental mechanisms and new concepts. Springer, Dordrecht, 2002. p. 11-20.

SORGELOOS, P.; REMICHE-VAN DER WIELEN, C.; PERSOONE, G.. The use of *Artêmia* nauplii for toxicity tests—a critical analysis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 2, n. 3-4, p. 249-255, 1978.

SUMAN, T. Y. et al. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on brine shrimp: First evidence highlighting the molecular mechanism through transcriptome analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123220, 2020.

SUN, X. et al. Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 115, n. 1-2, p. 217-224, 2017.

THOMPSON, R. C. et al. Our plastic age. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, p. 1973-1976, 2009.

TREECE, G. D. **Artêmia production for marine larval fish culture.** Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center, 2000.

TRESTRAIL, C. et al. Foaming at the mouth: Ingestion of floral foam microplastics by aquatic animals. **Science of The Total Environment**, v. 705, p. 135826, 2020.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 1, n. 2, p. 151-173, 1977.

VAN CAUWENBERGHE, L. et al. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. **Environmental pollution**, v. 199, p. 10-17, 2015.

VANHAECKE, P. et al. Research on the development of a short term standard toxicity test with *Artêmia* nauplii. 1980.

VANHAECKE, P.; TACKAERT, W.; SORGELOOS, P. The biogeography of *Artêmia*: an updated review. **Artêmia research and its applications**, v. 1, p. 129-155, 1987.

VARÓ, I. et al. Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp *Artêmia franciscana* at physiological, biochemical and molecular levels. **Science of the Total Environment**, v. 675, p. 570-580, 2019.

WAN, J. et al. Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 246**, p. 133-158, 2018.

WANG, Y. et al. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artêmia parthenogenetica*. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 715-722, 2019a.

WANG, Y. et al. The uptake and elimination of polystyrene microplastics by the brine shrimp, *Artêmia parthenogenetica*, and its impact on its feeding behavior and intestinal histology. **Chemosphere**, v. 234, p. 123-131, 2019b.

WARD-BOOTH, K.; REISS, M. *Artemia salina*: an easily cultured invertebrate ideally suited for ecological studies. **Journal of Biological Education**, v. 22, n. 4, p. 247-251, 1988.

WIRTZ, K. W. Who is eating whom? Morphology and feeding type determine the size relation between planktonic predators and their ideal prey. **Marine Ecology Progress Series**, v. 445, p. 1-12, 2012.

WORM, B. et al. Plastic as a persistent marine pollutant. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 42, 2017.

WU, P. et al. Environmental occurrences, fate, and impacts of microplastics. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 184, p. 109612, 2019.

3 ARTIGO CIENTÍFICO (MANUSCRITO)

Manuscrito formatado para ser traduzido e submetido à revista *Journal of Crustacean Biology* como artigo de revisão da literatura.

Uso do gênero *Artemia* na investigação dos efeitos tóxicos de micro e nanoplásticos

Catarina Serrão¹ e Luis Fernando Marques-Santos¹

¹*Laboratório de Biologia Celular e do Desenvolvimento (LABID), Departamento de Biologia Molecular (DBM), Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba (UFPB, Campus I), Cidade Universitária s/n, Castelo Branco, CEP, João Pessoa, PB 58051-900, Brasil*

RESUMO

A poluição por plástico é uma grande preocupação para o ecossistema, em especial ao marinho, que é destino final dos resíduos plásticos produzidos pela população. Devido ao seu tamanho reduzido, o micro (MP) e nanoplástico (NP) possuem grande potencial de interação com diversos organismos. Entre esses está o gênero *Artemia*, que são microcrustáceos zooplânctônicos filtradores não seletivos. Esse animal representa o zooplâncton, um importante grupo para a teia alimentar, pois faz a conexão entre os produtores primários e os consumidores secundários. Além disso, a artemia é utilizada a bastante tempo na ecotoxicologia. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi revisar os conhecimentos obtidos pelos estudos dessas partículas plásticas com esses microcrustáceos, apontando os principais aspectos metodológicos utilizados e os efeitos encontrados, além de demonstrar a importância desses trabalhos, as principais limitações e oferecer direcionamentos para as futuras pesquisas. Foram encontrados 19 estudos sobre o tema, que ainda está no começo e em expansão. A partir disso, foram analisados 21 parâmetros diferentes, separados em 4 tabelas de acordo com o tema abordado: características das partículas plásticas, particularidades gerais das artêmias, metodologias das culturas e parâmetros toxicológicos analisados. Foi possível perceber que as principais lacunas nos estudos são em relação a padronização metodológica e desenvolvimento de pesquisas que avaliem cenários realísticos de exposição. Além disso, ficou claro que o MP e NP são prejudiciais para o zooplâncton e, assim, podem gerar impactos também para o ecossistema. Portanto, devido à sua posição ecológica na base da cadeia alimentar e a facilidade de utilização em laboratório, as artêmias são animais estratégicos para pesquisas investigando os efeitos desses poluentes e devem ser utilizados em pesquisas futuras.

Palavras-chave: camarão de salmoura, cenários realísticos de exposição, ecotoxicologia, transferência trófica, zooplâncton

INTRODUÇÃO

Os plásticos são polímeros orgânicos sintéticos ou semi-sintéticos, maleáveis e que podem ser moldados em formas diversas (Da Costa *et al.*, 2016). Devido às suas vantagens, como versatilidade e durabilidade, e por apresentar uma grande produção global, esse material faz parte do cotidiano da sociedade humana, o que leva alguns autores a considerarem que nos encontramos na “Era dos Plásticos” (Avio *et al.*, 2017). Somente no ano 2019 foram fabricadas 368 milhões de toneladas (Mt) de plásticos, sendo seu principal uso em embalagens descartáveis (Plastics Europe, 2020).

Devido às suas propriedades químicas e aparente ausência de toxicidade, o plástico era considerado um material inerte, tendo como consequência o uso e descarte desordenado (Worm *et al.*, 2017). Estima-se que 60% de todo o plástico já produzido no mundo foi descartado e está se acumulando no ambiente (Geyer *et al.*, 2017). Dessa forma, as mesmas características que trazem os benefícios do plástico são as que o tornam um contaminante persistente, pois tornam a sua degradação difícil, levando ao seu acúmulo no ambiente por longos períodos de tempo (Da Costa *et al.*, 2016; Geyer *et al.*, 2017; Worm *et al.*, 2017; Rhodes, 2018; Kumar *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

Neste contexto, os ambientes estuarinos e marinhos são uma grande preocupação para órgãos ambientais e para a comunidade científica, pois são os principais destinos finais desses polímeros (Ferreira *et al.*, 2019; Lebreton & Andrady, 2019). Observações sobre a presença de plástico no ecossistema marinho já foram reportadas em diversas regiões, indo de áreas costeiras altamente poluídas até regiões remotas, como locais de grande profundidade nos oceanos (Thompson *et al.*, 2009) e até mesmo no continente Antártico (Bergami *et al.*, 2020).

Os plásticos podem ser classificados de acordo com seu tamanho em: macroplástico (>200 mm); mesoplástico (5-200 mm); microplástico (1-5 mm); pequeno microplástico (25 µm

a 1 mm); e nanoplástico (1-100 nm ou 1-1.000 nm) (Eriksen *et al.*, 2014; Koelmans *et al.*, 2015; Da Costa *et al.*, 2016; Worm *et al.*, 2017; Gigault *et al.*, 2018).

Os micro (MPs) e nanoplásticos (NPs) podem ser definidos como primários ou secundários, dependendo da sua origem. Os primários são aqueles fabricados na escala micro ou nanométrica (Cole *et al.*, 2011; Piccardo *et al.*, 2020). Diversos itens utilizam estes materiais na sua composição, como cosméticos, produtos biomédicos e de diagnósticos médicos e eletrônicos (Fendall & Sewell, 2009; Guerranti *et al.*, 2019; Koelmans *et al.*, 2015). Tais plásticos podem ser liberados pelos produtos e aplicações, atingindo os ecossistemas aquáticos pelo escoamento (Andrady *et al.*, 2011; Koelmans *et al.*, 2015).

Os plásticos secundários se originam a partir da degradação de partículas maiores (como macro e mesoplásticos), em fragmentos menores, sob condições ambientais (Andrady *et al.*, 2011; Piccardo *et al.*, 2020). A foto-oxidegradação (decomposição do composto pela ação da luz) é capaz de quebrar as ligações químicas da cadeia de polímeros (Andrady *et al.*, 2011; Singh & Sharma, 2008). Essa quebra leva ao enfraquecimento do polímero, que em combinação com ações físicas (como atrito, vento e ondas) produzem partículas menores (Avio *et al.*, 2017; Koelmans *et al.*, 2015).

Estudos avaliando a presença dos MPs no ambiente marinho passaram a ter mais destaque a partir dos anos 2000 (Auta *et al.*, 2017). Dessa forma, os MPs deixaram de ser considerados apenas contaminantes emergentes, para serem tratados como ameaça emergente pela ecotoxicologia (Avio *et al.*, 2017). No entanto, os NPs são considerados potencialmente mais danosos para os sistemas biológicos (Da costa *et al.*, 2016; Koelmans *et al.*, 2015). Principalmente devido ao seu tamanho reduzido, estas partículas entram mais facilmente em contato com os constituintes da biota marinha, além de serem capazes de cruzar barreiras biológicas e de interagir a nível celular (Loos *et al.*, 2014; Piccardo *et al.*, 2020; Rossi *et al.*, 2014).

Estudos ecotoxicológicos tem demonstrado impactos negativos de MPs e NPs sobre uma ampla diversidade de espécies (Botterell *et al.*, 2019). Seu tamanho reduzido facilita a ingestão ou internalização e acúmulo destas partículas em vários organismos (Foley *et al.*, 2018; Setälä *et al.*, 2014; Wan *et al.*, 2018). Entre os táxons mais estudados estão: cnidários (Morais *et al.*, 2020); crustáceos (Cole *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2017); rotíferos (Manfra *et al.*, 2017); anelídeos (Van Cauwenberghe, *et al.*, 2015); moluscos (Browne *et al.*, 2008; Setälä *et al.*, 2016); equinodermos (Murano *et al.*, 2020); e mamíferos marinhos (Besseling *et al.*, 2015). Além do acúmulo das partículas nos organismos, a possibilidade de propagação para outros táxons, através da transferência trófica, é preocupante (Batel *et al.*, 2016; Cedervall *et al.*, 2012; Mattson *et al.*, 2014; Setälä *et al.*, 2014).

Além disso, efeitos deletérios do acúmulo de MPs e NPs também têm sido reportados em diferentes organismos, afetando, principalmente, a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução (Della Torre *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2013; Pinsino *et al.*, 2017; Trestrail *et al.*, 2020; Wan *et al.*, 2018). Somado a isso, por apresentarem uma grande área de superfície em relação ao volume, e natureza hidrofóbica, estas partículas possuem uma elevada capacidade de adesão de outros compostos na sua superfície, como poluentes orgânicos persistentes (POPs) e metais pesados (Holmes *et al.*, 2012; Mato *et al.*, 2001; Wan *et al.*, 2018). Assim, o MP e NP não impactam os ecossistemas apenas como partículas isoladas, mas também como vetores de diferentes compostos notoriamente tóxicos (Mato *et al.*, 2001). Ademais, os aditivos que são adicionados ao plástico, para melhorar algumas de suas características, e os monômeros podem ser lixiviados da partícula e também são potencialmente danosos a biota (Fred-Ahmadu *et al.*, 2020).

O zooplâncton é um grupo de pequenos organismos aquáticos presentes em ambientes marinhos ou de água doce (Ferdous & Muktadir, 2009) e apresenta grande diversidade morfológica e taxonômica (Kjørboe, 2011). A sua principal fonte de alimento é o fitoplâncton.

Por esse motivo, o zooplâncton tem papel ecológico importante nos ecossistemas aquáticos, sendo a principal ligação entre os produtores primários e os níveis tróficos mais elevados da teia alimentar (Ferdous & Muktadir, 2009; Sommer *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2017).

A filtração é uma das principais formas de alimentação do grupo (Kiørboe, 2011; Wirtz, 2012). Porém, a sua região de alimentação é uma área diluída, e, para isso, é necessário a filtração de um volume de aproximadamente 10^6 vezes a de seu próprio corpo, por dia, para sua manutenção nutricional (Kiørboe, 2011). Assim, esses animais estão em contato constante com partículas em suspensão no meio.

Devido à grande presença dos pequenos fragmentos plásticos nos ambientes marinhos e o seu tamanho reduzido, é presumível a interação do zooplâncton com esses materiais (Cole *et al.*, 2013; Botterell *et al.*, 2019). Consequentemente, os MPs e NPs podem ser confundidos com as presas ou ingeridos passivamente através da alimentação por filtração nestes animais (Botterell *et al.*, 2019). Dessa forma, a ingestão aparenta ser a principal rota de entrada dos plásticos nestes organismos (Wan *et al.*, 2018). Diferentes estudos confirmam a ingestão dessas partículas pelo zooplâncton, tanto em laboratório (Lee *et al.*, 2013, Cole *et al.*, 2013; Setälä *et al.*, 2014), quanto no ambiente natural (Sun *et al.*, 2017).

Assim, Foley e colaboradores (2018) sugerem que o zooplâncton seja o grupo da biota mais suscetível aos efeitos tóxicos do plástico. A interação com estas partículas pode levar a efeitos deletérios nestes animais, tais como: alterações no comportamento alimentar; comprometimento do desenvolvimento e crescimento; redução da capacidade reprodutiva e sobrevivência (Botterell *et al.*, 2019; Foley *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2013). Somado a isso, a ingestão destas partículas pelo zooplâncton pode gerar consequências também para os ecossistemas. Devido ao seu importante papel como elemento chave de conexão da teia alimentar marinha, esses animais podem se tornar vetores destes contaminantes e levar a sua transferência para os demais níveis tróficos (Cole *et al.*, 2013; Foley *et al.*, 2018; Setälä *et al.*, 2014; Sun *et al.*,

2017). Portanto, é importante compreender os efeitos causados pelos plásticos em diferentes grupos do zooplâncton para estabelecer uma adequada avaliação ecológica do risco desses contaminantes (Sun *et al.*, 2017).

Os zooplânctons invertebrados, em particular os microcrustáceos, possuem destaque nos estudos ecotoxicológicos. Além dos motivos abordados acima, os invertebrados aquáticos são amplamente utilizados nesses estudos devido a facilidade de manutenção laboratorial, a sensibilidade aos compostos, além de fatores éticos e econômicos (Piazza *et al.*, 2012). A maioria dos protocolos para as investigações toxicológicas/ecotoxicológicas é direcionada a espécies de água doce, existindo poucos dados sobre organismos de água salgada (Johari *et al.*, 2019; Piazza *et al.*, 2012). Entretanto, é importante a ampliação dos estudos ecotoxicológicos para os ambientes salinos. Por esse motivo, alguns ensaios tem sido desenvolvidos com microcrustáceos de água salgada, com destaque para o gênero *Artemia* (Manfra *et al.*, 2016).

O gênero *Artemia* (subfilo Crustacea, classe Branchiopoda, ordem Anostraca), também conhecido como camarão de salmoura, é um microcrustáceo filtrador não seletivo (Nunes *et al.*, 2006). Esse gênero contém sete espécies bissexuais: *A. salina*, *A. monica*, *A. urmiana*, *A. franciscana*, *A. persimilis*, *A. sinica* e *A. tibetana* (Asem *et al.*, 2010). Além disso, existem populações de artêmias partenogenéticas, comumente chamadas de *Artemia parthenogenetica* (Baxevanis *et al.*, 2006). Esse artrópode apresenta ampla distribuição mundial, sendo encontrado, nos cinco continentes, em lagos salinos e regiões costeiras (Vanhaecke *et al.*, 1987). Uma das principais características dos representantes desse grupo é que, apesar de habitarem águas hipersalinas, são organismos eurialinos, tolerando uma ampla faixa de salinidade (de 5 a 250) (Persoone & Wells, 1987). Ademais, estes organismos também apresentam tolerância a uma larga faixa de temperatura (6 a 35°C) (Oliveira & Vaz, 2018).

Atualmente, esse invertebrado é um dos principais organismos utilizados nos estudos ecotoxicológicos de ambientes salinos (Libralato, 2014), sendo considerado organismo modelo

para essa área. Além da relevância ecológica discutida anteriormente, por serem representantes do zooplâncton, esses organismos apresentam características vantajosas para o desenvolvimento de estudos ecotoxicológicos. Entre os quais pode-se destacar: ampla distribuição global; disponibilidade de cistos comerciais que podem ser armazenados e utilizados por longos períodos de tempo; fácil cultivo e manutenção em laboratório; baixo custo; ciclo de vida curto (2 a 4 meses); tamanho reduzido (8 a 12 mm para os adultos); e amplo conhecimento sobre a ecologia e biologia dos animais (Dvorak *et al.*, 2012; Libralato *et al.*, 2016; Manfra *et al.*, 2012; Nunes *et al.*, 2006; Sorgeloos *et al.*, 1978; Vanhaecke *et al.*, 1980).

Órgãos ambientais têm procurado estimular o uso de protocolos padrão para ensaios toxicológicos com o gênero *Artemia*, com destaque para os protocolos elaborados pelas agências ambientais dos EUA (ISO/TS 20787) e da Itália (APAT IRSA CNR 8060). Mais recentemente, outros autores tem reforçado a importância da padronização dos desenhos experimentais com fins toxicológicos para o gênero (Kos *et al.*, 2016; Johari *et al.*, 2019). Assim, desde que ocorra uma padronização nos procedimentos laboratoriais, o gênero *Artemia* pode responder adequadamente às diversas questões levantadas pela ecotoxicologia (Nunes *et al.*, 2006), contribuindo, sobremaneira, para o desenvolvimento da área.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica crítica e organizada dos estudos toxicológicos de MPs e NPs no gênero *Artemia*, apresentando os principais aspectos metodológicos empregados e os efeitos tóxicos observados, discutindo, ainda, as principais limitações e direcionamentos para futuras pesquisas.

COLETA DE DADOS

Para a realização de uma ampla análise dos estudos publicados sobre os efeitos de partículas plásticas no microcrustáceo do gênero *Artemia*, foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas

base de dados das plataformas PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), SciELO (<https://www.scielo.org/>), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>), Portal de Periódicos CAPES (<https://periodicos.capes.gov.br/>) e Google Scholar (<https://scholar.google.com.br/>). A pesquisa foi feita a partir da combinações das seguintes palavras-chave: “*Artemia* + *plastic*”, “*Artemia* + *microplastic*”, “*Artemia* + *nanoplastic*”, “*brine shrimp* + *plastic*”, “*brine shrimp* + *microplastic*” e “*brine shrimp* + *nanoplastic*”. A presença desses termos foi considerada nos títulos, nas palavras-chave e nos resumos dos trabalhos. Foram selecionados todos os estudos que apresentavam experimentos reportando *endpoints* relacionados diretamente ao microcrustáceo. Os resultados, aqui apresentados, referem-se aos estudos publicados até o mês de maio de 2021.

A partir do levantamento bibliográfico foram produzidas 4 tabelas com 21 diferentes parâmetros. Os parâmetros foram agrupados, nas tabelas, de acordo com os seguintes tópicos: i) características das partículas plásticas; ii) particularidades gerais das artêmias; iii) metodologias das culturas e; iv) parâmetros toxicológicos analisados. As terminologias e conceitos utilizados para a descrição dos parâmetros estão de acordo com aqueles utilizados nos estudos originais.

CARACTERÍSTICAS DAS PARTÍCULAS PLÁSTICAS

Foram encontrados 19 trabalhos que investigaram efeitos de partículas plásticas no microcrustáceo do gênero *Artemia*. Não foram encontrados trabalhos de revisão sobre o tema. Os estudos englobam 3 tipos de partículas plásticas: nanoplásticos, microplásticos e microfibras (MFs) (Tabela 1). As partículas plásticas mais estudada foram os MPs, totalizando 11 estudos, seguida dos NPs (6 estudos) e das MFs (3 estudos).

O predomínio de estudos com MPs pode ser explicado pelo fato destas partículas terem ganho muito destaque a partir dos anos 2000 (Auta *et al.*, 2017), quando as investigações sobre os efeitos nocivos de MPs aumentaram exponencialmente (Avio *et al.*, 2017; Da Costa *et al.*, 2016). Os estudos com NPs só passaram a ser desenvolvidos mais recentemente, após a percepção de que tais partículas são potencialmente mais danosas aos sistemas biológicos (Koelmans *et al.*, 2015; Da Costa *et al.*, 2016). Assim, a tendência atual nos estudos dos efeitos tóxicos de fragmentos de plásticos é uma ampliação dos estudos com NPs. Entretanto, é importante salientar que estudos sobre o efeito de partículas plásticas sobre artêmias ainda são muito incipientes.

Com relação às MFs, ainda há debates sobre a sua classificação, mas o presente trabalho segue a recomendação de Schmid e colaboradores (2021), considerando MFs como parte do microplástico, sendo diferenciadas pelo seu formato mais alongado em comprimento, e reduzido no diâmetro. Apesar das MFs se encontrarem entre os tipos de partículas plásticas mais encontradas no ambiente (Cole, 2016), as partículas esféricas (MPs ou NPs) apresentam maior destaque nos estudos com o gênero *Artemia*. Esse fato não se restringe aos estudos com o gênero *Artemia*, podendo, também, ser observado nos demais trabalhos sobre o efeito de partículas plásticas em organismos aquáticos (Cole, 2016). Assim, devido à sua abundância ambiental, mais estudos devem ser realizados visando o entendimento do efeito de MFs sobre organismos zooplantônicos, e o gênero *Artemia* pode contribuir para a ampliação do conhecimento sobre os efeitos de tais partículas no zooplâncton.

Foi observada uma variação na composição química dos plásticos utilizados nos estudos toxicológicos. Sete tipos de polímeros foram encontrados, além de um tipo não informado: poliestireno (PS), polietileno (PE), polietileno tereftalato/poliéster (PET), polipropileno (PP), FMR (microesferas fluorescentes vermelhas; composto de amido formaldeído), nylon (poliamida) e fenol-formaldeído (Tabela 1). O polímero mais utilizado foi

o PS (12 estudos), seguido do PE e PET (3 estudos cada) e PP, FMR, nylon, fenol-formaldeído e o não informado (1 estudo cada). Com relação aos NPs, todos os trabalhos foram realizados com PS. Ainda sobre as nanopartículas de PS, dos 6 estudos analisados, 4 especificaram a funcionalização das partículas (-NH₂ e -COOH). Desses, 2 estudos utilizaram os dois tipos e 2 estudos apenas o -NH₂.

Entre os tipos de plásticos estudados, quatro deles (PP, PE, PS e PET) estão entre os mais produzidos (Plastics Europe, 2020). Além disso, o PS, PP e PE são os principais tipos de polímeros encontrados nos ecossistemas aquáticos (Wan *et al.*, 2018). Assim, o delineamento das pesquisas está de acordo com a relevância ecotoxicológica das partículas investigadas, uma vez que tais polímeros são utilizados em larga escala, além de apresentarem elevada persistência ambiental.

O presente trabalho mostra que PS foi o polímero de maior destaque nos estudos avaliados. Piccardo e colaboradores (2020) apontam que cerca de 97% das pesquisas são realizadas com esse polímero. Dos 224 trabalhos analisados pelos autores, apenas 7 foram com polímeros diferentes. Algumas razões são propostas para o largo predomínio de estudos com PS, dentre essas, pode-se destacar o baixo custo e maior disponibilidade dos MPs e NPs de PS no mercado (Piccardo *et al.*, 2020). Além disso, elas podem ser fabricadas em uma ampla faixa de tamanhos (Loos *et al.*, 2014). Portanto, é preciso diversificar os estudos toxicológicos, incluindo outros polímeros plásticos para que tenhamos um entendimento mais amplo dos efeitos destes contaminantes sobre a biota, e, em particular, sobre o zooplâncton.

Nesse contexto, pode-se observar ainda que os estudos realizados com NPs em *Artemia* se restringem ao PS. Esse fato pode estar relacionado aos aspectos acima abordados e está de acordo com o que é observado nos estudos ecotoxicológicos com outros grupos taxonômicos. Shen e colaboradores (2019) mostraram que 82% dos trabalhos sobre o efeito de NPs em diversos organismos foram realizados com PS. Os autores apontam a dificuldade na síntese de

outros tipos de polímeros em escala nanométrica para a escassez de estudos com tais nanopartículas (Shen *et al.*, 2019).

A funcionalização das nanopartículas de PS, ou seja, o grupamento funcional presente na superfície da partícula, foi outro ponto abordado nos estudos, pois estas são um modelo adequado para investigações sobre o efeito da funcionalização na toxicidade de NPs (Loos *et al.*, 2014). As nanopartículas de PS são divididas em catiônica (-NH₂), aniônica (-COOH) e neutra (Casado *et al.*, 2013). Apesar de ainda ser pouco investigada, a funcionalização das nanopartículas é importante, pois o efeito das nanopartículas sobre os sistemas biológicos é influenciado pelas características químicas da superfície destas (Loos *et al.*, 2014; Bergami *et al.*, 2016). Della Torre e colaboradores (2014) mostraram que a funcionalização das nanopartículas de PS é determinante para os efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento embrionário do ouriço-do-mar Mediterrâneo *Paracentrotus lividus*. Relações entre a funcionalização de nanopartículas de PS sobre efeito tóxico no microcrustáceo *Artemia* também foram descritas (Bergami *et al.*, 2016). Dessa forma, apesar de pouco representativos, os estudos com nanopartículas de PS no gênero *Artêmia* têm procurado abarcar a funcionalização das partículas, contribuindo para um melhor entendimento dos efeitos tóxicos destes materiais.

Foi observada uma grande variação com relação aos tamanhos e formatos das partículas utilizadas. As esferas (NPs e MPs) foram encontradas numa faixa de 40 nm a 250 µm e as MFs variaram entre 10 µm a 22,4 µm de diâmetro por 40 a 500 µm de comprimento (Tabela 1). Um único estudo com MPs apresentou um formato diferente: estrutura aberta em forma de favo de mel, nos tamanhos de 170 ± 147 µm e 155 ± 56 µm. Entre os trabalhos realizados com PS, a faixa de tamanho variou entre 40 nm a 10 µm, sendo que os principais tamanhos utilizados foram: 40 nm (2 estudos), 50 nm (5 estudos), 100 nm (3 estudos) e 10 µm (3 estudos). Três trabalhos, Gambardella *et al.*, (2017), Mishra *et al.*, (2019) e Sendra *et al.*, (2020), utilizaram

o mesmo tamanho de partícula; porém, o primeiro grupo considerou as partículas como MPs (0,1 μm) e os outros estudos dois como NPs (100 nm). As partículas das demais composições químicas foram utilizados em apenas um estudo cada e com uma grande variação no tamanho (de 1 a 250 μm).

O tamanho e o formato das partículas são características relevantes para a ingestão dos MPs e NPs, influenciando, também, nos efeitos após a ingestão (Ma *et al.*, 2020). Dessa forma, é essencial que os estudos informem explicitamente o tamanho das partículas plásticas, além de investigarem diferentes tamanhos e formatos, para que seja possível o estabelecimento de correlações entre estes parâmetros e os possíveis efeitos tóxicos da exposição aos MPs e NPs.

O conceito do termo nanoplástico ainda é alvo de debate na área. Alguns autores classificam como NPs, partículas com tamanho entre 1 a 100 nm (Koelmans *et al.*, 2015), enquanto outros autores designam os NPs como sendo partículas com tamanho entre 1 a 1000 nm (Gigault *et al.*, 2018). Koelmans colaboradores (2015) sugerem a adoção entre 1 e 100 nm com base no foco nas propriedades específicas da escala nanométrica, incluindo os NPs produzidos pela indústria. Por outro lado, Gigault e colaboradores (2018), sugerem a classificação de NPs para partículas entre 1 e 1000 nm resultantes da degradação de fragmentos maiores. Assim, a classificação das partículas como NPs, em cada estudo, depende do referencial teórico adotado pelo autor.

No presente trabalho, foi adotada a classificação de Koelmans e colaboradores (2015), pois esta engloba, independente da origem, NPs primários e secundários, um vez que ambos representam riscos para os ecossistemas (Andrady *et al.*, 2011). Por esse motivo, os trabalhos de Gambardella *et al.*, (2017), Mishra *et al.*, (2019) e Sendra *et al.*, (2020) foram considerados estudos realizados com NPs (100 nm).

Para as preparações das suspensões das partículas, dois principais parâmetros foram descritos: o meio e a forma mecânica utilizada para a suspensão das partículas. Sobre o meio

de suspensão, os dois meios mais utilizados foram ASW (água do mar artificial, do inglês "*artificial seawater*"; 6 estudos) e NSW (água do mar natural, do inglês "*natural seawater*"; 4 estudos). Apenas 1 trabalho utilizou água deionizada. Oito estudos não informaram qual foi o meio de preparação para as suspensões teste. Com relação à suspensão mecânica, 3 formas foram descritas: o uso apenas do vórtex (3 estudos), apenas sonicação (6 estudos) e o uso dos dois métodos (2 estudos). O principal tempo de sonicação utilizado foi 5 minutos (3 estudos). No entanto, 6 estudos não descrevem a forma mecânica de suspensão das partículas. Além disso, 5 trabalhos não descrevem a forma de preparação das suspensões das partículas.

A forma de preparação das partículas é um ponto importante e pouco descrito nos estudos aqui analisados. Esse padrão também foi encontrado em estudos com artêmia e outros nanomateriais (Libralato *et al.*, 2016). Características do meio de suspensão das partículas podem influenciar nas suas propriedades, como a agregação (Sharma *et al.*, 2021) (esses parâmetros serão abordados mais amplamente na seção de “Metodologias”). Devido a isso, sugere-se que o meio para a preparação das suspensões seja o mesmo do meio de cultura do experimento para evitar possíveis vieses, tais como aglomeração e precipitação, no comportamento das partículas, e, conseqüentemente, nos resultados encontrados. Dessa forma, a informação sobre o meio utilizado para a suspensão das partículas é essencial para que essa influência seja considerada na análise dos resultados.

Com o objetivo de promover uma melhor dispersão das partículas no meio, alguns estudos têm feito uso da agitação mecânica durante o preparo das suspensões (Manfra *et al.*, 2017). Porém, ainda não há consenso na literatura sobre a relevância do método. Della Torre e colaboradores (2014), apontam, no seu material suplementar, que a sonicação não influenciou na dispersão das partículas e sugere que essa técnica não precisa ser utilizada, bastando o uso da agitação por vórtex. Bergami e colaboradores (2016) seguiram essa recomendação em seu estudo com artêmias. No entanto, a maioria dos estudos (8 dos 11 estudos) que descrevem o

método de preparo, afirmam que utilizaram a sonicação na preparação das suspensões. Assim, ainda é preciso determinar, de forma padronizada, qual é a melhor maneira de preparar as suspensões e até que ponto esse procedimento influencia na dispersão das partículas no meio.

Diferentes técnicas foram utilizadas para a caracterização das partículas estudadas. No total foram encontradas 9 técnicas distintas. Entre elas, as mais utilizadas foram o espalhamento dinâmico de luz (DLS) (8 estudos), microscopia eletrônica (ME) (incluindo SEM e TEM) (8 estudos) e espectrometria de infravermelho (IR) (incluindo IR e FTIR) (6 estudos) (Tabela 1). As outras demais foram: microscopia óptica (3 estudos), difração à laser (3 estudos), contador de partícula (2 estudos), espectrofluorimetria (1 estudo) e mobilidade eletroforética (1 estudo). A maioria dos estudos (13 estudos) utilizou mais de uma técnica para complementar a caracterização do material. Essas informações não estão descritas em 3 trabalhos. É possível observar que há uma diferença na caracterização das partículas em relação à sua escala. Os NPs são caracterizados, principalmente, por duas técnicas, DLS e ME, ao passo que os MPs são caracterizados, majoritariamente, por IR.

As características físico-químicas dos NPs são comumente analisadas, uma vez que seu comportamento no meio pode influenciar, diretamente, o seu efeito tóxico (Gangadoo *et al.*, 2020). O DLS é a técnica padrão predominante para análise de sistemas coloidais, o que justifica seu uso na análise do comportamento de suspensões de NPs em meio aquoso (Bryant & Thomas, 1995; Kim *et al.*, 2019). A partir dela são medidos três parâmetros importantes: Z-average, índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (ζ). Essas medidas representam a média do diâmetro hidrodinâmico, a distribuição do tamanho e a carga da superfície das nanopartículas, respectivamente, e são essenciais para a interpretação do seu comportamento no meio (Varó *et al.*, 2019).

Além disso, foi observado, nos estudos analisados, que técnicas de ME também foram utilizadas para a determinação do tamanho e formato das partículas. Essa combinação de

métodos também foi citada por outros autores para NPs e nanomateriais em geral (Boyd *et al.*, 2011; Johari *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2019; Gangadoo *et al.*, 2020). O DLS possibilita obter informações sobre o comportamento da partícula no meio, enquanto a ME informa apenas o tamanho e formato das partículas. Assim, sugere-se que ambos os métodos sejam utilizados para a caracterização completa dos NPs (Gangadoo *et al.*, 2020).

Com relação aos MPs, por não se tratar de um sistema coloidal, a caracterização das partículas é realizada por meio de outras abordagens. Os estudos com MPs focaram, especialmente, na confirmação da composição química do polímero. A principal técnica utilizada para esse intuito foi o IR (Schmid *et al.*, 2021). Esse é o principal método adotado em outros estudos com MPs, especialmente aqueles para determinação do tipo de plástico encontrado no ambiente (Schmid *et al.*, 2021). Assim como para os NPs, foi possível observar que os estudos utilizaram técnicas complementares para obter mais informações sobre a suspensão das partículas. No entanto, nesse caso, a principal informação coletada foi sobre a quantidade de partículas no meio, a partir de variados métodos de contagem. Dessa forma, comparando os dois tipos de partículas, é perceptível que os estudos com NPs são mais detalhados sobre a sua descrição e apresentam menos variações nos métodos, indicando uma tendência na padronização da caracterização das nanopartículas nos diversos estudos realizados.

As concentrações das suspensões das partículas testadas foram expressas de 4 maneiras distintas: mg/L (12 estudos), partículas/mL (6 estudos), mg/mL (1 estudo), partículas/náuplios (1 estudo) (Tabela 1). Para a primeira unidade, a faixa de concentração foi de 0,001 a 1.000 mg/L. A faixa de concentração encontrada para partículas/mL variou entre 0,1 e 10.000 partículas/mL. As concentrações que foram expressas pela quantidade de partículas no meio só foram usadas em estudos investigando os efeitos de MPs ou MFs, o que se justifica pelo maior

tamanho das partículas, o que possibilita a sua quantificação no meio e consequente ajuste em relação ao número de náuplios.

Wan e colaboradores (2018) também encontraram diferenças na forma que as concentrações eram expressas, apontando unidades como massa/volume, massa/massa e partícula/volume. Essas variações prejudicam a comparação dos efeitos dessas partículas plásticas entre os estudos (Phuong *et al.*, 2016). Em seu estudo com *Artemia*, Wang e colaboradores (2019a) defendem o uso preferencialmente da concentração medida, referente a quantidade de partículas no meio, do que a concentração nominal, relacionada à massa da partícula, para os MPs. Os autores justificam que suspensões com MPs de diferentes tamanhos, e com a mesma concentração nominal, apresentam uma diferença demasiada (de ordens de magnitude) na quantidade de partículas no meio, podendo gerar resultados imprecisos. Assim, essa medida é válida para os MPs, que são partículas que podem ser facilmente medidas com o auxílio do microscópio. Porém o mesmo não ocorre para os NPs, que necessitam de equipamentos mais sensíveis para tal medição, e que nem sempre estão disponíveis aos grupos de pesquisa. Portanto, em relação aos MPs, é preferível padronizar o uso das unidades para concentrações efetivamente medidas. Por outro lado, para os NPs, devido às limitações técnicas, ainda é possível encontrar essa variação de unidade nos estudos.

Outro ponto importante a ser levado em consideração nos desenhos experimentais é o uso de concentrações ambientalmente realísticas. Diversos autores tem reportado que a maioria dos estudos com MPs e NPs têm sido realizados com concentrações muito acima (em ordens de magnitude) das que seriam encontradas na natureza (Phuong *et al.*, 2016; Wan *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2019), podendo gerar efeitos tóxicos superestimados para os plásticos. Alguns dos estudos realizados com artêmias utilizaram concentrações elevadas por diversos motivos: limitações técnicas (Bergami *et al.*, 2016; Kokalj *et al.*, 2018), para garantir a interação das partículas com os organismos (Bour *et al.*, 2020) ou para representar um cenário de poluição

grave (Peixoto *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2020). Outros estudos afirmaram que levaram em consideração concentrações ambientalmente relevantes (Peixoto *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019a,b; Han *et al.*, 2020;). Entretanto, existe uma grande variação dos dados publicados sobre as concentrações encontradas no ambiente, dificultando a comparação dos resultados encontrados (Phuong *et al.*, 2016). Por esse motivo, uma abordagem correta sobre concentrações realísticas nos estudos em laboratório ainda é limitada, mesmo aqueles que afirmam seguir esse critério. Assim, é interessante focar as pesquisas em concentrações que ocorram no ambiente para a obtenção de resultados que reflitam o cenário real dos ecossistemas. Cabe ressaltar que, atualmente, já existem esforços para determinar a faixa de concentração e as medidas são adequadas para a realização de estudo realístico com estas partículas, porém, ainda são necessários mais debates.

Tabela 1. Características das partículas plásticas avaliadas em publicações que utilizaram o gênero *Artemia*.

Referência	Partícula	Tipo/Tamanho	Preparação das suspensões	Caracterização das partículas	Concentrações
Bergami <i>et al.</i> , 2016	NP	PS-COOH (40 nm); PS-NH ₂ (50 nm)	NSW; Vórtex	TEM; DLS	5;10;25;50;100 mg/L
Batel <i>et al.</i> , 2016	MP	Desconhecido (1-5 µm); PE (10-20 µm)	-	-	0,5 mg; 2,5 mg; (~ 1,2 X 10 ⁶ partículas/20.000 náuplios)
Cole, 2016	MF	Nylon (poliamida) (10 µm × 40 µm)	-	Microscopia óptica	100 partículas/mL
Bergami <i>et al.</i> , 2017	NP	PS-COOH (40 nm); PS-NH ₂ (50 nm)	NSW; Vórtex	TEM; DLS	0,1 e 1,0 mg/L; 0,5;1,0;1,5;2,5;5,0 mg/L
Gambardella <i>et al.</i> , 2017	MP	PS (0,1 µm)	NSW; Sonicação (1 min)	DLS	0,001;0,01;0,1;1,0;10 mg/L
Kokalj <i>et al.</i> , 2018	MP	PE; PET; (0,02-250 µm)	-	SEM; Difração à laser	100 mg/L
Wang <i>et al.</i> , 2019a	MP	PS (10 µm)	ASW; Sonicação (5 min)	FTIR; Contador de partícula	1;10;100;1.000;10.000 partículas/mL; 0,1;1;10;100;1.000 partículas/mL
Mishra <i>et al.</i> , 2019	NP	PS (50-70 nm e 100-120 nm)	-	DLS; SEM	0,5;1,0;10;50;100;150;200 mg/L
Peixoto <i>et al.</i>	MP	FMR (amino)	-	Espectrofluorimetria	0,4;0,8;1,6 mg/L

<i>al.</i> , 2019		formaldeído) (1-5 μm)			
Varó <i>et al.</i> , 2019	NP	PS-NH ₂ (50 nm)	NSW; Sonicacão (5 min); Vórtex	TEM; DLS	0,1;1,0;10 mg/L; 0,1;1,0;3,0 mg/L
Wang <i>et al.</i> , 2019b	MP	PS (10 μm)	ASW; Sonicacão (5 min)	FTIR; Contador de partícula	1,0;10;10 ² ;10 ³ ;10 ⁴ partículas/ mL
Sendra <i>et al.</i> , 2020	NP	PS (100 nm)	Sonicacão (10 min)	SEM; TEM; FTIR; DLS; Difração a laser	0,006 e 0,6 mg/L
Trestrail <i>et al.</i> , 2020	MP	Fenol-formaldeído (170 $\pm$ 147 μm); Bio fenol- formaldeído (155 $\pm$ 56 μm)	-	SEM; Microscopia óptica; FTIR; Difração a laser	1,0 mg/mL; 10;20;30;40;50 mg/mL (lixiviado das MPs)
Han <i>et al.</i> , 2020	MP	PS (4-6 μm)	Água deionizada; Sonicacão	-	0,2 e 2,0 mg/L
Eom <i>et al.</i> , 2020	MP	PS (1, 3, 6 e 10 μm)	ASW; Vórtex	-	1,0;10;100;1.000 partículas/mL
Suman <i>et al.</i> , 2020	MP	PS (5 μm)	ASW	IR; DLS;	1,0;25;50;75;100 mg/L
Bour <i>et al.</i> , 2020	MP; MF	PE (27-32 μm); Poliéster (PET) (12 $\mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$)	ASW; Sonicacão	Microscopia óptica	100 partículas/mL; 500 partículas/mL
Kim <i>et al.</i> , 2021	MF	PP (22,4 $\mu\text{m} \times$ 182,76 μm); PET (19,32 $\mu\text{m} \times$ 234,43 μm)	-	SEM; FTIR	75;125;250;500;1.000 mg/L
Machado <i>et al.</i> , 2021	NP	PS-NH ₂ (50 nm)	ASW; Sonicacão (10 min); Vórtex	DLS; EM	0,005;0,05;0,5;5,0 mg/L

NP (nanoplástico); MP (microplástico); MF (microfibra); PS (poliestireno); PS-COOH (nanopartículas de poliestireno funcionalizadas com grupamentos carboxila); PS-NH₂ (nanopartículas de poliestireno funcionalizadas com grupamentos amino); PE (polietileno); PET (polietileno de tereftalato); PP (polipropileno); FMR (microesferas fluorescentes vermelhas); NSW (água do mar natural); ASW (água do mar artificial); TEM (microscopia eletrônica de transmissão); SEM (microscopia eletrônica de varredura); DLS (espalhamento dinâmico de luz); IR (espectroscopia de infravermelho); FTIR (infravermelho por transformada de Fourier); EM (mobilidade eletroforética). O sinal (-) significa informação não citada no estudo. N = 19 estudos.

CARACTERÍSTICAS DAS ARTÊMIAS

Foram encontrados estudos com três espécies de artêmia: *A. franciscana* (11 estudos), *A. salina* (2 estudos) e *A. parthenogenetica* (2 estudos). Quatro estudos identificaram os organismos apenas como *Artemia* sp. (Tabela 2).

Sabe-se que as espécies do gênero *Artemia* apresentam diferenças na sensibilidade a diversos compostos (Ruebhart *et al.*, 2008). No entanto, há divergências em relação à nomenclatura adotada nos estudos. O uso do nome “*Artemia salina*” é amplamente utilizado, porém, diversas vezes de forma equivocada, gerando erros sobre o entendimento de qual espécie está sendo manipulada (Asem *et al.*, 2010). Ruebhart e colaboradores (2008) verificaram que, em diversas vezes, a espécie citada era *A. salina*, porém pela descrição da origem geográfica dos cistos (a maioria originários do Great Salt Lake, Utah, EUA) foi possível identificar que, na verdade, tratava-se da espécie *A. franciscana*. Uma vez que a *A. franciscana* é originária da América do Norte e a *A. salina* da Europa (Vanhaecke *et al.*, 1987; Van Stappen, 2002), foi possível detectar essa imprecisão na classificação taxonômica seguida (Ruebhart *et al.*, 2008). Por esse motivo, *A. franciscana* é considerada a verdadeira espécie mais estudada (Ruebhart *et al.*, 2008). Um exemplo deste fato pode ser citado a partir de um dos estudos aqui analisados. Mishra e colaboradores (2019) afirmam que utilizaram a espécie *A. salina*, porém, a origem dos cistos é Great Salt Lake. Assim, é importante que seja realizada uma correta identificação da espécie para possibilitar uma comparação segura entre os resultados dos estudos (Ruebhart *et al.*, 2008).

Sobre a *A. parthenogenetica*, essa classificação não é considerada uma espécie única. (Baxevanis *et al.*, 2006). Em seu estudo, Baxevanis e colaboradores (2006) apontam que, o que de fato existe, são populações de artêmias partenogenéticas, mas que não representam uma espécie única e que estas teriam surgido de quatro origens independentes. Devido à essa

variabilidade, *A. parthenogenetica* não é recomendada para teste. Portanto, tendo em vista a diferença de sensibilidade e a imprecisão na classificação taxonômica, a espécie recomendada para estudos toxicológicos é a *A. franciscana* (Ruebhart *et al.*, 2008; Kos *et al.*, 2016). De uma maneira geral, metade dos estudos analisados no presente trabalho estão de acordo com essa recomendação.

Uma vez que esses animais podem ter origens geográficas diferentes, esse parâmetro também foi analisado. No entanto, apenas 3 trabalhos informaram a origem geográfica dos cistos. A maioria dos artigos só informaram a empresa de fornecimento dos cistos comerciais (Tabela 2). Porém, através do site de algumas dessas empresas é possível ter conhecimento sobre a origem geográfica dos mesmos. Assim, tais informações foram adicionadas à tabela 2. Todos os cistos onde foi possível identificar a origem geográfica são de Great Salt Lake (6 estudos, sendo a origem informada em 3 estudos e os 3 origens obtidas através do site dos fabricantes). Entretanto, não foi possível identificar o local de origem dos cistos em 13 trabalhos.

A origem geográfica dos cistos é um parâmetro relevante para a análise do efeito toxicológico (Vanhaecke *et al.*, 1980). Sorgeloos e colaboradores (1978) demonstraram que artêmias eclodidas a partir de cistos de diferentes origens geográficas apresentaram sensibilidades diferentes a um mesmo composto. Sendo essa observação válida para uma mesma espécie, porém de origem geográfica distinta (Ruebhart *et al.*, 2008). Por esses motivos, recomenda-se, fortemente, que os estudos informem, com precisão, a origem dos cistos, indicando tanto o fornecedor quanto o local de obtenção dos cistos.

No presente trabalho, nota-se que a origem dos cistos é pouco citada nos estudos com artêmias. Libralato (2014) também observou que a origem dos cistos foi uma informação pouco recorrente nos artigos analisados em seu trabalho. Tendo em vista que a principal origem dos

cistos comerciais é Great Salt Lake (Dvorak *et al.*, 2012), recomenda-se a escolha destes para uma padronização dos estudos com MPs e NPs.

Os efeitos tóxicos das partículas plásticas foram estudados tanto na forma larval quanto em indivíduos adultos. Os estágios foram divididos em 4 grupos principais: Instar I (~24 h após a eclosão), Instar II (~48 h após a eclosão), dias após a eclosão (DAH, do inglês “*days after hatching*”) e adultos (Tabela 2). O estágio larval Instar I (8 estudos) e Instar II (9 estudos) foram os mais utilizados. Alguns desses trabalhos foram de curta exposição (14 estudos), enquanto outros estudos iniciaram a exposição no período larval para a realização experimentos de longa exposição até a fase adulta (7 estudos; 6 estudos com duração de 14 dias e 1 estudo com 30 dias). Dois estudos utilizaram o DAH para informar o estágio de vida dos organismos, sendo 7, 12 e 14 dias os tempos utilizados. Indivíduos adultos foram utilizados em 3 estudos, sendo especificado, em dois deles, que foram adultos com três semanas de vida. Todos os indivíduos adultos foram utilizados em estudos de curta exposição, com uma variação de tempo de 5 minutos à 24 h.

A principal variação encontrada nos estudos analisados foi em relação aos dois estágios larvais iniciais: Instars I e II. Os estudos focaram principalmente nessas etapas do desenvolvimento, apresentando praticamente a mesma quantidade de artigos (8 e 9 estudos, respectivamente). No entanto, o estágio larval tem impacto direto sobre o resultado dos ensaios toxicológicos, e iniciar a exposição a partir do mesmo estágio de desenvolvimento é importante (Libralato *et al.*, 2016). Estudos anteriores já demonstram que o estágio Instar I é menos sensível a compostos tóxicos do que o estágio Instar II (Sorgeloos *et al.*, 1978; Vanhaecke *et al.*, 1980). Dessa forma, a realização de testes restritos ao estágio Instar I pode gerar interpretações equivocadas sobre a toxicidade das partículas. A diferença de sensibilidade nos estágios iniciais das larvas é explicada pelo fato de que a abertura do trato gastrointestinal acontece no estágio Instar II, assim, a partir deste estágio, o epitélio intestinal passa a ter contato

direto com o meio externo (Sorgeloos *et al.*, 1978). Devido à essas alterações morfológicas, é nesse período em que a larva dá início ao comportamento de filtração do meio (Treece, 2000), possibilitando, por exemplo, a ingestão de partículas plásticas. Estudos recentes comprovam a diferença de sensibilidade entre os estágios (Lish *et al.*, 2019).

Assim, sugere-se que os estudos de exposição de artêmias à partículas plásticas sejam realizados a partir do estágio Instar II, uma vez que a ingestão oral atua como principal via de acúmulo destas partículas nestes organismos (Wan *et al.*, 2018). Essa observação é relevante para os estudos de curta duração, não tendo implicações para estudos que iniciam a exposição a um contaminante no estágio Instar I, mas que se caracterizam por serem estudos de longa exposição. No entanto, apesar disto, alguns autores recomendam que, independente da duração dos testes, os ensaios tenham início no estágio Instar II (Manfra *et al.*, 2012).

Um outro parâmetro analisado, no presente estudo, foi a disponibilidade de alimento durante a exposição. Em 11 trabalhos foi observada a ausência de alimentação dos organismos, enquanto 12 trabalhos alimentaram as artêmias durante os ensaios de toxicidade. Em alguns estudos foram observados os dois padrões: ausência e presença de alimentação (8 estudos). Quatro estudos não deixaram claro se houve alimentação ou não (Tabela 2). A principal fonte de alimentação oferecida para os organismos foram microalgas (9 estudos), sendo citadas 6 espécies: *Dunaliella tertiolecta* (1 estudo), *Dunaliella salina* (1 estudo), *Chlorella vulgaris* (1 estudo), *Chaetoceros muelleri* (2 estudos), *Phaeodactylum tricornutum* (2 estudos) e *Tetraselmis suecica* (2 estudos). Dois estudos forneceram alimento comercial e 1 estudo não cita qual foi o alimento ofertado.

A oferta da alimentação está relacionada com o estágio de desenvolvimento em conjunto com o tempo de duração do teste. De maneira geral, é possível observar que ensaios de curta duração com larvas não requerem alimentação, pois os náuplios possuem reserva energética e podem se nutrir do vitelo por até 5 dias (estágio Instar V) (Treece, 2000). Já para

os testes de longa duração que começam no estágio larval, há a necessidade de uma dieta para a continuidade do ensaio e manutenção da sobrevivência das larvas. Os experimentos com indivíduos juvenis e adultos também necessitam de alimentação. Oito trabalhos apresentaram dois protocolos (presença e ausência de alimentação), pois realizaram testes tanto de curta, quanto de longa exposição.

Johari e colaboradores (2019) observaram que, para testes de curta duração com o gênero *Artemia* e nanomateriais, a maioria dos estudos não alimentou as larvas. Os autores não recomendam a alimentação dos náuplios para testes com duração de até 48 h. O fornecimento de dieta pode resultar na contaminação do meio com substâncias e metabólitos que não fazem parte do estudo (Dvorak *et al.*, 2012). No entanto, para cenários realísticos de exposição, a alimentação deve ser considerada como parte do protocolo experimental por fazer parte do ambiente natural. Foi reportado que a presença de microalgas influencia no comportamento das partículas no meio (Bergami *et al.*, 2017), podendo influenciar no efeito gerado por esses componentes ao animal. Assim, a ausência do alimento pode ser importante para a padronização dos estudos e a identificação do efeito direto das partículas plásticas, porém a alimentação é importante de ser avaliada do ponto de vista de cenários mais próximos dos que acontecem naturalmente.

A densidade de organismos expostos às partículas variou bastante ao longo dos trabalhos. Foram utilizadas 23 diferentes densidades, variando de 10 náuplios/2 mL à 100 indivíduos/L (Tabela 2). O único padrão recorrente foi de 10 náuplios/2 mL (4 estudos). Dois trabalhos não informaram a densidade de organismos, sendo que um informou apenas a quantidade de organismos testados e o outro não apresentou o dado. As densidades foram expressas principalmente como náuplio/mL ou indivíduo/mL. Essa variação depende se o estudo foi iniciado com o estágio de larva ou não, sendo o termo indivíduo utilizado para metanáuplios, juvenis ou adultos. Com relação aos estudos com náuplios, a diferença na

densidade pode ser explicada pelo tempo de duração do experimento, já que experimentos de longa duração precisam de uma densidade menor de organismos, tendo em vista o crescimento dos animais.

Kos e colaboradores (2016) investigaram se haveria uma densidade ideal para realização de experimentos com *Artemia* e nanopartículas de prata (Ag). Os autores utilizaram quatro diferentes densidades: 10 náuplios/200 μ L, 10 náuplios/2 mL, 10 náuplios/4 mL e 10 náuplios/8 mL. A densidade de náuplios não influenciou na toxicidade das nanopartículas de Ag. Lish e colaboradores (2019) também investigaram a influência da densidade de larvas na toxicidade de nanopartículas de Ag, adotando duas condições: 10 náuplios/10 mL e 10 náuplios/100 mL. Nesse caso, os autores observaram uma diferença na toxicidade das nanopartículas, cujo efeito foi maior na menor densidade testada, sugerindo que um volume maior do meio de cultura proporciona mais contato com as partículas (Lish *et al.*, 2019). Assim, é importante que os estudos informem a densidade de larvas/indivíduos empregados nos protocolos experimentais, assim como investiguem o efeito da toxicidade de MPs e NPs em condições de cultura que reflitam cenários mais realísticos de exposição, ajustando, não somente a densidade de larvas/indivíduos, mas também levando em consideração um aumento no volume do meio de cultura.

Devido ao comportamento natatório das artêmias, a sua imobilização se torna necessária para uma adequada observação ao microscópio ou estereomicroscópio e, também, para os registros fotomicrográficos. O principal objetivo dessa análise é identificar a presença das partículas plásticas no corpo dos organismos testados, bem como investigar possíveis alterações morfológicas. Assim, foram anotados 5 métodos diferentes a partir dos estudos analisados (Tabela 2). Entre eles, o formaldeído foi o composto mais utilizado (4 estudos). Foram utilizados, também, paraformaldeído, etanol, cloreto de potássio (KCl) e solução de água destilada com clorofórmio (1 estudo cada). Nove artigos não informaram se utilizaram

algum método de imobilização para observação das artêmias, mesmo apresentando resultados referentes à microscopia.

A escolha do método de imobilização pode depender da espécie, da cepa, ou da origem das artêmias utilizadas nos testes toxicológicos. Por exemplo, as artêmias utilizadas em nossos estudos (*A. franciscana*, Great Salt Lake) não são completamente imobilizadas com formaldeído (até 16%; dados não publicados). Dependendo da análise a ser realizada, o esmagamento por lamínula pode ser uma alternativa ao uso de fixadores ou outros compostos que promovam a imobilidade das larvas, como o KCl, que promove a contração dos apêndices e, a depender da estrutura a ser analisada, pode interferir nas análises morfológicas. Dessa forma, devido à falta de padronização e as diferentes respostas dos animais aos compostos, o presente trabalho sugere que seja sempre informado o método utilizado na imobilização das artêmias, permitindo, assim, uma futura padronização pelos estudos.

Tabela 2. Características dos microcrustáceos do gênero *Artemia* utilizados em estudos com micro e nanopartículas plásticas.

Referência	Espécie	Origem	Estágio	Alimentação	Densidade	Método de imobilização
Bergami <i>et al.</i> , 2016	<i>Artemia franciscana</i>	MicroBioTests (Ghent, Bélgica)	Instar II	Não	10 náuplios/2 mL	-
Batel <i>et al.</i> , 2016	<i>Artemia</i> sp.	Sanders (Cisto de Great Salt Lake, EUA)	Instar II	-	~ 20.000 náuplios/70 mL	Etanol 96%
Cole, 2016	<i>Artemia</i> sp.	-	Instar II	-	~ 10 náuplios/mL	Formaldeído 4%
Bergami <i>et al.</i> , 2017	<i>Artemia franciscana</i>	MicroBioTests (Ghent, Bélgica)	Instar I	Não; Sim (<i>Dunaliella tertiolecta</i>)	~ 200 náuplios/100 mL; 10 náuplios/30 mL	-
Gambardella <i>et al.</i> , 2017	<i>Artemia franciscana</i>	MicroBioTests (Ghent, Bélgica)	Instar I	-	10-20 náuplios/mL	Paraformaldeído 4%
Kokalj <i>et al.</i> , 2018	<i>Artemia franciscana</i>	JBL Artemio Bur	Instar I	Não; Sim (JBL Artemio Fluid)	10 náuplios/2 mL	-
Wang <i>et al.</i> , 2019a	<i>Artemia parthenogenetica</i>	Tianjin Ocean Pal Carol Biotech Co., Ltd, China	Instar I; Instar II	Não; Sim (<i>Chaetoceros muelleri</i>)	10 náuplios/100 mL; 10 náuplios/20 mL	Formaldeído 4%

Mishra <i>et al.</i> , 2019	<i>Artemia salina</i>	Ocean Star International, Inc., Snowville, EUA (Cistos de Great Salt Lake, EUA)	Adultos	Sim	-	-
Peixoto <i>et al.</i> , 2019	<i>Artemia franciscana</i>	San Francisco Bay Brand, (Califórnia, EUA) (empresa)	12 DAH	Sim (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	15 indivíduos/200 mL	-
Varó <i>et al.</i> , 2019	<i>Artemia franciscana</i>	INVE Company, Bélgica	Instar I	Não; Sim (<i>Tetraselmis suecica</i>)	~ 200 náuplios/50 mL; 100 náuplios/100 ou 150 mL	Solução de água destilada saturada com clorofórmio (algumas gotas)
Wang <i>et al.</i> , 2019b	<i>Artemia parthenogenetica</i>	Tianjin Ocean Pal Carol Biotech Co., Ltd, China	Instar II	Não; Sim (<i>Chaetoceros muelleri</i>)	13 náuplios/100 mL	Formaldeído 4%
Sendra <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia franciscana</i>	Cistos de Great Salt Lake, EUA	Adultos de 3 semanas	Não; Sim (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	20 indivíduos/10 mL; 10 indivíduos/10 mL	-
Trestrail <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia</i> sp.	Southern Biological, Australia	30 h (Instar II-III)	Não	10 indivíduos	-
Han <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia franciscana</i>	Cistos de Great Salt Lake, EUA	Náuplios recém eclodidos	Sim (<i>Dunaliella salina</i>)	100 náuplios/200 mL; 100 indivíduos/L	-
Eom <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia franciscana</i>	INVE Aquaculture, Bélgica	Instar I; Juvenis	Não; Sim (<i>Tetraselmis suecica</i>)	60-70 indivíduos/1600 mL	-
Suman <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia salina</i>	Tianjin, China	1, 2, 7 e 14 DAH	Não; Sim (<i>Chlorella vulgaris</i>)	10 náuplios/poço; 10 indivíduos/50 mL; 10 indivíduos/100 mL; 10 náuplios/30 mL	Formaldeído 4%;
Bour <i>et al.</i> , 2020	<i>Artemia</i> sp.	HOBBY Aquaristik, Alemanha	Adultos de 3 semanas	Não; Sim (fitoplâncton em pó, HOBBY Aquaristik)	10 indivíduos/100 mL; 6 indivíduos/15 mL	-
Kim <i>et al.</i> , 2021	<i>Artemia franciscana</i>	Ocean Star International, (Utah, EUA) (Cistos de Great Salt Lake, EUA)	Instar II	-	4 náuplios/4 mL	Formaldeído (30 min)
Machado <i>et al.</i> , 2021	<i>Artemia franciscana</i>	Artêmia International LLC, (Texas, EUA) (Cisto de Great Salt Lake, EUA)	Instar II; Instar III	Não	10 náuplios/2 mL	KCl (0,5 M; 10-15 min)

Indivíduos = adulto; juvenil; metanúplios. DAH (dias após a eclosão); KCl (cloreto de potássio). O sinal (-) significa informação não citada no estudo. N = 19 estudos.

METODOLOGIAS

Foram utilizados dois meios de cultura para a realização dos ensaios de toxicidade: ASW (14 estudos) ou NSW (6 estudos) (Tabela 3). Assim como mostrado no presente trabalho, o meio de cultura artificial é predominantemente utilizado nos estudos ecotoxicológicos (Manfra *et al.*, 2017). O uso de ASW apresenta vantagens que explicam o seu uso difundido: maior padronização dos experimentos, formulações prontas de ASW disponíveis comercialmente, fácil preparo em laboratório e baixo custo (Libralato *et al.*, 2016; Manfra *et al.*, 2017). Além destes fatores, podemos incluir a ausência de elementos orgânicos e inorgânicos, presentes na NSW, que podem variar sazonalmente e interferir com o comportamento dos MPs e NPs. Entretanto, existem algumas críticas sobre a composição dos meios artificiais, que pode variar de estudo para estudo e nem sempre está devidamente informada nos trabalhos (Libralato, 2014; Kos *et al.*, 2016).

Outro aspecto importante, que tem sido destaque na comunidade científica, é a elaboração de protocolos experimentais que reflitam cenários ambientalmente relevantes de exposição. Sabe-se que diferentes parâmetros do meio, como pH, salinidade, composição de minerais e matéria orgânica natural (NOM, do inglês “*natural organic matter*”), influenciam o comportamento das partículas plásticas, e consequentemente o seu efeito sob os sistemas biológicos (Sharma *et al.*, 2021). Nesse quesito, o uso da ASW se torna uma desvantagem, pois deixa de avaliar a influência da NOM no possível efeito tóxico das partículas. Por esse motivo, o uso de um meio natural, como a NSW, se alinha a um cenário realístico de exposição (Manfra *et al.*, 2017). Em seu estudo, Manfra e colaboradores (2017) observaram toxicidades diferentes para rotíferos expostos a nanopartículas de PS em ASW e NSW, mostrando que o meio é capaz de influenciar o efeito das partículas. Dessa forma, uma vez que ambos os meios apresentam

prós e contras, a escolha do meio de cultura deve levar em consideração o objetivo principal do estudo.

Com relação às características físico-químicas dos meios de cultura, dois parâmetros foram avaliados: pH e salinidade. A faixa de pH encontrada variou entre 7,9 e 8,5 (Tabela 3), sendo que essa informação não foi encontrada em 11 trabalhos. Foram identificadas 9 salinidades diferentes, variando entre 15 e 43,2 (Tabela 3). As salinidades mais utilizadas foram 30 (5 estudos) e 38 (3 estudos). Em 4 trabalhos não foram encontradas informações sobre a salinidade do meio.

A faixa de pH utilizada nos trabalhos foi de pequena amplitude e encontra-se dentro da faixa recomendada (7,5 a 9) (Libralato *et al.*, 2016). Porém, é importante ressaltar que mais de 50% dos estudos não trazem informação sobre esse parâmetro. O pH é um fator importante que pode alterar o comportamento das partículas plásticas no meio (Sharma *et al.*, 2021). Foi observado que com o aumento do pH - acima de 9 - há uma mudança drástica no comportamento de nanopartículas de PS, aumentando o grau de agregação e diminuindo a carga (Ramirez *et al.*, 2019), influenciando, potencialmente, na sua interação e efeito sobre os sistemas biológicos. Somado a isso, alterações no pH podem causar efeitos sobre os náuplios, uma vez que pH abaixo de 7 é prejudicial ao desenvolvimento dos mesmos (Kos *et al.*, 2016). Portanto, é crucial que o pH dos meios de cultura sejam monitorados e devidamente informado nos trabalhos que se propõem a investigar o efeito de MPs e NPs em artêmias.

A amplitude da faixa de salinidade adotada nos estudos analisados foi maior do que a encontrada em outros trabalhos com artêmia (25 a 38) (Johari *et al.*, 2019). Esse animal é eurialino, sendo capaz de tolerar grandes variações na salinidade (Persoone & Wells, 1987). Apesar dessa característica, há evidências de que a salinidade influencia nos testes toxicológicos, principalmente nos estudos que envolvem nanopartículas, uma vez que o comportamento das partículas podem ser afetadas por esse parâmetro. O aumento da força

iônica, que está relacionada com a quantidade de íons no meio, diminui a estabilidade das partículas plásticas, contribuindo para a sua agregação (Sharma *et al.*, 2021). Por essas razões, a salinidade é um parâmetro importante na elaboração dos desenhos experimentais para as investigações toxicológicas de MPs e NPs. O presente estudo mostra que, além falta de padronização da salinidade dos meios de cultura utilizados, alguns estudos não apresentam essa informação, dificultando uma análise comparativa entre os resultados obtidos.

Com relação às condições de manutenção da cultura, três parâmetros foram avaliados: temperatura, agitação do meio e fotoperíodo. A temperatura em que os experimentos foram realizados variou na faixa de 20 a 28 °C (Tabela 3), sendo 25 °C a temperatura mais utilizada (8 estudos). Em 4 trabalhos, essa informação não foi encontrada. A temperatura é mais uma variável importante. Além de influenciar na toxicidade (Libralato *et al.*, 2016), o aumento da temperatura pode, por si só, aumentar a mortalidade das larvas ou indivíduos adultos (Nunes *et al.*, 2006). Com relação às partículas plásticas, estudos mostram que a elevação da temperatura contribui para o efeito deletério de MPs sobre a sobrevivência e o crescimento do microcrustáceo (Han *et al.*, 2020). Esse impacto pode ser explicado pelo aumento da temperatura ser considerado um estresse adicional para o desenvolvimento do animal (Han *et al.*, 2020). Apesar do presente trabalho mostrar que a faixa de temperatura dos estudos analisados se encontra dentro da recomendada pela literatura (Johari *et al.*, 2019), cerca 20% dos estudos analisados não citaram a temperatura adotada, sendo, este, outro parâmetro fortemente recomendado a ser descrito nos manuscritos.

Com o objetivo de mimetizar o ambiente aquático, que se encontra em constante movimento, a agitação do meio de cultura tem sido um parâmetro avaliado em alguns estudos envolvendo nanopartículas (Lish *et al.*, 2019; Machado *et al.*, 2021). No entanto, o presente trabalho revela que a agitação do meio de cultura foi utilizada em apenas 3 trabalhos (Tabela 3). Dos 16 estudos restantes, três especificaram que não utilizaram agitação, enquanto os

demais não citaram esse parâmetro. A forte tendência à agregação de partículas plásticas, em especial de NPs, pode levar a sua precipitação no meio de cultura, influenciando a sua interação com os sistemas biológicos. Assim, é importante avaliar se a agitação do meio pode auxiliar na manutenção das suspensões de NPs na coluna d'água. Uma vez que este fato pode favorecer a ingestão das NPs por organismos filtradores, de hábito natatório, e em constante deslocamento na coluna d'água. No entanto, os poucos estudos que avaliaram a agitação do meio reportaram que ela não foi relevante para a toxicidade das nanopartículas utilizadas (nanopartículas de Ag e PS) (Lish *et al.*, 2019; Machado *et al.*, 2021). É sugerido que mais estudos avaliem esse parâmetro ainda pouco abordado.

Foram utilizados 4 diferentes fotoperíodos: ausência de luz (7 estudos), 12:12 h claro:escuro (3 estudos), 14:10 h claro:escuro (2 estudos) e 16:8 h claro:escuro (4 estudo) (Tabela 3). Em 2 estudos foram utilizados os dois protocolos (ausência e presença de luz). Em 5 trabalhos, essa informação não foi encontrada. Alguns trabalhos sugerem a utilização do fotoperíodo de 16:8 h (claro:escuro) para ensaios de curta duração (Kos *et al.*, 2016; Johari *et al.*, 2019). No entanto, a utilização de fotoperíodo deve ser escolhida de acordo com a partícula estudada. Resultados obtidos com nanopartículas de Ag mostraram que o fotoperíodo influenciou no comportamento da mesma no meio, alterando a sua toxicidade (Kos *et al.*, 2016). Porém, não encontramos estudos avaliando o efeito do fotoperíodo na toxicidade de partículas plásticas. Por outro lado, devido ao comportamento fototático das larvas, a luz contínua tende a aumentar a atividade metabólica dos náuplios, consumindo suas reservas nutricionais e influenciando no resultado final dos testes de curta duração. Entretanto, para ensaios de longa exposição, o fotoperíodo é importante para o desenvolvimento do animal, e dessa forma deve ser utilizado. Nesses casos, a microalga utilizada pode influenciar na determinação do período de luz, adequando as condições da cultura para aquelas que também satisfaçam a forma de cultura do fitoplâncton (Manfra *et al.*, 2012). Nos estudos aqui analisados

foi observada uma diversidade de espécies de microalgas utilizadas, o que pode, assim, explicar os diferentes fotoperíodos adotados.

O tempo de exposição das larvas aos MPs e NPs variou de 5 minutos a 44 dias (Tabela 3), sendo divididos em duas categorias principais: curta (17 estudos) e longa duração (8 estudos), sendo que alguns trabalhos utilizaram ambas as categorias (6 estudos) (Tabela 3). Os ensaios de curta duração variaram de 5 min a 96 h de exposição, apresentando 24 h de exposição (10 estudos) e 48 h (8 estudos) como os principais intervalos de tempos usados. Os ensaios de longa duração utilizaram diferentes intervalos de tempo: 14 (6 estudos), 30 (1 estudo) ou 44 dias (1 estudo).

Os testes de curta duração (≤ 96 h) são mais utilizados e estão mais bem estabelecidos; por outro lado, os testes de longa duração (geralmente de 7 a 14 dias) têm apresentado maior desenvolvimento na última década (Manfra *et al.*, 2015; Libralato *et al.*, 2016). Com relação aos testes de curta duração, os ensaios de 24 h de exposição são os mais utilizados (Libralato *et al.*, 2016). Assim como reportado na literatura, esse foi o período mais utilizado nos estudos analisados pelo presente trabalho. Isso pode ser explicado pelo fato de que esse foi o tempo de exposição sugerido no primeiro protocolo que visou a padronização dos estudos toxicológicos com artêmia (Vanhaecke *et al.*, 1980, 1981). Além disso, os ensaios de 24 h de duração fornecem resultados mais homogêneos, são de simples realização, e sob o ponto de vista técnico, não requer equipamentos sofisticados e nem um elevado grau de treinamento da equipe (Vanhaecke *et al.*, 1980; Nunes *et al.*, 2006). Atualmente, o ISO/TS 20787 (2017) também sugere os ensaios de 24 h de duração para os testes toxicológicos com artêmias, havendo, no entanto, a indicação da realização do intervalo de 48 h de exposição.

Entretanto, investigações de longa exposição são importantes para a ampliação dos conhecimentos sobre a sensibilidade do zooplâncton a contaminantes. Essa categoria de ensaios pode revelar efeitos tóxicos que não são observados em ensaios de curta duração (24 -

48 h), configurando, ainda, um cenário ambiental realístico por abordar o efeito crônico do contaminante ao longo da vida do animal. Ensaios de longa exposição a nanopartículas de PS, por exemplo, demonstraram efeitos tóxicos sobre as artêmias que não foram perceptíveis em ensaios de curta duração (Bergami *et al.*, 2016, 2017). Assim, é importante enfatizar que os estudos, sempre que possível, elaborem protocolos que permitam a avaliação tanto do efeito agudo quanto do efeito crônico da exposição a MPs e NPs.

O controle positivo é parte fundamental de um desenho experimental. Para que ocorra a validação do efeito gerado por um composto/partícula, e a consequente confiabilidade do teste, é necessária a verificação da sensibilidade do organismo frente a um tóxico de referência (Vanhaecke *et al.*, 1980). Para os estudos toxicológicos realizados com o gênero *Artemia*, o controle positivo é especialmente importante, pois, devido às diferentes origens geográficas e cepas dos animais, a sensibilidade do animal utilizado precisa ser determinada. Além disso, o uso do controle positivo possibilita a comparação de resultados entre diferentes estudos (Silva *et al.*, 2003). Nos trabalhos aqui analisados, apenas 4 estudos apresentaram informações sobre a utilização de um tóxico de referência como controle positivo. Em todos os 4 artigos, o tóxico utilizado foi o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) (Tabela 3). A falta de informação sobre o uso de um tóxico de referência como controle positivo também foi recorrente nos estudos com artêmias analisados por Libralato (2014). Outros autores também tem destacado a importância do uso do controle positivo nos testes toxicológicos com *Artemia* (Kos *et al.*, 2016; Johari *et al.*, 2019).

Sobre os protocolos utilizados nos experimentos, três grupos diferentes foram identificados: manuais produzidos por agências ou organizações ambientais internacionais, protocolo elaborado por empresa que atua na área toxicológica e aqueles estabelecidos em trabalhos publicados em periódicos científicos (Tabela 3). No primeiro grupo, foram citados 3 protocolos: APAT IRSA CNR 8060 (3 estudos), ISO/TS 20787 (2 estudos) e OECD 202 (1

estudo). No segundo grupo, encontra-se o Artoxkit (1 estudo), protocolo elaborado pela empresa MicroBioTests. Por fim, 9 trabalhos citaram protocolos estabelecidos por outros estudos científicos e 5 estudos não apresentaram a referência do protocolo utilizado.

Como discorrido acima, diversos parâmetros podem influenciar os testes toxicológicos com MPs e NPs com o gênero *Artemia*. Diferentes esforços tem sido realizados e diversos direcionamentos foram apontados, nos últimos 40 anos, visando a padronização dos testes ecotoxicológicos com esse microcrustáceo (Vanhaecke *et al.*, 1980, 1981; Persoone & Wells, 1987; Libralato, 2014; Manfra *et al.*, 2015; Kos *et al.*, 2016; Libralato *et al.*, 2016; Johari *et al.*, 2019; Lish *et al.*, 2019). No entanto, como evidenciado pelo presente, este objetivo ainda não foi alcançado.

A publicação do ISO/TS 20787 (2017), que versa sobre o uso de artêmia em estudos toxicológicos com nanomateriais, veio a preencher uma importante lacuna na área, que era a ausência de um protocolo elaborado por uma agência internacional de padronização exclusivamente para estudos com nanomateriais (Libralato, 2014). Assim, apenas os artigos mais recentes tem adotado o referido protocolo, o que reflete na variedade de metodologias adotadas nos estudos aqui discutidos. Entretanto, é importante, destacar que, de acordo com o objetivo do estudo ou das condições laboratoriais, nem sempre é possível, ou mesmo relevante, a adoção de protocolos padrões, porém, é crucial que todas as condições experimentais sejam devidamente detalhadas nos trabalhos (Libralato *et al.*, 2014).

Tabela 3. Características das metodologias avaliadas a partir de publicações sobre micro e nanoplásticos com o gênero *Artemia*.

Referência	Meio de cultura; pH; salinidade	Temperatura	Agitação do meio	Fotoperíodo	Tempo de exposição	Controle positivo	Protocolo
Bergami <i>et al.</i> , 2016	NSW; 8,3; 38	25 ± 1 °C	-	Ausência de luz	24 e 48 h	K ₂ Cr ₂ O ₇	APAT IRSA CNR 8060 (2003)
Batel <i>et al.</i> , 2016	ASW;	-	Sim	-	3, 6, 9 e 24 h	-	-

	-; 20						
Cole, 2016	ASW; -; 15	28 °C	Sim (<5 rpm)	-	2 h	-	-
Bergami <i>et al.</i> , 2017	NSW; 8,3; 38	25 ± 1 °C	-	Ausência de luz; 16:8 h claro:escuro	48 h; 14 dias	-	Bergami <i>et al.</i> , (2016) (agudo); Savorelli <i>et al.</i> , (2007), Manfra <i>et al.</i> , (2012) e Artoxkit (2014) (crônico)
Gambardella <i>et al.</i> , 2017	NSW; -; 37	25 °C	-	Ausência de luz	24 e 48 h	K ₂ Cr ₂ O ₇	Gambardella <i>et al.</i> , 2015; APAT IRSA CNR 8060 (2003)
Kokalj <i>et al.</i> , 2018	ASW; -; -	21 ± 1 °C	Não	16:8 h claro:escuro	48 h	-	Kos <i>et al.</i> , (2016)
Wang <i>et al.</i> , 2019a	ASW; 8,1 ± 0,1; 30 ± 1	25 ± 1 °C	-	12:12 h claro:escuro	24 h; 14 dias	-	Lee <i>et al.</i> , (2013) (crônico)
Mishra <i>et al.</i> , 2019	NSW; -; -	-	-	-	24 h	-	OECD 202
Peixoto <i>et al.</i> , 2019	ASW; -; 35	25 °C	-	14:10 h claro:escuro	44 dias	-	Varó <i>et al.</i> , (1998, 2015)
Varó <i>et al.</i> , 2019	NSW; 8,25; 38,3	25 ± 0,5 °C	-	Ausência de luz; 16:8 h claro:escuro	48 h; 14 dias	-	Varó <i>et al.</i> , (2015), Comeche <i>et al.</i> , (2017) (crônico)
Wang <i>et al.</i> , 2019b	ASW; 8,1 ± 0,1; 30 ± 1	25 ± 1 °C	-	12:12 h claro:escuro	1, 3, 6, 9, 12, 24 h; 14 dias	-	Wang <i>et al.</i> , (2019a)
Sendra <i>et al.</i> , 2020	ASW; -; -	-	-	Ausência de luz	24 h; 3,5 h	-	-
Trestrail <i>et al.</i> , 2020	NSW; -; 43,2; ASW; -; 37,5	28 ± 0,5 °C	Não	Ausência de luz	2 h; 24h	-	Artoxkit (2014)
Han <i>et al.</i> , 2020	ASW; -; 30	22, 26 e 30 °C;	-	14:10 h claro:escuro	14 dias	-	Bergami <i>et al.</i> , 2017
Eom <i>et al.</i> , 2020	ASW; 7,9-8,1; 32	20 °C	-	16:8 h claro:escuro	1 h; 96 h; 30 dias	-	-
Suman <i>et al.</i> , 2020	ASW; -; -	27 ± 0,2 °C	-	-	24 e 48 h; 14 dias	-	Madhav <i>et al.</i> , (2017); Bergami <i>et</i>

Bour <i>et al.</i> , 2020	ASW; -; 30	-	-	-	5 min; 2 h	-	-
Kim <i>et al.</i> , 2021	ASW; 8,0-8,5; 30 ± 1	20 ± 1 °C	-	12:12 h claro:escuro	48 h	K ₂ Cr ₂ O ₇	ISO/TS 20787 (2017)
Machado <i>et al.</i> , 2021	ASW; 8; 33	25 ± 1 °C	Sim (50 rpm); Não	Ausência de luz	24 e 48 h	K ₂ Cr ₂ O ₇	APAT IRSA CNR 8060 (2003); ISO/TS 20787 (2017)

NSW (água do mar natural); ASW (água do mar artificial); h (hora); K₂Cr₂O₇ (dicromato de potássio); rpm (rotações por minuto); APAT (Agência de Proteção do Meio Ambiente e Serviços Técnicos); ISO (Organização Internacional de Normalização); OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico). O sinal (-) significa informação não citada no estudo. N = 19 estudos.

TESTES, *ENDPOINTS* E EFEITOS OBSERVADOS

O tipo de teste realizado, os *endpoints* (efeitos biológicos observados) investigados e os efeitos encontrados também foram alvo do presente estudo (Tabela 4). Entre os principais efeitos tóxicos induzidos por MPs e NPs em artêmias, destacaram-se: mortalidade/imobilização, alterações no desenvolvimento/crescimento, alterações no perfil bioquímico, alterações na expressão gênica e dano intestinal. Outros *endpoints* e efeitos foram descritos, porém em menor representatividade. A seguir, os estudos serão discutidos, em detalhe, de acordo com duas categorias: (i) testes relacionados à toxicidade, (ii) testes relacionados às condições realísticas de exposição.

Testes de Toxicidade

O grupo de testes relacionados à toxicidade foi o que apresentou mais estudos (14 estudos). Neste grupo destacam-se os testes de toxicidade aguda (12 estudos) e de toxicidade crônica (8 estudos), nos quais foram analisados os seus efeitos letais e subletais. Alguns trabalhos utilizaram os dois tipos de testes (5 estudos). O principal *endpoint* subletal dos testes de

toxicidade aguda ou crônica foi a ingestão das partículas. No entanto, em alguns estudos, testes adicionais foram realizados em complementação à exposição das partículas, tais como: ensaios de eliminação das partículas; análise histológica do trato gastrointestinal e análise transcriptômica.

Os testes de toxicidade aguda representam aqueles que analisaram a toxicidade das partículas em um curto período de exposição (até 96 h). Os testes de toxicidade crônica representam aqueles em que a toxicidade é analisada em experimentos de longa duração, geralmente de 7 a 14 dias. Como previamente discutido na seção Metodologias, por serem experimentos de curta duração, os testes de toxicidade aguda foram os mais utilizados. No entanto, com o desenvolvimento das pesquisas, é perceptível a necessidade de investigações para avaliar a toxicidade do plástico de forma crônica. De fato, os testes crônicos podem apontar resultados mais sensíveis (Manfra *et al.*, 2012). Assim, alguns artigos passaram a adotar esses testes como padrão. Um exemplo são os estudos de Bergami e colaboradores (2016, 2017). No primeiro estudo dessa área foi realizado apenas o ensaio de toxicidade aguda e não foi observado efeito deletério sobre a sobrevivência das larvas (Bergami *et al.*, 2016). O trabalho seguinte (Bergami *et al.*, 2017), revelou, em longa exposição, o aumento da taxa de mortalidade/imobilidade das artêmias causada pelas nanopartículas de PS. Entretanto, ambos os testes são importantes para elucidar o efeito ecotoxicológico do plástico em artêmia, sendo ensaios complementares e que respondem a diferentes questionamentos científicos.

Os principais *endpoints* investigados nos testes de curta duração são: eclosão dos cistos; sobrevivência/imobilização; alterações enzimáticas e natação; ao passo que a reprodução e imobilização são os *endpoints* mais utilizados nos testes de longa duração (LIBRALATO *et al.*, 2016). A escolha dos *endpoints* para os testes agudos está de acordo com a proposição da ISO/TS 20787 (2017), que indica a taxa de eclosão dos cistos e a imobilidade/sobrevivência dos náuplios para os ensaios de curta duração. Entretanto, nos estudos toxicológicos com partículas

plásticas e artêmia, os *endpoints* têm sido ampliados, incluindo, como citado anteriormente, a ingestão das partículas, mortalidade/imobilidade, alterações no desenvolvimento, alterações enzimáticas, alterações na expressão gênica e dano intestinal.

A ingestão de MPs e NPs foi abordada em 17 estudos, envolvendo desde a verificação da ingestão das partículas até a eliminação/depuração e acúmulo destas. A imensa maioria dos estudos mostrou acúmulo das partículas: sete estudos observaram eliminação parcial das partículas e apenas 1 estudo apontou que houve eliminação total das mesmas. Entretanto, é preciso considerar o tempo de análise de cada estudo. Além do acúmulo no trato digestivo, dois estudos reportaram a adesão de nanopartículas plásticas à superfície das larvas (Tabela 4).

A avaliação da ingestão das partículas é muito importante, uma vez que essa é a principal via de entrada de NPs em organismos zooplancônicos não seletivos (Wan *et al.*, 2018). A interação com as nanopartículas pode levar a efeitos negativos nesses animais, com implicações sobre a sobrevivência, reprodução, desenvolvimento e crescimento (Lee *et al.*, 2013; Foley *et al.*, 2018; Botterell *et al.*, 2019).

Além disso, por representarem um grupo que tem um papel ecológico importante, como principal ligação entre os produtores primários e os consumidores secundários na teia alimentar marinha, esses animais podem se tornar vetores desses contaminantes e levar a sua transferência para níveis tróficos mais elevados, com consequente biomagnificação de MPs e NPs (Cole *et al.*, 2013; Setälä *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2017; Foley *et al.*, 2018), com implicações, também, para os ecossistemas (Bergami *et al.*, 2016). Dessa forma, o presente estudo ressalta a necessidade da realização de estudos de transferência trófica de MPs e NPs para uma melhor compreensão das consequências do acúmulo de partículas plásticas pelo zooplâncton.

O segundo *endpoint* mais estudado foi a mortalidade/imobilidade (13 estudos). Onze trabalhos utilizaram o termo mortalidade e 2 estudos utilizaram o termo imobilidade. É

necessário esclarecer o uso dos termos mortalidade/sobrevida e imobilidade, pois alguns autores argumentam que as larvas não podem ser consideradas mortas apenas pela observação da ausência de mobilidade (Nunes *et al.*, 2006; Libralato *et al.*, 2016). Mesmo imóveis, alguns náuplios ou indivíduos adultos ainda podem estar vivos, e apresentarem pequena movimentação dos apêndices ou, em alguns casos, do trato gastrointestinal (Nunes *et al.*, 2006). Assim, o presente estudo adota o termo “imobilidade”, por considerar esse mais adequado do ponto de vista técnico (Libralato *et al.*, 2016; Kos *et al.*, 2016; Johari *et al.*, 2019).

Independente da terminologia adotada para o *endpoint*, as duas formas foram agrupadas, uma vez que a metodologia para a sua verificação é a mesma: 10-15 segundos de observação dos indivíduos sem movimentação. Dos 13 estudos citados, 8 foram realizados com MPs e 5 foram conduzidos com NPs. Em relação aos estudos realizados com MPs, apenas 4 trabalhos observaram imobilidade, sendo, estes, testes de exposição crônica. Sobre os estudos com NPs, 80% dos trabalhos reportaram imobilidade, sendo 2 estudos de exposição aguda, 1 de exposição crônica e 1 estudo com os dois tipos de testes.

A maior parte dos estudos (80%) que avaliou o efeito de NPs reportaram aumento na taxa de imobilidade. Por outro lado, somente metade dos estudos realizados com MPs observaram imobilidade das artêmias. Dessa forma, os NPs se mostraram mais tóxicos do que os MPs, o que corrobora estudos que têm demonstrado que partículas menores são potencialmente mais danosas à biota (Koelmans *et al.*, 2015; Da Costa *et al.*, 2016). No entanto, é importante ampliar os estudos com NPs, tendo em vista que os mesmos tem adotado diferentes espécies de artêmia, estágios larvais e faixas de concentração. A realização de novos estudos, seguindo uma maior padronização, como o uso de protocolos padrões, como o ISO/TS 20787 (2017), podem corroborar os achados, por ora, apresentados.

O desenvolvimento/crescimento dos indivíduos expostos aos MPs e NPs foi o terceiro *endpoint* mais abordado (8 estudos). Cinco trabalhos reportaram alterações no

desenvolvimento/crescimento, sendo 2 estudos com NPs (agudo e crônico) e 3 estudos com MPs (agudo e crônico). Os demais trabalhos não observaram alterações, entre eles 2 estudos com MPs (agudo e crônico) e 1 estudo com NPs (agudo). Em todos os artigos, esse parâmetro foi obtido a partir da medição, sob estereomicroscopia ou microscopia óptica comum, do comprimento do animal da região cefálica até o ânus.

A ingestão das partículas plásticas, ao ocuparem/acumularem no trato gastrointestinal, pode dificultar a alimentação e, assim, impactar o desenvolvimento dos organismos. Apesar da alimentação ser crucial para o desenvolvimento das artêmias a partir do estágio Instar V, não foi observada diferença no impacto da ingestão das partículas plásticas entre os testes de curta ou longa exposição. Ao mesmo tempo, não foi observada correlação entre tipo/tamanho de partícula sobre o desenvolvimento/crescimento das artêmias. Entretanto, ainda há poucos estudos para afirmar que o tempo e o tamanho da partícula não influenciam no efeito deletério dos plásticos sobre o desenvolvimento/crescimento desses microcrustáceos.

O quarto *endpoint* mais adotado nos estudos foram alterações enzimáticas (6 estudos), principalmente aquelas relacionadas ao estresse oxidativo e neurotoxicidade, com destaque para a atividade das enzimas catalase (CAT) e acetilcolinesterase (AChE), respectivamente. Todos os trabalhos que utilizaram alterações enzimáticas como *endpoints* reportaram alterações bioquímicas nos organismos, sendo 3 realizados com NPs (2 estudos agudos e 1 estudo agudo e crônico) e 3 realizados com MPs (2 estudos crônicos e 1 estudo agudo e crônico). Dessa forma, as investigações apontam que, além das partículas plásticas induzirem estresse oxidativo, estas apresentam efeitos neurotóxicos nas artêmias. Estes efeitos foram observados tanto para MPs quanto para NPs e em ensaios de exposição aguda ou crônica. Devido ao fato da atividade enzimática ser bastante sensível aos efeitos deletérios de MPs e NPs, principalmente em ensaios de curta exposição, nos quais outros efeitos não são

perceptíveis (Gambardella *et al.*, 2017; Suman *et al.*, 2020), sugere-se que esse *endpoint* seja mais explorados nos estudos sobre a toxicidade de MPs e NPs em artêmias.

A expressão gênica foi utilizada como *endpoint* em 5 estudos, sendo 3 realizados com MPs (agudo e crônico) e 2 realizados com NPs (agudo e crônico). As investigações foram feitas sobre genes relacionados à: ecdise e desenvolvimento, apoptose e estresse oxidativo. Também foram investigados genes diferencialmente expressos ligados a processos metabólicos e fisiológicos por análise transcriptômica. Foram observadas alterações gênicas em todos os estudos que investigaram esse *endpoint*. Assim, esses resultados confirmam, à nível molecular, os achados a partir de outros *endpoints*, como o de desenvolvimento, estresse oxidativo e apoptose (esse último será discutido mais à frente).

Assim como a atividade enzimática, a expressão gênica se mostrou um *endpoint* sensível, podendo ser observadas alterações em ensaios de curta exposição. Além disso, a investigação da expressão gênica, em conjunto com a atividade enzimática, pode ser uma importante ferramenta na elucidação dos mecanismos de toxicidade de MPs e NPs. A partir de abordagens moleculares, Varó e colaboradores (2019) contribuíram para a entendimento do mecanismo envolvido no efeito tóxico de NPs na ecdise e desenvolvimento de artêmias previamente relatados pelo mesmo grupo (Bergami *et al.*, 2016, 2017). Apesar das restrições técnicas e orçamentárias associadas ao uso de abordagens moleculares nos estudos toxicológico, estimula-se, sempre que possível, a inclusão de *endpoints* moleculares junto aos fisiológicos e morfológicos já mencionados anteriormente, uma vez que eles podem contribuir, sobremaneira, para o entendimento do efeito de MPs e NPs sobre os organismos zooplanctônicos.

Outro *endpoint* utilizado nos estudos foi o dano intestinal (5 estudos). Foram realizadas análises histológicas do intestino (4 estudos) e análises da permeabilidade intestinal (1 estudo). Cinco trabalhos mostraram alterações intestinais, sendo 4 estudos com MPs (exposição aguda

e crônica) e 1 estudo com MFs (exposição aguda). Entre os danos no trato intestinal foram descritas alterações nas células epiteliais (Wang *et al.*, 2019a; Han *et al.*, 2020) e decomposição dos enterócitos (Wang *et al.*, 2019b). Wang e colaboradores (2019b) reportaram danos intestinais apesar da presença de baixa quantidade de plásticos no intestino e mesmo após a eliminação das partículas plásticas. Além disso, os efeitos deletérios ao intestino foram reportados em ensaios de exposição aguda, e mesmo em estudos em que não foi observada imobilidade das larvas (Wang *et al.*, 2019a; Suman *et al.*, 2020). Uma vez que grande parte dos estudos tem relatado acúmulo de partículas plásticas no intestino das artêmias, a investigação da integridade anatômica e fisiológica do trato gastrointestinal é fundamental para avaliar o risco à exposição aos plásticos nesses organismos, principalmente em ensaios de longa exposição e com NPs, uma vez que os estudos sobre os danos ao trato gastrointestinal ainda são restritos aos MPs.

Foram abordados, ainda, porém com menor representatividade, os seguintes *endpoints*: natação (1 estudo; MP, agudo); taxa reprodutiva (1 estudo; MP, crônico); e apoptose (1 estudo; MP, agudo e crônico). A natação e a reprodução têm sido abordadas por diferentes autores como *endpoints* importantes para estudos toxicológicos com artêmias (Manfra *et al.*, 2015, 2016; Kos *et al.*, 2016; Libralato *et al.*, 2016); porém, nas pesquisas com partículas plásticas estes *endpoints* ainda são pouco explorados. Gambardella e colaboradores (2017) demonstraram que a natação dos náuplios foi bastante afetada por MPs, indicando o uso desse *endpoint* nos estudos sobre efeito de plástico no zooplâncton. Peixoto e colaboradores (2019) mostraram impactos negativos de MPs na reprodução das artêmias, sendo esse outro ponto importante a ser considerado nos estudos. Por representarem processos importantes para a fisiologia das artêmias, a inclusão da natação e da reprodução, como *endpoints*, deve ser estimulada, principalmente nos estudos com NPs, tendo em vista a ausência de dados na literatura sobre o efeito dessas partículas nesses processos vitais para os microcrustáceos.

A análise da apoptose pode representar uma estratégia viável para as investigações ecotoxicológicas. Recentemente, Suman e colaboradores (2020), utilizando o corante laranja de acridina, observaram a apoptose em artêmias expostas a MPs, tanto em ensaios de exposição aguda quanto crônica. O uso da apoptose como *endpoint* pode ser uma alternativa experimental para a determinação da sobrevivência das artêmias, dirimindo dúvidas sobre a questão da imobilidade/sobrevivência inerentes aos ensaios de observação da motilidade das larvas.

Cenários Realísticos de Exposição

A maior parte dos estudos ecotoxicológicos tem estudado os efeitos dos contaminantes/poluentes em condições laboratoriais controladas (Bour *et al.*, 2015). Porém, para entender o verdadeiro efeito dessas partículas sobre a biota, é necessário que sejam realizados estudos que considerem a complexidade do ambiente natural (Bour *et al.*, 2015; Lenz *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2020).

Com relação aos estudos com partículas plásticas e o gênero *Artemia*, alguns trabalhos têm procurado estabelecer protocolos experimentais que visam mimetizar o meio ambiente. O grupo de testes relacionados a cenários realísticos de exposição apresentou 8 estudos. Neste grupo foi possível identificar três categorias de *endpoints*: (i) influência de diferentes parâmetros de exposição (5 estudos); (ii) efeito da combinação de partículas com outros compostos (3 estudos); (iii) estudos sobre transferência trófica (2 estudos).

Diferentes parâmetros de exposição foram utilizados no intuito de contribuir para o entendimento dos efeitos tóxicos das partículas plásticas em um cenário realístico, incluindo variações nas concentrações das partículas (1), nos tempos de exposição (1), na disponibilidade de alimento (2), nas temperaturas (1), na agitação do meio (1), além de variações nos tamanhos (1) e formatos das partículas (1). Com exceção do tamanho das partículas e da agitação do meio, todos os demais parâmetros influenciaram na ingestão ou no efeito tóxico das partículas

plásticas. Os efeitos destes parâmetros sobre a toxicidade de MPs e NPs já foram abordados nas seções anteriores do presente trabalho, onde são discutidas as formas que estes fatores modulam tanto o comportamento das partículas, quanto o comportamento do animal em relação a sua ecologia e biologia. É possível notar que os estudos com foco nos cenários realísticos têm início recente e ainda são pouco representativos na área. No entanto, a tendência é que os estudos ecotoxicológicos cada vez mais incluam os cenários realísticos de exposição aos MPs e NPs nos desenhos experimentais, permitindo uma análise mais fidedigna dos efeitos destas partículas plásticas sobre os ecossistemas.

Com relação aos estudos que investigaram o efeito da combinação de partículas plásticas com outros compostos, foram identificados 3 trabalhos: um estudo com poluente orgânico persistente (POP), um estudo de coexposição com tóxicos de referência que apresentam metais na sua composição, e um estudo com o lixiviado de MPs.

Devido aos NPs, além de sua hidrofobicidade, apresentarem uma grande área de superfície em relação ao volume das partículas, tais partículas apresentam um elevado potencial de adesão de outros compostos nas suas superfícies (Koelmans *et al.*, 2015; Corsi *et al.*, 2020). Entre esses, podemos destacar poluentes como metais pesados e POPs (Mato *et al.*, 2001; Holmes *et al.*, 2012; Amelia *et al.*, 2021). Além disso, os aditivos e monômeros dos plásticos podem ser lixiviados dessas partículas, sendo tais substâncias potencialmente danosas ao ambiente (Fred-Ahmadu *et al.*, 2020). Considerando o alto grau de interação das partículas plásticas com a biota, os MPs e NPs podem se tornar vetores desses materiais, aumentando o acúmulo deste nos organismos (Mato *et al.*, 2001; Shen *et al.*, 2019). Os três estudos aqui apresentados mostraram que as partículas plásticas podem ser prejudiciais à biota tanto na sua forma isolada, quanto em mistura com outras substâncias potencialmente tóxicas. Assim, é preciso expandir os estudos de coexposição de MPs e NPs, com outros contaminante/poluentes,

de forma a ampliar o conhecimento sobre o potencial risco das partículas plásticas atuarem como vetores de compostos potencialmente tóxicos.

Apenas dois estudos investigaram a transferência trófica, ambos realizados com MPs. Nos dois trabalhos, as partículas plásticas foram transferidas para o nível trófico seguinte da cadeia alimentar. Em um dos estudos, também foi investigada a transferência trófica de um POP via MPs (Batel *et al.*, 2016). Os autores demonstraram que o benzo(a)pireno foi transferido das artêmias expostas aos MPs, para os peixes, ratificando, assim, as implicações do efeito das partículas plásticas como vetores de outros poluentes. É importante ressaltar, como discutido anteriormente, que os MPs e NPs, além de serem ingeridos pelas artêmias, podem ficar aderidos na superfície das mesmas, contribuindo, ainda mais, para a ingestão das partículas plásticas por constituintes de níveis superiores da cadeia trófica.

Assim, mesmo que algumas partículas plásticas não apresentem toxicidade direta sobre os microcrustáceos, os MPs e NPs podem causar impactos deletérios para os demais organismos através da sua transferência ao longo da cadeia trófica ou por combinação com compostos tóxicos presentes no ambiente. Esses estudos iniciais estimulam a realizações de novas pesquisas visando um melhor entendimento acerca dos efeitos de MPs e NPs em cenários realísticos de exposição.

Tabela 4. Testes, *endpoints* e efeitos observados obtidos a partir de publicações sobre micro e nanoplásticos utilizando o gênero *Artemia*.

Referência	Teste	Faixa de concentração utilizada	Endpoint	Efeitos observados
Bergami <i>et al.</i> , 2016	Toxicidade aguda; Ensaio de recuperação (NPs)	5 a 100 mg/L	Mortalidade; Efeitos sub-letais: ingestão, acúmulo, adesão à superfície externa e ecdise; Eliminação das NPs acumuladas	Sem mortalidade nas duas NPs testadas (PS-COOH e PS-NH ₂); Efeitos sub-letais observados; Ingestão/acúmulo das duas NPs no trato; PS-NH ₂ aderidas na superfície externa das larvas, prejudicando a natação; Nas maiores concentrações de PS-NH ₂ foram encontradas várias mudas no meio; Nos ensaios de recuperação, as PS-COOH ainda estavam presentes no trato, mas as PS-NH ₂ não foram observadas nem no trato nem na parte externa.

Batel <i>et al.</i> , 2016	Exposição às MPs	0,5 e 2,5 mg (~ 1,2 X 10 ⁶ partículas/20.000 náuplios)	Ingestão das MPs; Transferência trófica das MPs na presença ou ausência do poluente (BaP)	Ingestão das MPs; As MPs foram transferidas pela cadeia trófica artificial para os peixes; Quantidade significativa de BaP (POP testado) foi ingerida pelas artêmias e transferidas para os peixes
Cole, 2016	Exposição às MFs	100 partículas/mL	Ingestão/Acúmulo das MFs	As MFs foram observadas no trato gastrointestinal dos náuplios
Bergami <i>et al.</i> , 2017	Toxicidade aguda; Toxicidade crônica (NPs)	0,1 a 5,0 mg/L	Expressão de genes relacionados ao desenvolvimento; Mortalidade; Acúmulo; Efeito no desenvolvimento	Aumento na expressão gênica de <i>clap</i> e <i>cstb</i> , genes relacionados ao desenvolvimento (agudo); PS-COOH não afetou a mortalidade (crônico); PS-NH ₂ afetou a mortalidade de forma concentração dependente (CL ₅₀ 0,83 mg/l) (crônico); PS-COOH foram encontradas no trato gastrointestinal e nas fezes (crônico); PS-NH ₂ afetou o crescimento (crônico)
Gambardella <i>et al.</i> , 2017	Toxicidade aguda (MPs)	0,001 a 10 mg/L	Mortalidade; Acúmulo; Atividade enzimática: AChE, PChE e CAT; Comportamento natatório	MPs não afetaram a mortalidade; Ingestão, eliminação e acúmulo das MPs em todas as concentrações; AChE, PChE e CAT foram afetados pelas MPs; Inibição da velocidade natatória (24 h); Aumento da velocidade natatória (48 h);
Kokalj <i>et al.</i> , 2018	Toxicidade aguda; Ensaio de recuperação (MPs)	100 mg/L	Imobilidade; Acúmulo; Eliminação; Efeito no desenvolvimento	MPs não causaram imobilidade; Acúmulo das MPs no trato gastrointestinal; Não foram encontradas MPs no trato após o ensaio de recuperação; Comprimento das larvas foi afetado pela exposição às MPs
Wang <i>et al.</i> , 2019a	Toxicidade aguda; Toxicidade crônica; Análise histológica do intestino (MPs)	0,1 a 10.000 partículas/mL	Mortalidade; Níveis de ingestão das MPs; Observação de alterações celulares no trato gastrointestinal; Efeitos sub-letais; Efeitos no desenvolvimento	Ingestão das MPs (24 h e 14 d); A menor concentração ingerida foi 12 partículas/mL e 1,1 partícula/mL (24 h e 14 d, respectivamente); Não foram observados efeitos na sobrevida, desenvolvimento e crescimento; Alterações ultraestruturais em células epiteliais no trato gastrointestinal
Mishra <i>et al.</i> , 2019	Toxicidade aguda em adultos (NPs)	0,5 a 200 mg/L	Mortalidade; Efeito no perfil bioquímico (ensaio de proteína total, peroxidação lipídica, estresse oxidativo)	Os dois tamanhos de NPs utilizadas causaram mortalidade (CL ₅₀ = 4,82 mg/l; CL ₅₀ = 8,79 mg/l); Deformidade morfológica; Diminuição de proteína total e dos níveis de glutathione e catalase; Aumento de peroxidação lipídica
Peixoto <i>et al.</i> , 2019	Toxicidade crônica (MPs)	0,4 a 1,6 mg/L	Acúmulo; Mortalidade; Efeito no crescimento; Taxa reprodutiva	Ingestão das MPs, eliminação nas fezes e acúmulo no trato gastrointestinal; Crescimento e mortalidade não foram afetados; As MPs diminuíram a taxa reprodutiva (número de descendentes) de forma concentração-dependente
Varó <i>et al.</i> , 2019	Toxicidade aguda; Toxicidade crônica (NPs)	0,1 a 10 mg/L	Mortalidade; Crescimento; Comportamento alimentar; Biomarcadores de estresse e neurotoxicidade (ChE, CbE, CAT, GST, HSP70, peroxidação lipídica); Expressão de genes relacionados ao desenvolvimento (<i>cstb</i> , <i>clap</i> , <i>tcp</i> , <i>hsp70</i> e <i>hsp26</i>)	NPs causaram mortalidade e redução do tamanho do corpo (agudo); NPs causaram mortalidades, porém o tamanho do corpo não foi afetado, mas alterações morfológicas foram notadas (crônico); Alimentação não foi afetada (crônica); Modulação dos biomarcadores (48 h e 14 d); Modulação dos genes de forma concentração-dependente (48 h e 14 d)

Wang <i>et al.</i> , 2019b	Toxicidade aguda; Toxicidade crônica; Exposição à diferentes concentrações, tempos de exposição e disponibilidade de alimento; Análise histológica do intestino (MPs)	1,0 a 10 ⁴ partículas/mL	Ingestão das MPs: influência da concentração, do tempo de exposição e disponibilidade de alimento; Eliminação das MPs em diferentes tempos; Influência das MPs na ingestão de microalga; Dano intestinal	O aumento das concentrações e do tempo de exposição aumentou a ingestão das MPs; A disponibilidade de alimento diminuiu a ingestão das MPs; As MPs foram eliminadas rapidamente (3 h), mas ainda podiam ser observadas no trato digestivo e encontradas nas fezes até os maiores tempos de análise; Redução da ingestão de microalga na presença das MPs; Alterações intestinais (24 h e 14 d)
Sendra <i>et al.</i> , 2020	Exposição às NPs; Alimentação pós-exposição; Ensaio de depuração (NPs)	0,006 e 0,6 mg/L	Ingestão de microalga e NPs; Comportamento alimentar pós-exposição às NPs; Acúmulo; Eliminação	Ingestão das NPs; A ingestão de microalga não foi afetada pelas NPs; A ingestão de NPs ocorreu de forma concentração-dependente e foi menor na presença de microalga; O comportamento alimentar pós-exposição não foi alterado; As NPs acumularam em diferentes regiões do corpo (mandíbula, trato gastrointestinal e apêndices); Após a depuração, não houve eliminação completa das NPs
Trestrail <i>et al.</i> , 2020	Exposição às MPs; Toxicidade do lixiviado das MPs (MPs)	1,0 mg/mL; 10 a 50 mg/mL (lixiviado das MPs)	Ingestão dos dois tipos de MPs; Mortalidade	Os dois tipos de MPs foram encontrados no trato gastrointestinal; Os dois tipos de MPs tiveram o mesmo nível de toxicidade (CL ₅₀ = 27,4 mg/mL, para MP comum; CL ₅₀ = 22,8 mg/mL para bioMP)
Han <i>et al.</i> , 2020	Toxicidade crônica; Exposição a diferentes temperaturas; Análise histológica do intestino (MPs)	0,2 e 2,0 mg/L	Mortalidade; Crescimento; Influência da temperatura no efeito das MPs; Atividade enzimática: ACP e CAT; Análise de genes relacionados à apoptose (<i>ADRA1B</i> e <i>CREB3</i>) Dano intestinal	As MPs e a temperatura afetaram a taxa de sobrevivência; As MPs e a temperatura diminuíram a taxa de crescimento; A temperatura influenciou no efeito deletério causado pelas MPs; A atividade de ACP aumentou na presença das MPs; <i>ADRA1B</i> e <i>CREB3</i> foram modulados pelas MPs; Alterações intestinais foram encontradas;
Eom <i>et al.</i> , 2020	Exposição às MPs; Ensaio de depuração; Toxicidade aguda; Toxicidade crônica; Exposição a diferentes tamanhos das MPs; (MPs)	1,0 a 1.000 partículas/mL	Influência do tamanho da partícula; Ingestão e eliminação das MPs Biomarcadores de estresse (família <i>hsp70</i> , CAT, SOD); Mortalidade; Atividade de AChE;	Ingestão das MPs de todos os tamanhos; Eliminação parcial das MPs; Aumento da expressão do mRNA de <i>hsp70</i> ; Aumento da atividade de CAT e SOD; Redução da sobrevivência de maneira concentração e tamanho-dependente (30 dias); Inibição da atividade de AChE
Suman <i>et al.</i> , 2020	Toxicidade aguda; Exposição a diferentes estágios de desenvolvimento; Toxicidade crônica; Análise histológica do intestino; Análise transcriptômica (MPs)	1,0 a 100 mg/L	Mortalidade; Desenvolvimento; Acúmulo; Influência do estágio de desenvolvimento no efeito das MPs; Apoptose; Estresse oxidativo; Dano intestinal; Genes diferencialmente expressos ligados à processos metabólicos e fisiológicos	Toxicidade aguda: não foi observada mortalidade, mas houve acúmulo das MPs e alterações no crescimento nos estágios instar I e II; Toxicidade crônica: mortalidade de forma concentração-dependente (CL ₅₀ = 16,995 mg/l), acúmulo e alterações no desenvolvimento; Foi observada apoptose (48 h e 14 dias) de maneira concentração-dependente; Alteração na atividade de ROS de maneira concentração-dependente; Alterações morfológicas no trato gastrointestinal (agudo e crônico); Alteração na expressão de genes de vias importantes, como da resposta imune, estresse oxidativo e apoptose

Bour <i>et al.</i> , 2020	Exposição às MPs/MFs; Exposição à diferentes formatos de partículas e disponibilidades de alimento; Ensaio de depuração (MPs e MFs)	100 a 500 partículas/mL	Ingestão e depuração sob influência do formato da partícula e da alimentação; Transferência trófica	Sem alimentação: houve baixa ingestão de MF e sua eliminação foi rápida, já a MP houve grande ingestão e sua eliminação foi mais lenta; Com alimentação: não houve ingestão de MF, houve pouca ingestão de MP com sua eliminação de forma rápida; As MPs foram transferidas pela alimentação para os peixes, mas foram rapidamente eliminadas (depuração completa em 48 h)
Kim <i>et al.</i> , 2021	Toxicidade aguda; Análise da permeabilidade do intestino (MFs)	75 a 1.000 mg/L	Mortalidade; Ingestão; Dano intestinal	Ingestão das MPs; PET e PP causaram mortalidade (PET > PP); A MF natural não apresentou efeitos letais; PET causou danos severos ao intestino; Diminuição da largura do trato gastrointestinal nas artêmias expostas a todas as MFs; Aumento da permeabilidade da camada intestinal na região da cabeça; PET foi mais danosa do que PP
Machado <i>et al.</i> , 2021	Toxicidade aguda; Exposição em diferentes métodos de incubação; Exposição à diferentes estágios de desenvolvimento; Ensaio de coexposição com os tóxicos de referência K ₂ Cr ₂ O ₇ e CuSO ₄ (NPs)	0,005 a 5,0 mg/L	Imobilização; Acúmulo; Influência da agitação do meio na toxicidade das NPs; Influência do estágio de desenvolvimento ao efeito das NPs; Efeito no desenvolvimento; Efeito da combinação de tóxicos de referência com as NPs na toxicidade	Aumento na taxa de imobilidade das larvas (48 h); O método de incubação (com ou sem agitação) não influenciou a taxa de imobilização; Acúmulo das NPs no trato gastrointestinal; Adesão na superfície externa da larva; Método de incubação não influenciou no acúmulo das NPs; Instar III foi o estágio mais sensível à exposição; NPs não influenciaram no desenvolvimento/crescimento; Coexposição K ₂ Cr ₂ O ₇ + NPs: aumento na taxa de imobilização das larvas (48 h); Coexposição CuSO ₄ + NPs: diminuição da taxa de imobilização das larvas (48 h)

BaP (benzo[a]pireno); POP (poluente orgânico persistente); CL₅₀ (50% da concentração letal); AChE (acetilcolinesterase); PChE (propionilcolinesterase); CAT (catalase); ChE (colinesterases); CbE (carboxilase); GST (glutathione S-transferase); HSP70 (proteína de choque térmico); ACP (ácido fosfatase); SOD (superóxido dismutase); ROS (espécies reativas de oxigênio); K₂Cr₂O₇ (dicromato de potássio); CuSO₄ (sulfato de cobre). N = 19 estudos.

CONCLUSÕES, PRINCIPAIS LIMITAÇÕES E FUTUROS DIRECIONAMENTOS

O presente trabalho realizou uma revisão bibliográfica crítica e sistemática dos estudos toxicológicos de MPs e NPs no gênero *Artemia*, apresentando os principais aspectos metodológicos empregados e os efeitos tóxicos observados. A partir destes dados, foi possível estabelecer as principais limitações e direcionamentos para futuras pesquisas.

A falta de padronização dos protocolos experimentais, bem como a ausência da descrição dos procedimentos metodológicos, destaca-se como a principal limitação dos estudos toxicológicos de partículas plásticas com *Artemia*. Apesar das tentativas de padronização dos

estudos toxicológicos com artêmia ao longo dos anos, a partir do estabelecimento de protocolos por diferentes órgãos ambientais e por artigos científicos, o problema ainda é persistente na área em questão; e se torna mais urgente tendo em vista as peculiaridades da natureza química e do comportamento dos MPs e NPs em ambientes aquáticos.

A falta de padronização dificulta a comparação dos resultados obtidos pelos diferentes estudos, e a construção de um conhecimento sólido sobre a toxicidade de MPs e NPs em um organismo modelo importante para o entendimento do efeito de partículas plásticas em organismos zooplancônicos. Os problemas encontrados vão desde diferenças nos procedimentos referentes às preparações das suspensões das partículas plásticas, até questões já bem discutidas na literatura, como as condições de manutenção da cultura e o estágio de desenvolvimento para o início dos testes toxicológicos.

Em parte, a ausência da padronização dos protocolos experimentais pode ser atribuída ao fato de que os estudos toxicológicos com MPs e NPs, em artêmias, representam uma área recente e ainda em expansão. A publicação de um protocolo estabelecendo as diretrizes para estudos com nanomateriais (ISO/TS 20787, 2017) pode mudar essa tendência, a partir da adesão de diferentes grupos de pesquisa ao referido protocolo. Cabe, também, à comunidade científica, durante o processo de avaliação por pares dos estudos na área, exigir que os procedimentos experimentais sejam discriminados de maneira bastante detalhada nas seções de metodologia dos artigos científicos. Somente desta forma será possível, ao longo do tempo, construir um conhecimento mais unificado sobre os efeitos desses polímeros nas artêmias, e, conseqüentemente, contribuir para o entendimento do impacto de MPs NPs sobre os ecossistemas de forma mais precisa.

Um aspecto importante a destacar é a realização de estudos sob cenários realísticos de exposição. Apesar dos relatos sobre os efeitos tóxicos de MPs e NPs, e de que estes representam um potencial risco para os ecossistemas, é preciso avançar mais, e poucos estudos tem realizado

investigações com foco em um cenário realístico de exposição. Assim, o efeito real das partículas plásticas, sobre os ecossistemas, ainda é difícil de ser mensurado. A realização de estudos com foco na complexidade encontrada no ambiente, tanto com relação às condições de exposição, quanto em relação ao fluxo dessas partículas através da teia trófica, podem revelar, com mais precisão, o impacto de MPs e NPS sobre os ecossistemas.

O desenho de estudos ecotoxicológicos, com foco nas condições ambientalmente relevantes de exposição, considerando a temperatura, a salinidade, e as características, concentrações e interações dos plásticos no ambiente, incluindo as misturas com outros poluentes, são cruciais para o avanço no conhecimento na área.

O fluxo dos plásticos pela teia alimentar tem sido a principal consequência ambiental citada pelos estudos que reportam o acúmulo das partículas plásticas nos organismos aquáticos. Os estudos com artêmia, sobre o fluxo de plásticos na cadeia trófica, precisam ser ampliados para um melhor entendimento deste fenômeno para a biomagnificação e suas consequências para os ecossistemas. A artêmia tem se demonstrado um excelente modelo experimental, e bastante adequado para responder às questões inerentes ao fluxo de plásticos ao longo da cadeia trófica. Assim, espera-se que mais estudos abordem a transferência trófica de partículas plásticas nos próximos anos.

A falta de diversidade na composição química dos plásticos estudados foi outra lacuna observada pelo presente trabalho. Essa tem sido uma característica dos estudos com esse material, devido, principalmente, à facilidade de obtenção das partículas de PS. Porém, alguns poucos estudos, realizados com outros polímeros (Batel *et al.*, 2016; Cole, 2016; Kokalj *et al.*, 2018; Peixoto *et al.*, 2019; Trestrail *et al.*, 2020; Bour *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2020), já evidenciam os danos que estes podem causar à biota. Assim, estudos futuros devem se esforçar para investigar o efeito toxicológicos de MPs e NPs de diferentes naturezas químicas, incluindo, sobretudo, aqueles de alta prevalência no meio

Em suma, as partículas plásticas são consideradas, na atualidade, agentes estressores relevantes para o zooplâncton, podendo, assim, gerar consequências deletérias para os ecossistemas. Devido a sua posição ecológica na base da cadeia alimentar, a facilidade de utilização em laboratórios, o amplo conhecimento sobre a sua biologia, e o vasto emprego em estudos toxicológicos, as artêmias são animais estratégicos para pesquisas ecotoxicológicas sobre o efeitos de partículas plásticas com elevada prevalência no ambiente e interação com a biota. A ampliação dos estudos, na área em questão, é promissora e, pode, principalmente a partir da normatização dos protocolos, contribuir para um melhor entendimento do impacto ambiental das partículas plástica e colaborar, assim, para políticas públicas de manuseio e descarte de materiais plásticos.

REFERÊNCIAS

- AMELIA, T. S. M. et al. Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. **Progress in Earth and Planetary Science**, v. 8, n. 1, p. 1-26, 2021.
- ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596-1605, 2011.
- ASEM, Al.; RASTEGAR-POUYANI, N.; DE LOS RÍOS-ESCALANTE, P. The genus *Artêmia* leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 38, n. 3, p. 501-506, 2010.
- AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S. H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environment international**, v. 102, p. 165-176, 2017.
- AVIO, C. G.; GORBI, S.; REGOLI, F. Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat. **Marine environmental research**, v. 128, p. 2-11, 2017.
- BATEL, A. et al. Transfer of benzo [a] pyrene from microplastics to *Artêmia* nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 35, n. 7, p. 1656-1666, 2016.
- BAXEVANIS, A. D.; KAPPAS, I.; ABATZOPOULOS, T. J. Molecular phylogenetics and asexuality in the brine shrimp *Artêmia*. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 40, n. 3, p. 724-738, 2006.

BERGAMI, E. et al. Nano-sized polystyrene affects feeding, behavior and physiology of brine shrimp *Artêmia franciscana* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, p. 18-25, 2016.

BERGAMI, E. et al. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artêmia franciscana*. **Aquatic toxicology**, v. 189, p. 159-169, 2017.

BERGAMI, E. et al. Plastics everywhere: first evidence of polystyrene fragments inside the common Antarctic collembolan *Cryptopygus antarcticus*. **Biology letters**, v. 16, n. 6, p. 20200093, 2020.

BESSELING, E. et al. Microplastic in a macro filter feeder: humpback whale *Megaptera novaeangliae*. **Marine pollution bulletin**, v. 95, n. 1, p. 248-252, 2015.

BOTTERELL, Z. L. R. et al. Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. **Environmental Pollution**, v. 245, p. 98-110, 2019.

BOUR, A. et al. Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: a review. **Journal of hazardous materials**, v. 283, p. 764-777, 2015.

BOUR, A. et al. Synthetic Microfiber and Microbead Exposure and Retention Time in Model Aquatic Species Under Different Exposure Scenarios. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, p. 83, 2020.

BOYD, R. D.; PICHAIMUTHU, S. K.; CUENAT, A. New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 387, n. 1-3, p. 35-42, 2011.

BROWNE, M. A. et al. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). **Environmental science & technology**, v. 42, n. 13, p. 5026-5031, 2008.

BRYANT, G.; THOMAS, J. C. Improved particle size distribution measurements using multiangle dynamic light scattering. **Langmuir**, v. 11, n. 7, p. 2480-2485, 1995.

CASADO, M. P.; MACKEN, A.; BYRNE, H. J. Ecotoxicological assessment of silica and polystyrene nanoparticles assessed by a multitrophic test battery. **Environment international**, v. 51, p. 97-105, 2013.

CEDERVALL, T. et al. Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. **PloS one**, v. 7, n. 2, p. e32254, 2012.

COLE, M. A novel method for preparing microplastic fibers. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2016.

COLE, M. et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588-2597, 2011.

COLE, M. et al. Microplastic ingestion by zooplankton. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 12, p. 6646-6655, 2013.

COLLIGNON, A. et al. Neustonic microplastic and zooplankton in the North Western Mediterranean Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 4, p. 861-864, 2012.

CORSI, I.; BERGAMI, E.; GRASSI, G. Behavior and bio-interactions of anthropogenic particles in marine environment for a more realistic ecological risk assessment. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, p. 60, 2020.

DA COSTA, J. P. et al. (Nano) plastics in the environment—sources, fates and effects. **Science of the Total Environment**, v. 566, p. 15-26, 2016.

DELLA TORRE, C. et al. Accumulation and embryotoxicity of polystyrene nanoparticles at early stage of development of sea urchin embryos *Paracentrotus lividus*. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 20, p. 12302-12311, 2014.

DVORAK, P.; BENOVA, K.; VITEK, J. Alternative biotest on *Artémia franciscana*. **Ecotoxicology**, v. 146, p. 51-74, 2012.

ERIKSEN, M. et al. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PloS one**, v. 9, n. 12, p. e111913, 2014.

EOM, H.; NAM, S.; RHEE, J. Polystyrene microplastics induce mortality through acute cell stress and inhibition of cholinergic activity in a brine shrimp. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 16, p. 233-243, 2020.

FENDALL, L. S.; SEWELL, M. A. Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. **Marine pollution bulletin**, v. 58, n. 8, p. 1225-1228, 2009.

FERDOUS, Z.; MUKTADIR, A. K. M. A review: potentiality of zooplankton as bioindicator. 2009.

FERREIRA, I. et al. Nanoplastics and marine organisms: what has been studied?. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 67, p. 1-7, 2019.

FOLEY, C. J. et al. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. **Science of the total environment**, v. 631, p. 550-559, 2018.

FRED-AHMADU, O. H. et al. Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. **Science of The Total Environment**, v. 706, p. 135978, 2020.

FRIAS, J. P. G. L.; OTERO, V.; SOBRAL, P. Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters. **Marine Environmental Research**, v. 95, p. 89-95, 2014.

GAMBARDELLA, C. et al. Effects of polystyrene microbeads in marine planktonic crustaceans. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 145, p. 250-257, 2017.

GANGADOO, S. et al. Nano-plastics and their analytical characterisation and fate in the marine environment: From source to sea. **Science of The Total Environment**, p. 138792, 2020.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science advances**, v. 3, n. 7, p. e1700782, 2017.

GIGAULT, J. et al. Current opinion: What is a nanoplastic?. **Environmental pollution**, v. 235, p. 1030-1034, 2018.

GUERRANTI, C. et al. Microplastics in cosmetics: Environmental issues and needs for global bans. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 68, p. 75-79, 2019.

HAN, X. et al. Effect of polystyrene microplastics and temperature on growth, intestinal histology and immune responses of brine shrimp *Artêmia franciscana*. **Journal of Oceanology and Limnology**, p. 1-10, 2020.

HOLMES, L. A.; TURNER, Andrew; THOMPSON, Richard C. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. **Environmental Pollution**, v. 160, p. 42-48, 2012.

IRSA-CNR, A. P. A. T. 8030 Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti. **Metodi analitici per le acque-Volume Terzo (in italian)**, 2003.

ISO/TS 20787 (2017) Nanotechnologies - Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artêmia* sp. Nauplii. ISO, Geneva, p 15

JOHARI, S. A. et al. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artêmia* sp. nauplii. **Toxicology mechanisms and methods**, v. 29, n. 2, p. 95-109, 2019.

KIM, L. et al. Synthetic and natural microfibers induce gut damage in the brine shrimp *Artêmia franciscana*. **Aquatic Toxicology**, v. 232, p. 105748, 2021.

KIØRBOE, T. How zooplankton feed: mechanisms, traits and trade-offs. **Biological reviews**, v. 86, n. 2, p. 311-339, 2011.

KOELMANS, A. A.; BESSELING, Ellen; SHIM, Won J. Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review. **Marine anthropogenic litter**, p. 325-340, 2015.

KOKALJ, A. J.; KUNEJ, Urban; SKALAR, Tina. Screening study of four environmentally relevant microplastic pollutants: uptake and effects on *Daphnia magna* and *Artêmia franciscana*. **Chemosphere**, v. 208, p. 522-529, 2018.

KOS, M. et al. A case study to optimise and validate the brine shrimp *Artêmia franciscana* immobilisation assay with silver nanoparticles: The role of harmonisation. **Environmental Pollution**, v. 213, p. 173-183, 2016.

KUMAR, G. A. et al. Review on plastic wastes in marine environment–Biodegradation and biotechnological solutions. **Marine Pollution Bulletin**, v. 150, p. 110733, 2020.

LEBRETON, L.; ANDRADY, Anthony. Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. **Palgrave Communications**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2019.

LEE, K. et al. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 19, p. 11278-11283, 2013.

LENZ, R.; ENDERS, K.; NIELSEN, T. G. Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 29, p. E4121-E4122, 2016.

LIBRALATO, G. The case of *Artêmia* spp. in nanoecotoxicology. **Marine environmental research**, v. 101, p. 38-43, 2014.

LIBRALATO, G. et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artêmia* spp. **Ecological indicators**, v. 69, p. 35-49, 2016.

LI, P. et al. Characteristics of plastic pollution in the environment: A review. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, p. 1-8, 2020.

LISH, R. A. D. et al. On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artêmia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113358, 2019.

LOOS, C. et al. Functionalized polystyrene nanoparticles as a platform for studying bio–nano interactions. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 5, n. 1, p. 2403-2412, 2014.

MA, H. et al. Microplastics in aquatic environments: Toxicity to trigger ecological consequences. **Environmental Pollution**, v. 261, p. 114089, 2020.

MACHADO, A. J. T. et al. Single and combined toxicity of amino-functionalized polystyrene nanoparticles with potassium dichromate and copper sulfate on brine shrimp *Artêmia franciscana* larvae. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-18, 2021.

MANFRA, L. et al. Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artêmia franciscana*. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 62, p. e3790, 2012.

MANFRA, L. et al. Intercalibration of ecotoxicity testing protocols with *Artêmia franciscana*. **Ecological Indicators**, v. 57, p. 41-47, 2015.

MANFRA, L. et al. Lethal and sublethal endpoints observed for *Artêmia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 123, p. 60-64, 2016.

MANFRA, L. et al. Comparative ecotoxicity of polystyrene nanoparticles in natural seawater and reconstituted seawater using the rotifer *Brachionus plicatilis*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 145, p. 557-563, 2017.

MATO, Y. et al. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. **Environmental science & technology**, v. 35, n. 2, p. 318-324, 2001.

MATTSSON, K. et al. Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 1, p. 553-561, 2015.

MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ, M. *Artêmia salina* as a test organism for bioassay. **Science**, v. 123, n. 3194, p. 464-464, 1956.

MISHRA, P. et al. Distinctive impact of polystyrene nano-spherules as an emergent pollutant toward the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 1537-1547, 2019.

MOORE, C. J. et al. A comparison of plastic and plankton in the North Pacific central gyre. **Marine pollution bulletin**, v. 42, n. 12, p. 1297-1300, 2001.

MORAIS, L. M. S. et al. The sea anemone *Bunodosoma cangicum* as a potential biomonitor for microplastics contamination on the Brazilian Amazon coast. **Environmental Pollution**, v. 265, p. 114817, 2020.

MURANO, C. et al. How sea urchins face microplastics: uptake, tissue distribution and immune system response. **Environmental Pollution**, v. 264, p. 114685, 2020.

NUNES, B. S. et al. Use of the genus *Artêmia* in ecotoxicity testing. **Environmental pollution**, v. 144, n. 2, p. 453-462, 2006.

OLIVEIRA, T. M. N.; VAZ, C. Marine toxicology: Assays and perspectives for developing countries. In: **Bioassays**. Elsevier, 2018. p. 387-401.

PEIXOTO, D. et al. Uptake and effects of different concentrations of spherical polymer microparticles on *Artêmia franciscana*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 176, p. 211-218, 2019.

PERSOONE, G.; WELLS, P. G. *Artêmia* in aquatic toxicology: a review. **Artêmia research and its applications**, v. 1, p. 259-275, 1987.

PHUONG, N. N. et al. Is there any consistency between the microplastics found in the field and those used in laboratory experiments? **Environmental pollution**, v. 211, p. 111-123, 2016.

PIAZZA, V. et al. A standardization of Amphibalanus (Balanus) amphitrite (Crustacea, Cirripedia) larval bioassay for ecotoxicological studies. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 79, p. 134-138, 2012.

PICCARDO, M.; RENZI, M.; TERLIZZI, A. Nanoplastics in the oceans: Theory, experimental evidence and real world. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111317, 2020.

PINSINO, A. et al. Amino-modified polystyrene nanoparticles affect signalling pathways of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*) embryos. **Nanotoxicology**, v. 11, n. 2, p. 201-209, 2017.

PLASTICS EUROPE, E. P. R. O. Plastics—the facts 2020. An analysis of European plastics production, demand and waste data. Plastics Europe, 2020.

ROSSI, Giulia; BARNOUD, Jonathan; MONTICELLI, Luca. Polystyrene nanoparticles perturb lipid membranes. **The journal of physical chemistry letters**, v. 5, n. 1, p. 241-246, 2014.

RAMIREZ, L. et al. Behavior of TiO₂ and CeO₂ nanoparticles and polystyrene nanoplastics in bottled mineral, drinking and lake geneva waters. impact of water hardness and natural organic matter on nanoparticle surface properties and aggregation. **Water**, v. 11, n. 4, p. 721, 2019.

RHODES, C. J. Plastic pollution and potential solutions. **Science progress**, v. 101, n. 3, p. 207-260, 2018.

RUEBHART, D. R.; COCK, I. E.; SHAW, G. R. Brine shrimp bioassay: importance of correct taxonomic identification of *Artêmia* (Anostraca) species. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 23, n. 4, p. 555-560, 2008.

SCHMID, C.; COZZARINI, L.; ZAMBELLO, E. Microplastic's story. **Marine Pollution Bulletin**, p. 111820, 2020.

SENDRA, M. et al. Ingestion and bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effects on the microalgal feeding of *Artêmia franciscana*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 188, p. 109853, 2020.

SETÄLÄ, O.; FLEMING-LEHTINEN, V.; LEHTINIEMI, M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. **Environmental pollution**, v. 185, p. 77-83, 2014.

SETÄLÄ, O.; NORKKO, J.; LEHTINIEMI, M. Feeding type affects microplastic ingestion in a coastal invertebrate community. *Marine pollution bulletin*, v. 102, n. 1, p. 95-101, 2016.

SHARMA, V. K. et al. Environmental factors-mediated behavior of microplastics and nanoplastics in water: A review. **Chemosphere**, p. 129597, 2021.

SHEN, M. et al. Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: A review. **Environmental pollution**, v. 252, p. 511-521, 2019.

SILVA, J. et al. Calibration of the acute toxicity bioassay with *Daphnia pulex* (crustacea: Cladocera) using a reference toxicant. **Gayana (Concepts)**, v. 67, n. 1, p. 87-96, 2003.

SINGH, B.; SHARMA, N. Mechanistic implications of plastic degradation. **Polymer degradation and stability**, v. 93, n. 3, p. 561-584, 2008.

SOMMER, U. et al. Pelagic food web configurations at different levels of nutrient richness and their implications for the ratio fish production: primary production. In: **Sustainable increase of marine harvesting: Fundamental mechanisms and new concepts**. Springer, Dordrecht, 2002. p. 11-20.

SORGELOOS, P.; REMICHE-VAN DER WIELEN, C.; PERSOONE, G. The use of *Artémia nauplii* for toxicity tests—a critical analysis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 2, n. 3-4, p. 249-255, 1978.

SUMAN, T. Y. et al. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on brine shrimp: First evidence highlighting the molecular mechanism through transcriptome analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123220, 2020.

SUN, X. et al. Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 115, n. 1-2, p. 217-224, 2017.

THOMPSON, R. C. et al. Our plastic age. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, p. 1973-1976, 2009.

TREECE, G. D. **Artémia production for marine larval fish culture**. Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center, 2000.

TRESTRAIL, C. et al. Foaming at the mouth: Ingestion of floral foam microplastics by aquatic animals. **Science of The Total Environment**, v. 705, p. 135826, 2020.

VAN CAUWENBERGHE, L. et al. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. **Environmental pollution**, v. 199, p. 10-17, 2015.

VANHAECKE, P. et al. Research on the development of a short term standard toxicity test with *Artémia nauplii*. 1980.

VANHAECKE, P. et al. Proposal for a short-term toxicity test with *Artémia nauplii*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 5, n. 3, p. 382-387, 1981.

VANHAECKE, P.; TACKAERT, W.; SORGELOOS, P. The biogeography of *Artémia*: an updated review. **Artémia research and its applications**, v. 1, p. 129-155, 1987.

VAN STAPPEN, G. Zoogeography. In: **Artémia: Basic and applied biology**. Springer, Dordrecht, 2002. p. 171-224.

VARÓ, I. et al. Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp *Artêmia franciscana* at physiological, biochemical and molecular levels. **Science of the Total Environment**, v. 675, p. 570-580, 2019.

WAN, J. et al. Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 246**, p. 133-158, 2018.

WANG, Y. et al. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artêmia parthenogenetica*. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 715-722, 2019a.

WANG, Y. et al. The uptake and elimination of polystyrene microplastics by the brine shrimp, *Artêmia parthenogenetica*, and its impact on its feeding behavior and intestinal histology. **Chemosphere**, v. 234, p. 123-131, 2019b.

WIRTZ, K. W. Who is eating whom? Morphology and feeding type determine the size relation between planktonic predators and their ideal prey. **Marine Ecology Progress Series**, v. 445, p. 1-12, 2012.

WORM, B. et al. Plastic as a persistent marine pollutant. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 42, 2017.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho realizou uma revisão bibliográfica crítica e ordenada dos estudos toxicológicos de MPs e NPs no gênero *Artêmia*, apresentando os principais aspectos metodológicos empregados e os efeitos tóxicos observados. A partir destes dados, foi possível estabelecer as principais limitação e direcionamentos para futuras pesquisas. O aumento da padronização das metodologias e o estabelecimento de estudos com cenários realísticos de exposição são os dois principais aspectos que os cientistas devem dar ênfase nas futuras pesquisas sobre o tema. O presente estudo destaca, ainda, a importância e contribuição do gênero *Artemia* como organismo modelo nos estudos sobre o impacto de partículas plásticas no zooplâncton.