

LIV GOLDSTEIN ASCER

Efeitos do plastificante Bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP) na
fisiologia de *Hymeniacidon heliophila*

**Effects of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in the
physiology of *Hymeniacidon heliophila***

São Paulo

2023

LIV GOLDSTEIN ASCER

Efeitos do plastificante Bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP) na
fisiologia de *Hymeniacidon heliophila*

**Effects of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in the
physiology of *Hymeniacidon heliophila***

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de
Título de Doutora em Ciências, na
Área de Fisiologia Geral.

Orientador:

Prof. Dr. Márcio Reis Custódio

São Paulo

2023

Ficha catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pela autora

Goldstein Ascer, Liv

Efeitos do plastificante Bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP) na fisiologia de *Hymeniacidon heliophila* / Goldstein Ascer Liv; orientador Márcio Reis Custódio -- São Paulo, 2023.

161 p.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Ciências Biológicas (Fisiologia).

1. Poluição. 2. Microplástico. 3. DEHP. 4. Microbiota. 5. Esponjas Marinhas. I., Márcio Reis Custódio, orient. Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação: Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Márcio Reis Custódio

*“Às mulheres fortes que me trouxeram
até aqui e àquela que estou formando.
Unidas podemos tudo”*

"It is a curious situation that the sea, from which life first arose should now be threatened by the activities of one form of that life. But the sea, though changed in a sinister way, will continue to exist; the threat is rather to life itself."

Rachel Carson, *The Sea Around Us* | january 1960

Agradecimentos

Nós sempre esperamos ansiosamente pela escrita dos agradecimentos. Mas depois de seis anos no doutorado e dez no total no mesmo laboratório, os agradecimentos soam mais como despedida. Despedida de um ciclo de pós-graduação que foi intenso e me fez crescer muito como pessoa e profissional. Por isso o primeiro agradecimento vai ser para a Liv de 10 anos atrás, que teve coragem de dar o primeiro passo e mergulhar de cabeça nessa aventura. E a todas que se sucederam depois disso, principalmente a que se tornou mãe a mais de cinco anos. Essa não pensou duas vezes em continuar, mesmo com as dificuldades de enfrentar uma pandemia com uma criança pequena em casa, o fim da bolsa e o início de uma carreira como professora de biologia, que ela aprendeu a amar.

A família sempre presente durante esses tempos difíceis, se transformou em rede de apoio depois da chegada da Helena e passou a ser tão essencial quanto o ar que eu respiro. Pai eu não tenho nem palavras para descrever tudo que você foi e é para mim. Aquele que me inspira em tantos aspectos, da sua determinação na vida ao amor à ciência e ao que é correto. Obrigada por enfrentar tudo e todos por mim e ter lutado pela sua vida para não deixar a nossa. Mamis, obrigada por ser essa avó amorosa e mãe inspiradora, que mostra que a vida tem que ser vivida intensamente, para não termos arrependimento depois. À minha avó Nina, nem de longe eu conseguiria expressar em palavras o amor que eu sinto por você e pela sua história. Você é a base da nossa família. “Hamsa hamsa que dieu te benisse!”. Jonas, você me deu a coisa mais importante e preciosa da vida, que é a nossa Keka. Obrigada por ser esse pai incrível e segurar a barra dessa mãe doutoranda que muitas vezes se ausentou para trabalhar. Eu tenho orgulho de quem nos tornamos nessa caminhada. Obrigada por me salvar sempre com a fórmula apropriada a cada planilha Excel com 129000 linhas e 45888 colunas com classes e filamentos de bactérias. E Helena... Você me desafiou desde o dia que nasceu. A vida desde que você chegou é mais animada e emocionante. Mas também mais apreensiva e cansativa... E eu sei que agora essa vida vale a pena porque observo você crescer e se desenvolver, do alto dos seus 5 anos, em uma menina determinada, com opinião e vontades. Continue assim, verdadeira e espontânea. De alguma maneira eu sei que vai dar certo, porque olha aonde eu cheguei! Andor, obrigada por todas as conversas sobre não desistir, ter mais paciência e não surtar. Isso com relação a tudo nessa vida! Ju, obrigada pela sinceridade e espontaneidade. Nem todo mundo tem coragem de falar o que sente. À minha tia Tamara e as minhas irmãs

Daphne e Sophie, obrigada pela presença nas nossas vidas. Com vocês tudo fica mais leve. E ao Alezuco, que me deu a experiência inicial de maternidade. Eu amo vocês. Aos tios Andy, Pascale e Yara, Uri e Elaine, obrigada por sempre me apoiarem, seja tentando entender uma apresentação de congresso ou mostrando interesse pelas esponjas, coisa que é tarefa árdua para os que não as estudam. A todos, obrigada por apoiarem e vibrarem com minhas conquistas! Elas são de vocês também.

À minha família acadêmica, que hoje eu considero família da vida também, os agradecimentos, se fosse possível, teriam mais de dez páginas. Ao professor Márcio, obrigada por me aturar por dez anos! Pela orientação tranquila e por acreditar em mim e não me expulsar do laboratório depois de tanto tempo (rs..). Brincadeiras à parte, obrigada pelo apoio, pela oportunidade de usar o Cebimárcio, que virou minha segunda casa, e pela assertividade com a qual você declara as coisas e esquece logo em seguida! Não poderia ter tido um orientador tão diferente de mim, mas ao mesmo tempo eu não teria passado por tudo e ainda manter a sanidade mental que me resta. Além disso, obrigada por inspirar esse bando de louco que decidiu trabalhar com um organismo que ninguém conhece, difícil de manter em aquário e que esconde (muito bem) a sua capacidade de gerar resultados positivos. “Esponjas não são para corações fracos” (Custódio, desde sempre). Esses loucos do LabCel tem nome e sobrenome. E se hoje eu estou aqui, também é graças a eles.

Mari, obrigada por ter diminuído sua *carioquicidade* (?) para não me frustrar tanto. Você é a irmã gêmea que eu não tive. Um poço de razão para meu balde de emoção. Mi, obrigada por me mostrar que sensibilidade e força podem sim caminhar juntos. Gabriel, não é segredo que durante esses quase 4 anos seu apoio foi essencial para mim. Obrigada. Por absolutamente tudo. Eu amo vocês. Pri, Vini, Beatriz e Diego, obrigada por tornarem os dias mais leves e engraçados. Vagner, obrigada pelo apoio e disponibilidade nas ideias mais loucas!

À Profa. Dra. Cristiane Hardoim, muito obrigada por me introduzir nesse mundo das bactérias e ter paciência para me acompanhar pelos experimentos e análises bioinformáticas. Ainda tenho muito o que aprender, mas hoje sei o quanto ainda estamos longe de entender tudo o que elas representam para a fisiologia das esponjas. Ao Dr. Enrique Rozas pela ajuda nas análises de proteômica, agradeço a disponibilidade de me receber no seu laboratório e me ajudar a entender as análises que seriam feitas. Ao professor Emilio de Lanna pelas discussões e as imagens de histologia. E a cada pessoa

que cruzou meu percurso acadêmico e contribuiu para que eu chegasse aqui, meus agradecimentos.

Bia, Estela, Gabi e Espo. Vocês fazem parte de quem eu sou e agradeço sempre o apoio de vocês em cada etapa desse percurso!

Paulo e Mari, obrigada por deixarem meus dias mais leves. As conversas animadas no almoço, os desabafos, as fofocas. Vocês me receberam de braços abertos e eu espero sempre retribuir da melhor maneira possível essa parceria.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro durante este doutorado.

E a todos que foram citados e que não foram, mas deveriam ter sido, muito obrigada!

Sumário

Resumo	I
Abstract	II
Lista de abreviaturas e siglas	III
Lista de figuras e tabelas.....	IV
Introdução Geral	1
Objetivos	22
Referências	23
Capítulo 1 - In vitro effects of a plastic additive (DEHP) on contraction dynamics of <i>Hymeniacidon heliophila</i> (Demospongiae: Halichondrida)	35
Abstract	35
Introduction	36
Material and Methods	39
Results	42
Discussion	44
Conclusion	49
Acknowledgment	49
References	50
Tables and Figures.....	57
Capítulo 2 - Putative signaling pathways for contraction and its recovery from DEHP arrest in <i>Hymeniacidon heliophila</i>	67
Abstract	67
Introduction	68
Material and Methods	71
Results	75
Discussion	81
Conclusion	86
Acknowledgement.....	90
References	90
Supplementary Information.....	94
Capítulo 3 - Effects of plasticizer Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the microbiome of the marine sponge <i>Hymeniacidon heliophila</i>.....	106
Abstract	106
Introduction	107
Material and Methods	109
Results	113
Discussion	129
Conclusion	136
Acknowledgment	138
Permits	138
References	138
Discussão Geral	157
Conclusão Geral	160
Referências	161

Resumo

A pesquisa em poluição marinha e seus impactos na biota se concentrou nos últimos 15 anos em um importante poluente antrópico, o plástico, e em específico nos efeitos de microplásticos nos organismos marinhos. De tipos e tamanho variados eles tem diferentes origens a depender de seu uso final e carregam em si poluentes químicos que podem contribuir para diversificação dos danos em organismos expostos a essas micropartículas. Apesar de termos uma extensa literatura sobre efeitos físicos dos microplásticos na biota marinha, os efeitos químicos de aditivos e poluentes adsorvidos à sua estrutura ainda é pouco conhecida, especialmente em organismos metazoários basais como as esponjas. Dentre os aditivos com maior presença no ecossistema marinho se encontra o DEHP (Di (2-etilhexil ftalato)), produto utilizado como plastificante para aumentar a maleabilidade de polímeros como o PVC. Conhecido disruptor endócrino em vertebrados, recentemente o DEHP foi encontrado em tecidos de esponjas, porém não se tem relatos sobre seus possíveis efeitos químicos na fisiologia destes organismos filtradores. Este trabalho busca obter, com o uso de metodologias clássicas, como a histologia e modernas, como a análise de ASVs, os primeiros relatos dos efeitos da exposição ao DEHP na esponja *Hymeniacidon heliophila*, em diferentes níveis biológicos. Resultados indicam que o DEHP possivelmente altera não somente características específicas da espécie (contração celular), como também a composição e a estrutura da microbiota a ela associada, cuja presença em porífera já se mostrou essencial para adaptações a variações ambientais.

Palavras-chave: poluição; microplástico; DEHP; microbiota; esponjas marinhas; proteômica; contração

Abstract

Research on marine pollution and its impacts on biota has focused over the last 15 years on an important anthropic pollutant, plastic, and specifically on the effects of microplastics on marine organisms. Of varied types and size, they have different origins depending on their final use and carry chemical pollutants that can contribute to diversification of damage in organisms exposed to these microparticles. Although we have an extensive literature on the physical effects of microplastics on marine biota, the chemical effects of additives and pollutants adsorbed to its structure are still poorly known, especially in basal metazoan organisms such as sponges. Among additives with presence in the marine ecosystem, DEHP (Di(2-ethylhexyl phthalate)), a product used as plasticizer to increase the malleability of polymers such as PVC, has the greater concentration. Potent endocrine disruptor in vertebrates, recently DEHP was found in sponges' tissues, but there are no reports about its possible chemical effects on the physiology of these filter-feeder organisms. This work seeks to obtain, with the use of classical methodologies, such as histology, and modern ones, such as metagenomics, the first reports of the effects of exposure to DEHP in the sponge *Hymeniacidon Heliophila*, at different biological levels. Results indicate that DEHP may alter not only specific characteristics of the species (cell contraction), but also the composition and structure of the associated microbiota, whose presence in porifera has already been described as essential for adaptation to environmental variations.

Keywords : pollution; microplastics; DEHP; microbiome; marine sponges; proteomics; contraction.

Lista de abreviaturas e siglas

5HT	5-hidroxitriptamina
5HTR	receptor de 5-hidroxitriptamina
AC	adenilato ciclase
AMP	adenosina 3',5'-monofosfato
ASV	<i>amplicon sequence variant</i>
ATP	adenosina trifosfato
BPA	bisfenol A
DEHP	Di(2-etilhexil ftalato)
GABBA	Ácido gama-aminobutírico
GAP	Junção comunicante
GMP	Monofosfato de guanosina
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
MLCK	Miosina quinase de cadeia leve
PBDE	éteres difenílicos polibromados
PEAD	polietileno de alta densidade
PEBD	polietileno de baixa densidade
PKC	proteína quinase C
PLC	fosfolipase C
PMCA	<i>Plasma Membrane Calcium ATPase</i>

Lista de figuras e tabelas

Introdução Geral

- Figura 1:** Produção global de plástico, de 1950 a 2019. Adaptado de Our World in Data, baseado em Geyer et al. (2017) 1
- Figura 2:** Tipos de plásticos recicláveis e suas numerações e usos. Adaptado de Mariotti et al. 2019..... 3
- Figura 3:** Tipos e uso de aditivos incorporados durante a produção do plástico..... 3
- Figura 4:** Os cinco principais giros nos oceanos, regiões de convergência de correntes marítimas que levam ao acúmulo de resíduos chamados de “ilhas de lixo”. Adaptado de Constantin & Johnson, 2017 5
- Figura 5:** Vias de degradação e destino de plásticos no ambiente marinho. Adaptado de Amelia et al. 2021 6
- Figura 6:** Classificação dos microplásticos de acordo com sua origem. Microplásticos primários tem origem na matéria prima da indústria plástica, como *pellets* e polímeros em pó. Já microplásticos secundários tem origem na degradação de produtos plásticos como sacolas e garrafas ou então da liberação de microfibras de roupas contendo material plástico após lavagens.....7
- Figura 7:** Mecanismos de sorção de poluentes e aditivos entre plásticos e oceano. Adaptado de Yu et al. 2021.....12
- Figura 8:** Diferentes regiões de transferência de aditivos inseridos na estrutura do microplástico. Camada limite aquosa (CLA) se refere a camada imediata de água em contato com o microplástico. Setas vermelhas indicam transferências entre compartimentos possíveis. HOC: Concentração de compostos orgânicos hidrogenados Adaptado de Veléz et al. 201813
- Figura 9:** Tipos de sistema aquíferos descritos para o Filo Porifera: a – Asconoide, b- Siconoide, c – Leuconoide, d – Sylleibide e e – Solenoide. Traços espessos representam a posição dos coanócitos e câmaras coanocitárias. Adaptado de Cavalcanti & Klautau, 2011.....16
- Figura 10:** Organização geral das estruturas de uma esponja e a passagem do fluxo de água em seu interior. Adaptada de Renard et al. 201317
- Figura 11:** Alteração do volume de uma esponja (*Amphimedon ssp.*) durante um ciclo de expansão-contração em aquário. A linha tracejada indica a área máxima. OS: ósculo (Escala: 1 cm)18
- Figura 12:** Indivíduos de (A) *Aplysina aerophoba*, uma *High Microbial Abundance* (HMA) e (B) *Dysidea avara*, uma *Low Microbial Abundance* (LMA). Imagens de microscopia de transmissão de *A. aerophoba* (C) onde há uma grande presença de bactérias associadas aos tecidos, e em *D. avara* (D) com uma quantidade visualmente menor de bactérias. Legenda: cc – câmara coanocitária; sc – célula de esponja, b – células bacterianas. Barras de escala: figuras 10 µm, insets 1 µm. Adaptado de Rix et al. (2020).20

Capítulo 1

Figuras

Figure 1: Sampling areas of this study. A: Brazil and São Paulo state southeast Atlantic coast. B: Praia Grande beach. C: Porchat Island. Both sites are located near to port access channels (Santos and São Sebastião ports) and exposed to polluted seawater.57

Figure 2: Image transformations for timelapse analysis. A: original image presenting an *Hymeniacidon heliophila* functional papilla with two oscula with inflated perioscular membranes (arrow). B: The same image after a grayscale (8-bit) transformation. C: Result of the threshold transformation to obtain a black and white image and measure the variation of area with the software ImageJ. The smaller black or white dots are discarded in the analysis (scale bars: 1 cm)..... 57

Figure 3: Experimental setup for initial assessment of DEHP's effect on *Hymeniacidon heliophila* contraction-expansion cycles. 58

Figure 4: Individual contraction patterns of a single *Hymeniacidon heliophila* individual. The shaded area indicates each expansion phase. 58

Figure 5: Significant changes in the sponge area. A) Control; B) DEHP. Numbers indicates statistically different changes in the areas and the red lines the duration. Arrow indicates introduction of DEHP or seawater (SW) in the chambers. 59

Figure 6: Variation of the sponge area. There is an increase in the area during DEHP exposure, followed by a partial recovery after the compound is removed (*: significant differences between groups. ANOVA, $F=6,72$, $p<0,05$). 60

Figure 7: Perimeter of canals measured in histological sections (*: significant differences between groups. T-test $T=-4,5$, $p<0,001$). 60

Figure 8: *Hymeniacidon heliophila* histological slide example. Slides from exposed and control organisms were analyzed by ImageJ and white areas were considered to obtain perimeter and area of canals and chambers. Scale Bar: Papilla: 0,5cm, Insert: 0,2cm.....61

Figure 9: Variation of total area occupied by canals in control (black) and exposed (grey) sponges. There were no significant differences between groups. 62

Figure 10: Perimeter density distribution from control and sponges exposed to DEHP (90 $\mu\text{L/L}$), indicating the differences between groups. 62

Figure 11: Area density distribution of control and sponges exposed to DEHP (90 $\mu\text{L/L}$), indicating small variation between groups. 63

Figure 12: Dose-response effect on *Hymeniacidon heliophila* contractions pattern. Red lines represent significantly changes in average means before, during and after DEHP/Saline exposure. Shaded area indicates acclimatation period. 64

Figure 13: Parameters from cell cultures of *Hymeniacidon heliophila*. A) Primmorphs counting; B) average size of primmorphs; C) total area occupied by primmorphs. No significant differences were observed in the studied parameters. 65

Tabelas

Table 1: Changepoints location during control (A) and exposed (B) experiments. Significantly changes in mean area locations for each sponge analyzed. A: control group, B: exposed group. Grey columns indicate changepoints location before (4), during (5) and after (6) DEHP exposure (at 1750).56

Capítulo 2

Figuras

Figure 1: Sampling areas. A: Brazil and São Paulo state, southeast Atlantic coast. B: Praia Grande beach. C: Porchat Island. Both sites are located in urban areas near to port access channels (Santos and São Sebastião ports) and exposed to polluted seawater.73

Figure 2: *Hymeniacidon heliophila*, showing a functional sponge with inflated perioscular membranes on the top of the papillae (arrows). Scale bar: 1 cm73

Figure 3: Venn diagram presenting the number of exclusive and common peptides detected and identified in the control and DEHP exposed organisms.74

Figure 4: Relative abundance of identified peptides involved in A – Biological Processes and B – Molecular functions - in control and DEHP exposed organisms.75

Figure 5: Putative calcium pathways involved in *H. heliophila* contraction. As MLCK pathway is not present in control organisms, unconventional myosins could be activated from PLC/PKC signaling pathway. Adenylate cyclase wouldn't interfere.87

Figure 6: Putative contraction recovery pathway after the arrest of the contraction cycles caused by DEHP exposure in *H. heliophila*. The MLCK signaling pathway was already described as important for contraction in sponges (Colgrens and Nichols, 2022) Only exposed organisms presented MLCK pathway proteins.88

Tabelas

Table 1: GeneOntology of biological processes in control and exposed organisms.76

Table 2: GeneOntology of molecular functions in control and exposed organisms.77

Table SI 1: Pathways components detected in control and exposed organisms.93

Table SI 2: Biological process identified in Gene Ontology for control and exposed organisms.....96

Table SI 3: Molecular functions identified in Gene Ontology for control and exposed organisms.....100

Table SI 4: Calcium and Contraction signaling pathway components manually found in control and exposed organisms.101

Capítulo 3

Figuras

Figure 1: DEHP exposure experimental design. Samples were named accordingly to their experimental dose and time of sampling. CE: Control Experiment, LD, MD, HD: Low, Medium and High Dose Experiments, respectively, T4H: 4 hours of exposure and T24H: 24 hours of exposure 110

Figure 2: Steps of the processing of the 16S rRNA gene analyses and the corresponding number of sequences reads and ASVs in each step..... 113

Figure 3: Phylum- (A) and class-level (B) prokaryotic community composition associated with *Hymeniacidon heliophila* submitted to DEHP exposures. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24). 117

Figure 4: Relative abundance of dominant phyla for control and exposed groups. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24)..... **119**

Figure 5: Relative abundance of alpha- and gamma-proteobacteria in control and exposed groups. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24). A: Alphaproteobacteria, G: Gammaproteobacteria..... **120**

Figure 6: Non-metric multidimensional scaling (nMDS) plots. nMDS based on Bray–Curtis distances calculated from the normalized ASV table for each treatment against control sponges (A) LD, (B) MD and (C) HD. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24).....**122**

Figure 6: Non-metric multidimensional scaling (nMDS) plots. nMDS based on Bray–Curtis distances calculated from the normalized ASV table for each treatment against control sponges (A) LD, (B) MD and (C) HD. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24)..... **123**

Figure 8: Changes in core microbiome phyla abundance during DEHP exposure. Control experiment at 4 hours (CE4) and 24 hours (CE24), low dose experiment at 4 (LD4) and 24 hours (LD24), medium dose experiment at 4 (MD4) and 24 hours (MD24), high dose experiment at 4 (HD4) and 24 hours (HD24).....**126**

Tabelas

Table 1: Alpha-diversity indexes for all observed metrics**115**

Table 2: Phylum found in *H. heliophila* microbiome exposed to different concentrations of DEHP at start and end of experiment (%).**118**

Table 3: Twenty most abundant classes found in *H. heliophila* microbiome exposed to different concentration of DEHP at start and end of experiment (%).**121**

Table 4: Class relative abundance in Control and Exposed ASVs cores. Proteobacteria, the most abundant one, was represented by its two major classes in bold.**127**

Table SI 1a: Multicomparison analysis of ANOVA results between Control and low dose (LD) *: $p < 0,05$ **145**

Table SI 1b: Multicomparison analysis of ANOVA results between Control and medium dose (MD) *: $p < 0,05$ **146**

Table SI 1c: Multicomparison analysis of ANOVA results between Control and high dose (HD) *: $p < 0,05$ **147**

Table SI 2: Core and exclusive ASVs classification and abundance in Low dose experiment.....**148**

Table SI 3: Core and exclusive ASVs classification and abundance in Medium dose experiment.**152**

Table SI 4: Core and exclusive ASVs classification and abundance in High dose experiment..... **154**

Introdução Geral

Plásticos: características gerais, fontes, destinos e efeitos

A história sempre dividiu e nomeou suas eras de acordo com o uso do principal material de cada época. Foi assim com a Idade da Pedra, do Bronze e do Ferro. Hoje há quem diga que estaríamos vivendo na Era do Plástico, ou Plasticeno (Ilechukwu et al. 2023). O plástico é um material que foi desenvolvido em meados do século XX, porém seu uso era restrito, sendo principalmente utilizado na produção dos rádios da época (Klun et al. 2022). Com o fim da Segunda Guerra Mundial, o plástico começou a ser produzido em larga escala, chegando a cinco milhões de toneladas em 1950 (Geyer et al. 2017). Características como leveza, preço e durabilidade foram essenciais para o aumento contínuo da sua produção ao longo dos anos: de 30 milhões de toneladas em 1988 a 359 milhões em 2018 (Fig. 1).

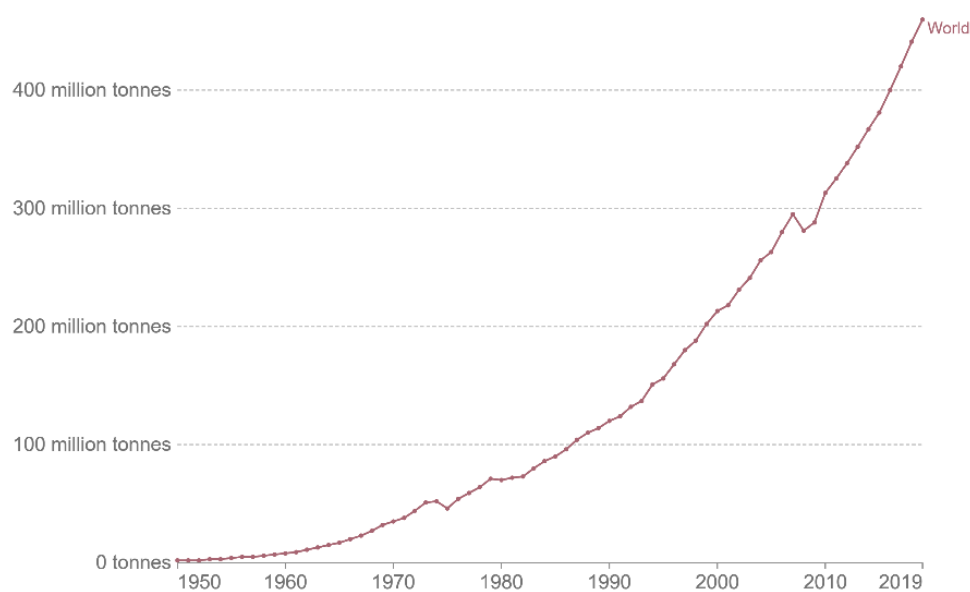


Figura 1: Produção global de plástico, de 1950 a 2019. Adaptado de Our World in Data, baseado em Geyer et al. (2017).

Composição do plástico

O material plástico é um material orgânico fabricado a partir de resinas derivadas do petróleo (Weinhagen, 2006). São considerados polímeros sintéticos ou semissintéticos

que apresentam longas cadeias de átomos de carbono associados entre si em forma de monômeros (Wiesinger et al. 2021). Essas cadeias poliméricas podem ser caracterizadas como termorrígidas (ou termofixos), que uma vez moldados não podem ser transformados. Eles dão origem a estruturas rígidas e duráveis como pneus, partes de aviões e automóveis (Muzzy & Kays, 1984). Já os termoplásticos são aqueles que permitem fusão por aquecimento e solidificação por esfriamento, ou seja, podem ser fundidos e moldados novamente após serem fabricados. Estes plásticos podem então ser reciclados (Muzzy & Kays, 1984). Os termoplásticos são utilizados em embalagens, fibras e filmes (Fig. 2).

Existe uma grande variedade de polímeros, dentre eles, os mais conhecidos são o polietileno (PE), o cloreto de polivinila (PVC), poliestireno (PS), o polipropileno (PP) e o Polietileno Tereftalato (PET) cada um com características diferentes como dureza, leveza, resistência, entre outros (Fig.2).

Além dos monômeros associados entre si para a formação dos diferentes polímeros, os plásticos possuem em sua estrutura aditivos químicos que permitem que características como maleabilidade, resistência ao fogo, cor, entre outras, sejam modificadas para melhor atender as necessidades de sua utilização. Os aditivos são elementos químicos fracamente ligados a cadeia de carbono do material (Fig. 3), podendo então ser liberados ao longo da vida útil do plástico (Rudel et al. 2003; Lucattini et al. 2018), resultando em uma exposição ao meio ambiente destas substâncias químicas (Groh et al. 2019).

						
PET	PEAD	PVC	PEBD	PP	PS	Outros
Polietileno Tereftalato	Polietileno de alta densidade	Policloreto de vinila	Polietileno de baixa densidade	Polipropileno	Poliestireno	Outros
Garrafas e frascos	Embalagens de cosméticos	Materias de construção civill	Sacolas	Cabides e outros utensílios	Embalagens em geral	Produtos com mistura de polímeros
						

Figura 2: Tipos de plásticos recicláveis e suas numerações e usos. Adaptado de Mariotti et al. 2019

Aditivos de polímeros plásticos

Funcionais	Corantes	Preenchimento	Reforço	Não intencionais
				
Alteram funções do plástico como maleabilidade, resistência ao calor e estabilizantes	Alteram a cor do polímero, transparência e brilho	Melhoram as qualidade físicas do plástico como sua rigidez e podem ser minerais, metais entre outros. Diminuem o custo de produção	Melhoram força e resistência do polímero	Substâncias não intencionais adicionadas
Ftalatos Retardantes de chama	Pigmentos Corantes	Carbonato de cálcio Talco	Fibra de vidro Fibra de carbono	

Figura 3: Tipos e uso de aditivos incorporados durante a produção do plástico.

Acúmulo no meio ambiente

A grande maioria do plástico que usamos hoje é considerado de uso único e logo, descartável. Sendo assim, o plástico se tornou o principal componente dos resíduos sólidos, acumulando no meio ambiente por falta de descarte correto. Este acúmulo acaba por se encontrar no ambiente marinho (Thushari & Senevirathna, 2020), onde é considerado o seu maior poluidor, constituindo 75% de todos os resíduos encontrados nos oceanos e regiões anexas, como praias e zonas costeiras remotas como ilhas não habitadas (Zhou et al. 2011). Apesar de diversas possibilidades de classificação para esses plásticos existirem, como cor, tipo e forma (Pedà et al. 2020), o tamanho é o mais utilizado pela comunidade científica para selecioná-los. Essas categorias separam por tamanho macroplásticos (com tamanho superior a 20 mm), mesoplásticos (fragmentos entre 5 e 20 mm) e microplásticos (fragmentos inferiores a 5 mm). Ultimamente, diversas pesquisas têm descrito a categoria do nanoplástico, fragmentos inferiores a 1 μm (Bermúdez & Swarenski, 2021).

Macroplásticos

Os macroplásticos são os tipos de detritos marinhos mais perceptíveis, pois seu acúmulo é visível a olho nu. Os relatos deste acúmulo nos oceanos começam nos anos 1970 (Carpenter et al., 1972; Venrick et al., 1973) e essas observações se estendem a diversos tipos de ambientes, principalmente aquáticos (Lusher, 2015; Shim et al., 2018). Estes resíduos chegam ao ambiente marinho a partir de diversas rotas de origem marinha, como resíduos de pesca, barcos e transporte marítimo, ou terrestre, como descarte irregular de lixo e esgoto não tratado, descarte de resíduos da indústria e tempestades (Osman et al. 2023). Uma vez no ambiente marinho eles podem ser transportados tanto horizontalmente quanto verticalmente para diversos compartimentos dependendo da sua densidade e forma. A maioria dos plásticos, cuja densidade é menor que a água do mar,

tem tendência a boiar (Bauer et al. 2018) e são transportados pelos ventos e correntezas por longas distâncias (Song et al. 2018). Este tipo de transporte horizontal é o responsável pelas formações dos giros oceânicos (LeBreton et al. 2018) onde, não coincidentemente, se acumulam resíduos plásticos marinhos formando ilhas de lixo (Fig. 4)



Figura 4: Os cinco principais giros nos oceanos, regiões de convergência de correntes marítimas que levam ao acúmulo de resíduos chamados de “ilhas de lixo”. Adaptado de Constantin & Johnson, 2017

Já o transporte vertical, que depende da densidade do plástico, é realizado pela movimentação da camada mista do oceano. A presença de bioincrustações e biofilmes pode aumentar o peso do resíduo, levando a uma submersão mais rápida. Uma vez no fundo, o resíduo pode se estabelecer definitivamente ou ainda ser transportado via correntes (Choy et al. 2019). Com o transporte horizontal e vertical, esses fragmentos de plástico podem acabar se deteriorando em partículas menores, os microplásticos, por diversos mecanismos como fotodegradação e degradação mecânica (Fig 5).

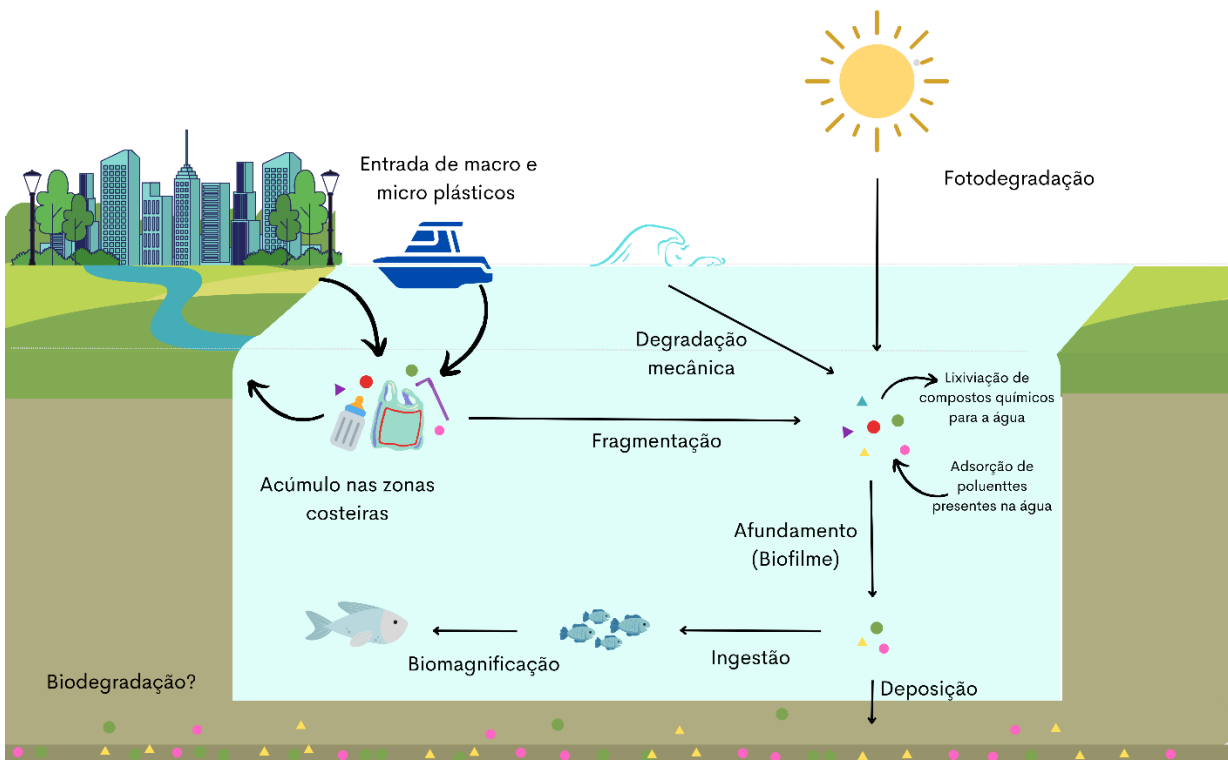


Figura 5: Vias de degradação e destino de plásticos no ambiente marinho (adaptado de Amelia et al. 2021)

Microplásticos

Como seu nome indica, microplásticos possuem tamanhos menores de 5 mm e logo não são facilmente detectados pelos olhos humanos. Por este motivo, não foram fonte de pesquisa intensa até meados dos anos 2000 (Cole et al. 2011). Estes podem ser classificados em duas diferentes categorias: microplásticos primários ou secundários, de acordo com sua origem.

Os microplásticos primários são plásticos menores de 5 mm que foram criados com este tamanho e em geral servem como matéria prima para a produção de objetos a partir de termoplásticos. Chamados de *plastic pellets*, esses polímeros são estruturas esféricas que são transportadas da sua localidade de fabricação a de transformação por meio de transporte marítimo. As perdas de *pellets* ao longo dessas rotas já foram identificadas (Sheavley & Register, 2007f). Além do transporte, as perdas podem vir durante sua manufatura e seu processamento (Essel et al., 2015). No Brasil, diversos estudos foram

realizados sobre a distribuição deste tipo de plástico na região da baixada santista, litoral do estado de São Paulo, cujo porto de Santos, o maior da América Latina, é origem de navios que transportam este tipo de produto (Junior et al. 2022). No geral os *pellets* são encontrados próximos às praias, principalmente na linha de deixa (Junior et al. 2022) de regiões portuárias. Os microplásticos primários podem também servir como agentes abrasivos de cosméticos entre outras funções (Andrady. 2011). Estes polímeros em pó podem acabar nos oceanos após consumo de produtos que os contém, como por exemplo esfoliantes, sabonetes ou outros, com propriedades abrasivas (Andrady. 2011, Fig. 6)

Os microplásticos secundários tem origem na degradação de macroplásticos que já estão no ambiente. Processos como fotodegradação e envelhecimento de produtos mal descartados, como sacolas e garrafas plásticas, levam a formação desse tipo de microplástico, além da liberação de microplásticos provindos da degradação de roupas com esse composto, como as esportivas. (Yousif & Haddad, 2013; Volgare et al. 2021. fig 6).

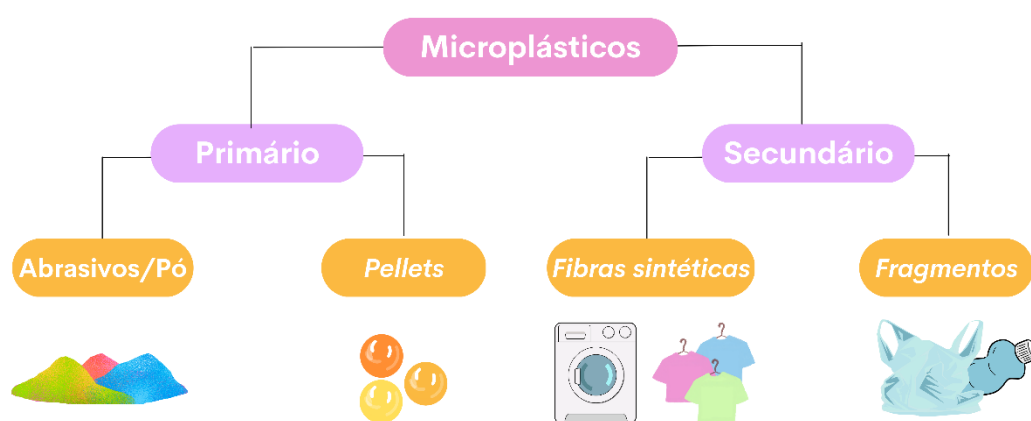


Figura 6: Classificação dos microplásticos de acordo com sua origem. Microplásticos primários tem origem na matéria prima da indústria plástica, como *pellets* e polímeros em pó. Já microplásticos secundários tem origem na degradação de produtos plásticos como sacolas e garrafas ou então da liberação de microfibras de roupas contendo material plástico após lavagens .

Os microplásticos, uma vez no ambiente, podem ainda se degradar, formando partículas cada vez menores, porém incapazes de se degradar por completo, acabam se tornando uma poluição invisível e onipresente (Loganathan & Philip, 2023).

Em geral todo resíduo presente em corpos de água acabam chegando ao oceano (Li et al. 2020). Os microplásticos, pelo seu tamanho e formas, viajam longas distâncias e estão presentes em todos os oceanos (LeBreton et al. 2018), das regiões equatoriais a polares muito ou pouco habitadas (Loganathan & Philip, 2023). Estimativas apontam que a concentração de microplásticos nos oceanos até 2030 será de 500 mg/m³, o dobro da encontrada em 2016. Essa quantidade de microplástico no ambiente marinho pode levar a impactos importantes nos organismos que habitam esse ecossistema.

Efeitos dos plásticos nos organismos marinhos

Os efeitos dos plásticos em geral nos organismos marinhos podem ser divididos em duas categorias. A primeira, de potenciais efeitos físicos da ingestão desses fragmentos pela biota marinha, e a segunda, de efeitos químicos relacionados a poluentes que podem tanto ser liberado da sua própria estrutura (lixiviação de aditivos) quanto da adsorção de poluentes da água e liberação na biota uma vez ingeridos (Fig. 6). Os macroplásticos, pelo seu tamanho, vão em geral causar impactos físicos na megafauna marinha (Rodrigue, 2017) Os efeitos de ingestão foram os primeiros a serem documentados em aves nos anos 70 (Bourne, 1976), levando a vários tipos de problemas, como inanição, diminuição da condição corpórea, do crescimento e do desenvolvimento (Lavers et al. 2014), e mesmo o bloqueio ou perfuração do trato gastrointestinal (Roman et al. 2019). No entanto, os impactos físicos dos macroplásticos nestes organismos não se dão apenas via ingestão e eventos como enforcamento e asfixia já foram relatados. Estimativas indicam que 58% das espécies de pinípedes (focas, morsas e leões marinhos) já foram avistadas com resíduos plásticos em torno do pescoço e nadadeiras (Boland & Donohue, 2003),

principalmente em indivíduos jovens. Esses resíduos são muitas vezes lacres plásticos de embalagens e resíduos de pesca. Em organismos marinhos pulmonados, como baleias e tartarugas, a asfixia também é um dos efeitos físicos da presença de plástico no ambiente que impede esses organismos de voltar a superfície para respirar (Fossi et al. 2018) Com relação aos efeitos químicos da ingestão dos plásticos por esses organismos, apesar de termos relatos de contaminação de mamíferos marinhos por aditivos como os ftalatos (Fossi et al. 2014), a toxicidade em si foi pouco estudada (Zhang et al. 2021), ao contrário dos efeitos dos microplásticos.

Efeitos dos microplásticos nos organismos marinhos

Por terem tamanho reduzido e quantidade crescente nos oceanos, os microplásticos possuem maior biodisponibilidade do que macroplásticos, principalmente em níveis tróficos menores (Wright et al. 2017). Os organismos nesses níveis muitas vezes possuem seleção limitada das partículas ingeridas, que levam em conta basicamente seu tamanho (Moore, 2008). Dentre os organismos aquáticos mais susceptíveis de ingestão e/ou interação com microplásticos estão os detritívoros, depositívoros, suspensívoros e filtradores (Wright et al. 2017). Dentre os detritívoros e depositívoros, já foi observado ingestão de microplásticos de vários tipos e formas em poliquetas, crustáceos, anfípodos e holotúrias (Murray & Cowie, 2011, Graham & Thompson, 2009). Já nos demais, observações experimentais indicam que organismos ciliados, equinodermas, copépodes, bivalves e demais invertebrados podem, uma vez em contato, ingerir microplásticos (Hart, 1991; Christaki et al.1998; Bolton and Havenhand, 1998; Browne et al., 2008). Após ingestão dos microplásticos por esses organismos de menor cadeia trófica, tanto efeitos físicos quanto químicos podem se suceder.

Efeitos físicos

Assim como para partículas maiores, a ingestão de microplásticos pode levar a uma série de impactos físicos nos organismos que os ingerem. Atualmente, bivalves tem sido os organismos modelo para o estudo desses tipos de impactos em invertebrados marinhos. A ingestão e o acúmulo de poliestireno já foram observados em *Mytilus edulis*, o mexilhão azul, tanto na cavidade gástrica, quanto na hemolinfa e hematócitos, indicando translocação das partículas do trato digestivo para a circulação (Von Moos et al. 2012). As consequências fisiológicas dessa interação, que durou por 48 dias, foram a formação de granulocitomas (inflamação) e aumento de hematócitos, ativando então o sistema imune (Browne et al. 2008). Já a pesquisa da ingestão de microplásticos em vertebrados marinhos se concentra principalmente nos peixes, já que vários possuem valor comercial e seu consumo pode estabelecer rota de contaminação de microplástico para outros peixes (biomagnificação, Fig. 5) e para os seres humanos (Karbalaei et al. 2018). Apesar da falta de pesquisas que evidenciem a presença de microplásticos em outros tecidos que o trato digestório (Wang et al. 2020), as partículas já foram observadas na cavidade gástrica e após translocação, nas brânquias, fígado e músculo de diversas espécies demersais e pelágicas (Rummel et al., 2016). A nível celular, os impactos da presença dos microplásticos nos organismos marinhos levam a um aumento dos níveis de biomarcadores de estresse e inflamação (von Moos et al., 2012; Rochman et al., 2013).

Apesar dos diversos estudos a respeito dos impactos físicos dos microplásticos nos organismos marinhos, poucos efeitos negativos a nível de indivíduo foram observados após exposições agudas e crônicas. Os efeitos físicos aparentam ser subletais, como demonstram as pesquisas de Tourinho e colaboradores (2022) em *Daphnia Magna* expostas a fibra de PET e Walkinshaw e colaboradores (2023) com juvenis de *Mytilus spp* expostos a poliéster. Com isso, uma linha de pesquisa que vem se desenvolvendo é a

de análise dos efeitos químicos que os microplásticos podem carregar em sua superfície ou estrutura.

Efeitos químicos

A alta concentração de microplásticos no ambiente marinho além de suas propriedades físico-químicas como hidrofobicidade, tamanho e persistência tornam os microplásticos passíveis de lixiviação de aditivos de sua estrutura para a água. Por outro lado, podem também adsorver contaminantes marinhos para sua própria estrutura, se tornando então veículo de coquetéis de poluentes. (Cole et al., 2011; Lee et al., 2022).

A degradação do plástico em microplástico e a ação dos fatores ambientais sobre as partículas alteram sua estrutura, que além de já possuírem grande hidrofobicidade, passam a apresentar maior porosidade e área de superfície de contato com a água do que partículas maiores do material (Chinaglia et al. 2018). Essas características fazem do microplástico o veículo ideal de adsorção e transporte de poluentes marinhos de origem antrópica como surfactantes fluorados, pesticidas e medicamentos (Kimura et al., 2005; Schwarzenbach et al., 2010, Fig. 7). Os poluentes uma vez adsorvidos permanecem na fração mais externa das partículas plásticas, não chegando a sua estrutura orgânica. Essa interação poluente-microplástico depende de ligações fracas, que permite que em ambientes específicos haja liberação dos poluentes por dessorção, tanto em organismos quanto na água (Ho et al. 2023, Fig. 7). Desta maneira, a poluição química local pode ser transferida para a coluna d'água ou para a biota exposta aos microplásticos, onde serão bioacumuladas e eventualmente biomagnificadas ao longo da cadeia trófica (Fig. 5). Essa adsorção depende do estado de degradação do microplástico e do tipo de polímero. Na natureza, poluentes como o pesticida dichlorodiphenyltrichloroethano (DDT), antibióticos como amoxicilina e hormônios como o estradiol já foram detectados em diferentes microplásticos (Yu et al. 2021). Esses poluentes estão associados a danos

ecotoxicológicos como disrupção endócrina e disfunção dos sistemas imune, nervoso e endócrino de organismos marinhos (Frias et al. 2010).

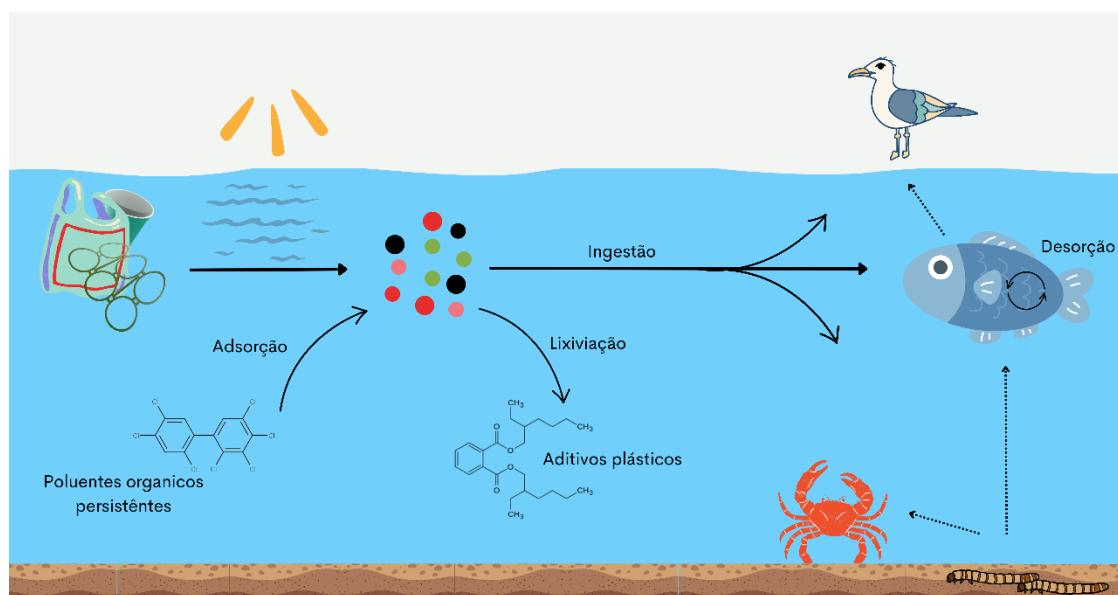


Figura 7: Mecanismos de sorção de poluentes e aditivos entre plásticos e oceano. Adaptado de Yu et al. 2021

Outros elementos químicos associados aos plásticos também podem ser liberados na água e na biota marinha, como os aditivos incorporados a sua estrutura durante seu processamento inicial (Bridson et al. 2021, Fig. 6 e 7). O processo, chamado de lixiviação, permite que esses aditivos passem da estrutura do polímero, onde estão associados por ligações fracas, da mesma maneira que a desorção. Porém essa liberação acompanha o equilíbrio das concentrações dos aditivos (HOC) entre as diferentes fases presentes na estrutura do microplástico (Fig. 8).

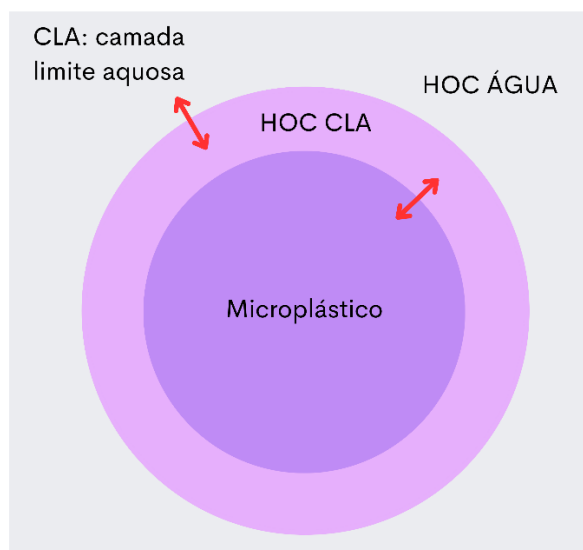


Figura. 8: Diferentes regiões de transferência de aditivos inseridos na estrutura do microplástico. Camada limite aquosa (CLA) se refere a camada imediata de água em contato com o microplástico. Setas vermelhas indicam transferências entre compartimentos possíveis. HOC: Concentração de compostos orgânicos hidrogenados Adaptado de Veléz et al. 2018.

Diferentes aditivos podem ser incorporados a estrutura dos plásticos, porém os mais estudados são aqueles que foram identificados no ambiente marinho, dentre eles, PBDEs, BPAs e ftalatos (Bergé et al., 2013, Net et al., 2015). Esses aditivos já foram detectados em tecidos de organismos marinhos. PBDEs foram encontrados em bivalves, peixes e mamíferos marinhos (Ramu et al., 2007, Peng et al., 2007, de Boer et al., 1998), sugerindo a transferência entre água, alimento e/ou microplásticos e organismos contaminados. Ftalatos também são amplamente encontrados não só no ambiente, mas também em tecidos de organismos marinhos de diversas espécies, de produtores primários (em plâncton e microalgas) a consumidores quaternários (tubarões) (Tanaka et al.2018). Apesar das evidências de bioacumulação desses poluentes nos organismos estudados, não há ainda evidências de biomagnificação dentro de cadeias tróficas (Hermabessiere et al. 2017).

A toxicidade ligada a exposição desses contaminantes nos organismos marinhos é estudada por ensaios controlados em laboratório e uma série de produtos químicos

liberados pelos microplásticos pode ser considerada tóxica. Geralmente associados a disrupção endócrina nos organismos analisados, a família dos ftalatos é a mais estudada, por sua ampla distribuição e concentração no ambiente marinho (Hidalgo-Serrano et al. 2022). Além disso, a presença de ftalatos também é uma medida indireta da contaminação por microplásticos na biota e no ambiente (Fossi et al. 2014). Com relação a presença e os efeitos químicos detectados em organismos marinhos, a extração de ftalatos de tecido adiposo identificou bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), um dos aditivos mais amplamente utilizados (Qu et al. 2022), em baleias (Lusher et al. 2018), nas brânquias e músculos de diferentes espécies de peixes (Squillante et al, 2023) e invertebrados como holotúrias (Sharifi et al. 2017), corais (Weerasinghe et al. 2018) e esponjas (Giametti & Finelli, 2022). Os efeitos tóxicos desses compostos nestes organismos atingem tanto desenvolvimento quanto a reprodução: em laboratório, crustáceos, anfíbios, peixes e moluscos apresentaram disfunções quando expostos a concentrações de ftalatos iguais às que já foram encontradas nos ambientes naturais (Oehlmann et al. 2009). Apesar de existirem importantes e detalhados relatos dos efeitos tóxicos dos ftalatos em humanos (Meeker et al. 2009) e outros vertebrados, pouco se sabe sobre seus possíveis efeitos em invertebrados sésseis como em cnidários e esponjas, cuja exposição ao ftalato em ambientes contaminados pode ser constante.

Esponjas marinhas: Classificação, ecologia, estrutura e fisiologia

O filo Porifera compreende os primeiros organismos a se diferenciarem dentre os metazoários (Müller, 2003; Redmond e Mclysaght, 2021). Sendo assim, são espécies essenciais para o entendimento da evolução de mecanismos fisiológicos importantes ao restante dos animais, como contração, percepção, detoxificação, simbiose, entre outros (Muller, 2003).

Ecologia

Exclusivamente aquáticos, os representantes do filo estão amplamente distribuídos nos oceanos e ambientes de água doce em todo o planeta. Atualmente estão descritas quase 10000 espécies de esponjas (de Voogd et al., 2023), com estimativa de que cerca de 4000 novas espécies esperem por descrição ou ainda não tenham sido descobertas (de Voogd et al., 2023). O filo é atualmente dividido em quatro Classes: Hexactinellida, Desmospongiae, Calcarea e Homoscleromorpha, que diferem entre si por características específicas na organização celular, tipo de esqueleto, reprodução e desenvolvimento (Renard et al. 2013). Dentre estas classes, a Desmospongiae é a maior, com 7920 espécies (de Voogd et al., 2023) e também a mais diversa em termos de organização corporal, esqueleto e distribuição, podendo ocupar tanto ambientes marinhos quanto de água doce em qualquer latitude.

Estrutura e fisiologia

A organização corpórea das esponjas inclui cinco tipos diferentes de sistemas aquíferos, representados na figura 9 (Cavalcanti & Klautau, 2011).

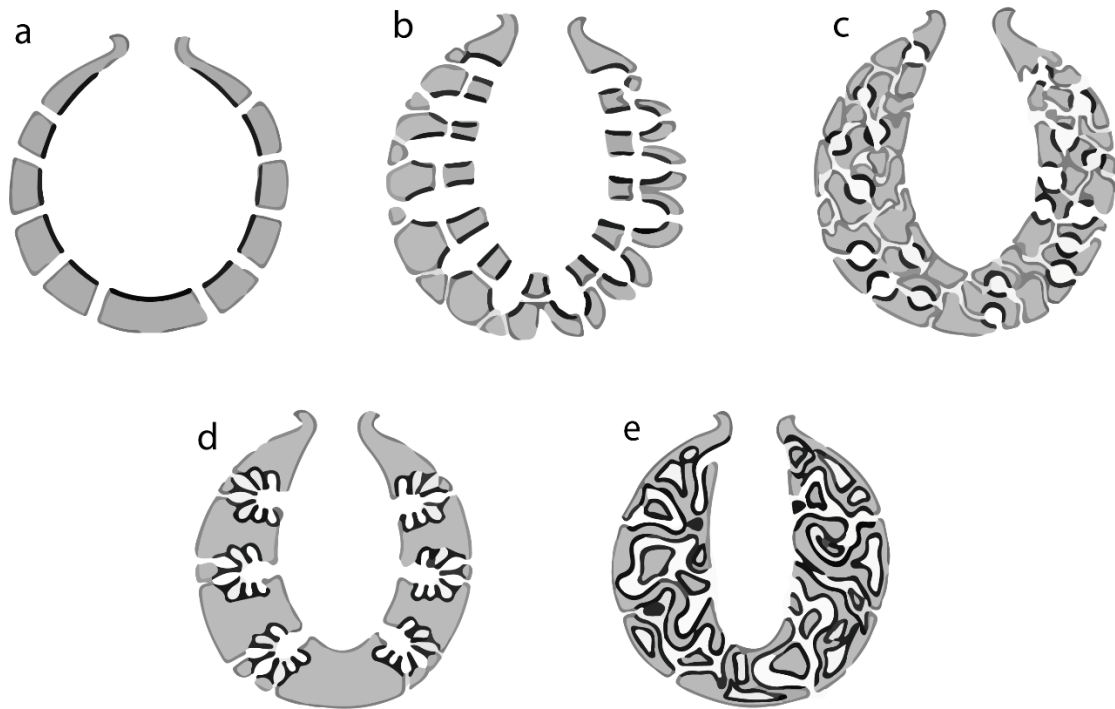


Figura 9: Tipos de sistema aquíferos descritos para o Filo Porifera: a – Asconoide, b- Siconoide, c – Leuconoide, d – Sylléibide e e – Solenoide. Traços espessos representam a posição dos coanócitos e câmaras coanocitárias (adaptado de Cavalcanti & Klautau, 2011).

Os sistemas aquíferos das esponjas, apesar de diversos, possuem estruturas comuns a todos e são essenciais para a movimentação da água pelo corpo do animal (Fig. 9). De uma maneira geral, a água entra pelos óstios e canais inalantes a eles conectados encaminham a água até as câmaras coanocitárias. Estas câmaras são compostas por células especializadas, os coanócitos, que ao baterem seu flagelo criam o fluxo de água no interior do corpo do animal, trazendo partículas orgânicas. Estas então serão filtradas pelo colar de microvilosidades dos coanócitos, sendo fagocitadas e dando início ao processo de digestão (Simpson, 1984). A água após filtração passa para canais exalantes, que podem coletar água processada de diversas câmaras e cujos diâmetros são maiores que os inalantes, e é conduzida ao átrio, saindo para o exterior por uma abertura chamada de ósculo (Fig. 10).

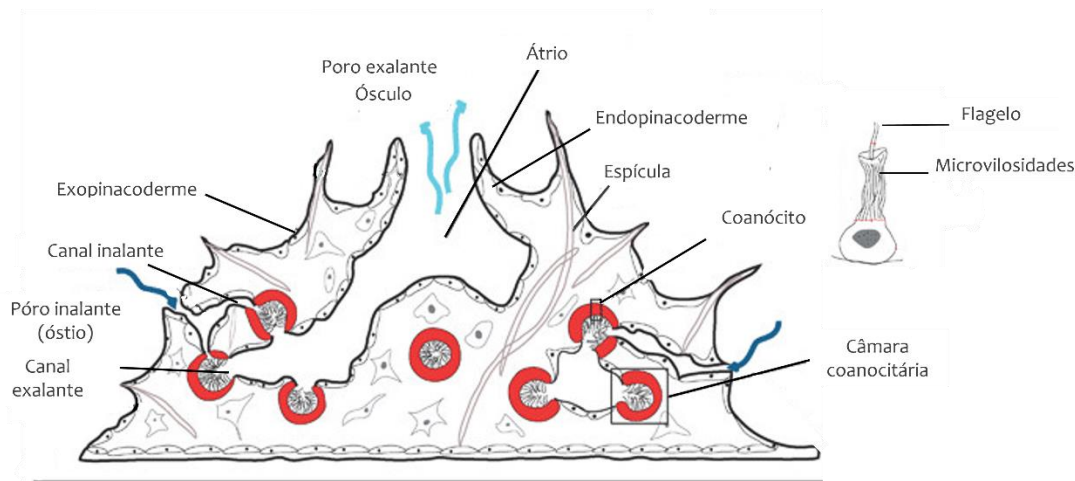


Figura 10: Organização geral das estruturas de uma esponja e a passagem do fluxo de água em seu interior. Adaptada de Renard et al. 2013

Sem possuir órgãos ou tecidos como os encontrados em níveis mais derivados, esses organismos dependem da especialização e organização celular para sua sobrevivência (van Soest et al., 2012). Por exemplo, os vacúolos digestivos contendo as partículas fagocitadas pelos coanócitos são transferidos diretamente para outras células, sem a participação de um órgão ou cavidade digestiva para o processamento de nutrientes. Da mesma forma, esponjas não apresentam um sistema nervoso ou muscular definido. No entanto, apresentam contrações coordenadas no corpo inteiro em um mecanismo aparentemente efetivado pela sua pinacoderme, a camada de revestimento das suas superfícies formada pelos pinacócitos (Nickel et al. 2011).

A contração nas esponjas

Assim como outros invertebrados, as esponjas adquiriram mecanismos para eliminar elementos indesejáveis de seus corpos e para controlar o fluxo de água que por elas passa (Elliott and Leys, 2007). Nas esponjas, esse processo é realizado por ciclos de expansão-contração, onde durante um período as células da pinacoderme ficam relaxadas, o que faz com que o volume total da esponja aumente pela pressão interna da água sendo bombeada nas câmaras coanocitárias. Isto é seguido por um curto período em que as

células da pinacoderme se contraem fazendo com que a água seja eliminada rapidamente e conseqüentemente o volume da esponja diminua drasticamente (Nickel et al. 2011; Fig. 11). Esses ciclos de contração podem ser coordenados para enfrentamento de possíveis estímulos negativos externos (como pressão) ou internos (como presença de elementos tóxicos) (Elliot & Leys, 2007)



Figura 11: Alteração do volume de uma esponja (*Amphimedon spp.*) durante um ciclo de expansão-contracção em aquário. A linha tracejada indica a área máxima. OS: ósculo (Escala: 1 cm.)

Em Desmospongiae, ao contrário de Hexactinellida, os mecanismos de contração ainda são pouco conhecidos, porém, parece passar por sinalizadores químicos (Ellwanger & Nickel, 2006; Ellwanger et al., 2007) e um aparato contrátil em células da pinacoderme (Nickel et al., 2011). Colgrens e Nichols (2022) observaram que em células de *Ephydatia muelleri*, uma esponja de água doce, um mecanismo que pode levar a contração é a ativação da via da Myosin Light Chain Kinase (MLCK). Esta via está associada à contração de músculos lisos em vertebrados, evidenciando uma possível origem evolutiva originada em Porifera ou até mesmo anteriormente (Colgrens & Nichols, 2022).

Além dos mecanismos celulares para efetiva contração, estudos relatam possíveis neurotransmissores que poderiam controlar os ciclos de expansão-contracção em esponjas.

Elementos químicos como o Óxido Nítrico (Colasanti et al. 1997; Anctil et al. 2005), ATP (Osipchuk & Cahalan 1992), AMP cíclico (Anctil 1989) e GMP cíclico (Anctil et al. 1991), todos eles relacionados à contração em outros grupos animais, podem também ajudar a determinar a cadeia de eventos celulares associados a esse mecanismo ainda não totalmente esclarecido.

Microbioma

As esponjas também são conhecidas por estabelecerem uma relação simbiótica com comunidades microbianas, que podem compor cerca de 40% do peso corporal total de algumas espécies (Vacelet & Donadey, 1977; Webster & Taylor, 2012). Essa associação é bastante específica, e a microbiota desempenha vários papéis fisiológicos importantes para seu hospedeiro, como parte da digestão (Vacelet & Duport, 2004), a produção de defesas químicas (Garate et al. 2015) ou a detoxificação de compostos nocivos (Perez et al., 2002; Pita et al., 2018). As relações são finamente reguladas e mesmo pequenas mudanças no ambiente são refletidas nestas associações (Pita et al., 2018).

Apesar de todas as esponjas apresentarem simbiose com microrganismos, a quantidade que cada esponja apresenta difere de acordo com sua história evolutiva (Thomas et al. 2016). Existem hoje duas classificações empregadas para esponjas com relação à sua quantidade de microbiontes. Enquanto espécies LMA (*Low Microbial Abundance*) possuem números de bactérias equivalente à água do mar do seu ambiente - entre 10^5 e 10^6 bactérias por cm^3 - (Gloeckner et al., 2014), as HMA (*High Microbial Abundance*) possuem até 10^9 bactérias por cm^3 . Esta classificação e a estimativa da densidade bacteriana nas esponjas se baseiam, em geral, em imagens de microscopia eletrônica de transmissão (Fig. 12)

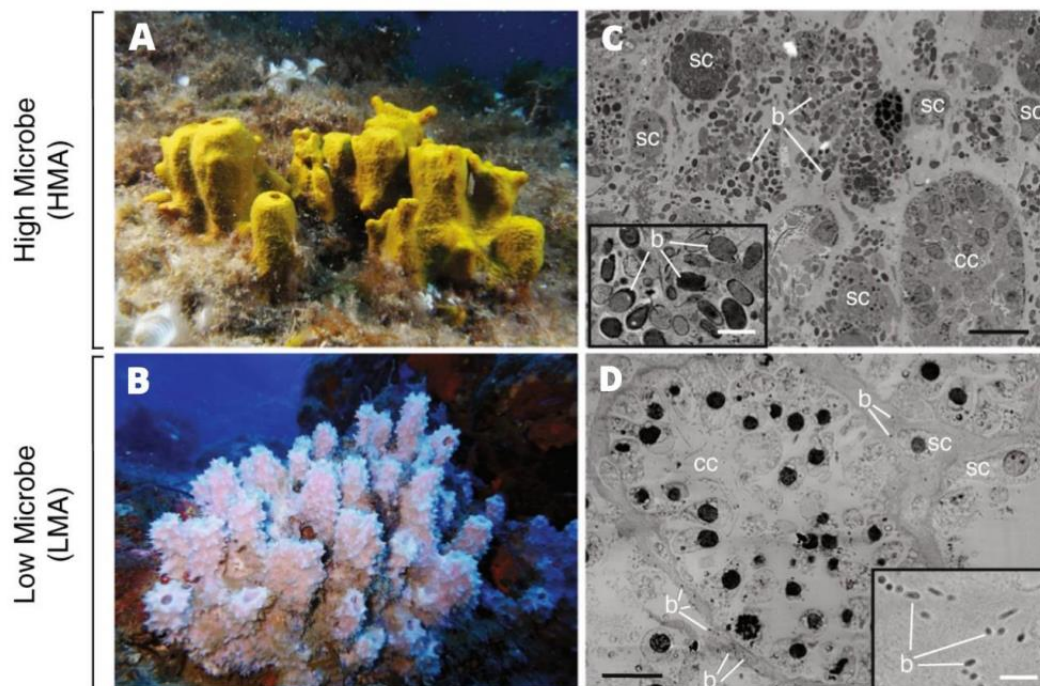


Figura 12: Indivíduos de (A) *Aplysina aerophoba*, uma *High Microbial Abundance* (HMA) e (B) *Dysidea avara*, uma *Low Microbial Abundance* (LMA). Imagens de microscopia de transmissão de *A. aerophoba* (C) onde há uma grande presença de bactérias associadas aos tecidos, e em *D. avara* (D) com uma quantidade visualmente menor de bactérias. Legenda: cc – câmara coanocitária; sc – célula de esponja, b – células bacterianas. Barras de escala: figuras 10 µm, insets 1 µm. Adaptado de Rix et al. (2020).

O estudo do microbioma das esponjas

Além de mecanismos físicos contra perigos internos e externos, as esponjas apresentam uma grande produção de metabólitos secundários, que permitem também uma defesa química contra predação, muito efetiva contra peixes, e competição por espaço (Proksch, 1994). Vários destes metabólitos se mostram compostos bioativos de interesse para tratamento de doenças em humanos, como os já em uso clínico Aciclovir, um antiviral; e o Ara-C, anticancerígeno (Proksch et al 2002). Boa parte destes compostos não é produzida pelas próprias esponjas, mas sim pelos seus microrganismos associados, que possuem uma importância fundamental na sobrevivência deste filo (Posádas et al. 2022). Esta relação íntima entre esponjas e microrganismos é caracterizada pelo termo *holobionte* (Pita et al. 2018) e simboliza a presença e manutenção da microbiota pela

esponja, que pode inclusive transmitir parte dela para seus descendentes (Oliveira et al. 2020). Essa microbiota é considerada espécie-específica, com estrutura populacional muito diferente daquela encontrada na água ao redor dos hospedeiros (Easson & Thacker, 2014). Geralmente apresenta um *core*, conjunto de cepas presente em todos ou em grande parte dos indivíduos, e uma microbiota variável, ausente ou presente em quantidades muito diferentes daquelas do *core* (Schmitt et al., 2012; Blanquer et al., 2013; Astudillo-García et al., 2017).

Com o advento de novas tecnologias de sequenciamento em larga escala, a caracterização mais detalhada desses microbiomas se tornou possível (Thomas et al., 2016; Webster & Thomas, 2016; Moitinho-Silva et al., 2017; Pita et al., 2018). A técnica mais usada para o estudo de comunidades bacterianas associadas ainda é a extração, amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA, com a comparação sistemática dos dados obtidos em bases de dados públicos (Gupta et al. 2019). Com o uso das técnicas atuais, é possível determinar qual a estrutura da comunidade microbiana inteira associada a uma espécie, e que tipo de alterações sofre frente a desafios ou modificação no ambiente. Esta análise está ajudando ecotoxicologistas a desvendar o papel da microbiota na fisiologia do hospedeiro em relação à exposição a substâncias tóxicas e mudanças nos parâmetros ambientais, como pH, salinidade e temperatura (Zhang et al., 2018). Diferenças na riqueza bacteriana foram observadas na esponja *Lendenfeldia chondrodes* após um estresse térmico subletal, mostrando que mesmo pequenas alterações podem levar a mudanças composicionais no microbioma (Vargas et al., 2021). Diferenças também foram observadas no microbioma associado a *Halichondria panicea* exposta à MOS (neve marinha associada ao petróleo) cujo metabolismo geral dos microorganismos passou de aeróbico para predominantemente anaeróbico (Gregson et al. 2021).

Sendo assim, as esponjas e sua microbiota associada podem ser uma ferramenta importante no estudo dos impactos químicos causados por microplásticos e seus constituintes.

Objetivos

O objetivo geral desse trabalho foi avaliar possíveis efeitos tóxicos de um plastificante presente amplamente no oceano, o di(2-etilhexil) ftalato (em inglês, DEHP), conhecido disruptor endócrino, na fisiologia da esponja *Hymeniacidon heliophila*. Para isso foram analisados parâmetros fisiológicos (ciclos de expansão-contração), características celulares (agregação e formação de primorfos), vias de sinalização por meio de proteômica e alterações na comunidade microbiana por metabarcoding.

Os objetivos específicos são:

- 1) Analisar as alterações nos parâmetros dos ciclos de expansão-contração em indivíduos de *H. heliophila* expostos a diferentes doses de DEHP;
- 2) Alterações de características como agregação celular e parâmetros histológicos como diâmetro de canais e câmaras coanocitárias de organismos expostos ao DEHP;
- 3) Alterações de vias de sinalização proteicas mediadas por mensageiros químicos ligadas à contração em esponjas expostas ao DEHP
- 4) Mudanças na diversidade e abundância da comunidade microbiana associada a indivíduos de *H. heliophila* expostos DEHP e seu possível papel na detoxificação.

Os resultados são apresentados na forma de três manuscritos a serem submetidos para publicação. O primeiro trata do efeito observado no organismo, com a interrupção do ciclo de contração do corpo da esponja quando exposta ao DEHP e sua recuperação

posterior; o segundo traz as análises das alterações no perfil proteômico em resposta ao composto e o terceiro as alterações verificadas na microbiota associada.

Referências

- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.05.030>
- Amelia, T. S. M., Khalik, W. M. A. W. M., Ong, M. C., Shao, Y. T., Pan, H. J., & Bhubalan, K. (2021). Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. *Progress in Earth and Planetary Science*, 8(1), 1-26.
- Bauer, M., Lehner, M., Schwabl, D., Flachberger, H., Kranzinger, L., Pomberger, R., & Hofer, W. (2018). Sink–float density separation of post-consumer plastics for feedstock recycling. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 20(3), 1781–1791. <https://doi.org/10.1007/S10163-018-0748-Z/FIGURES/6>
- Bergé, A., Cladière, M., Gasperi, J., Coursimault, A., Tassin, B., & Moilleron, R. (2013). Meta-analysis of environmental contamination by phthalates. *Environmental Science and Pollution Research International*, 20(11), 8057–8076. <https://doi.org/10.1007/S11356-013-1982-5>
- Bermúdez, J. R., & Swarzenski, P. W. (2021). A microplastic size classification scheme aligned with universal plankton survey methods. *MethodsX*, 8, 101516. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2021.101516>
- Boland, R. C., & Donohue, M. J. (2003). Marine debris accumulation in the nearshore marine habitat of the endangered Hawaiian monk seal, *Monachus schauinslandi* 1999-2001. *Marine Pollution Bulletin*, 46(11), 1385–1394. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00291-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00291-1)
- Bolton, T. F., & Havenhand, J. N. (1998). Physiological versus viscosity-induced effects of an acute reduction in water temperature on microsphere ingestion by trochophore larvae of the serpulid polychaete *Galeolaria caespitosa*. *Journal of Plankton Research*, 20(11), 2153–2164. <https://doi.org/10.1093/PLANKT/20.11.2153>
- Bourne, W. R. P. (1976). Seabirds and pollution. In: Johnston, R. (ed.) *Marine pollution*. Academic Press, London, p. 403-502

- Bridson, J. H., Gaugler, E. C., Smith, D. A., Northcott, G. L., & Gaw, S. (2021). Leaching and extraction of additives from plastic pollution to inform environmental risk: A multidisciplinary review of analytical approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 414, 125571. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.125571>
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology*, 42(13), 5026–5031. https://doi.org/10.1021/ES800249A/SUPPL_FILE/ES800249A-FILE002.PDF
- Carpenter, E. J., Anderson, S. J., Harvey, G. R., Miklas, H. P., & Peck, B. B. (1972). Polystyrene Spherules in Coastal Waters. *Science*, 178(4062), 749–750. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.178.4062.749>
- Chinaglia, S., Tosin, M., & Degli-Innocenti, F. (2018). Biodegradation rate of biodegradable plastics at molecular level. *Polymer Degradation and Stability*, 147, 237–244. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2017.12.011>
- Choy, C. A., Robison, B. H., Gagne, T. O., Erwin, B., Firl, E., Halden, R. U., Hamilton, J. A., Katija, K., Lisin, S. E., Rolsky, C., & S. Van Houtan, K. (2019). The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44117-2>
- Christaki, U., Dolan, J. R., Pelegri, S., & Rassoulzadegan, F. (1998). Consumption of picoplankton-size particles by marine ciliates: Effects of physiological state of the ciliate and particle quality. *Limnology and Oceanography*, 43(3), 458–464. <https://doi.org/10.4319/LO.1998.43.3.0458>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.09.025>
- Colgren, J., Nichols, S.A., 2022. MRTF specifies a muscle-like contractile module in Porifera. *Nature Communications* 2022 13:1 13, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31756-9>

- Constantin, A., & Johnson, R. S. (2017). Large gyres as a shallow-water asymptotic solution of Euler's equation in spherical coordinates. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 473(2200), 20170063.
- Essel, R., Engel, L., Carus, M., & Köln, R. (2015.). *Sources of microplastics relevant to marine protection in Germany*. Umweltbundesamt, ISSN 1862-4804, Dessau-Roßlau, Alemanha, 48 pgs
- Fossi, M. C., Coppola, D., Baini, M., Giannetti, M., Guerranti, C., Marsili, L., Panti, C., de Sabata, E., & Clò, S. (2014). Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: The case studies of the Mediterranean basking shark (*Cetorhinus maximus*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Environmental Research*, 100, 17–24. <https://doi.org/10.1016/J.MARENRES.2014.02.002>
- Fossi, M. C., Panti, C., Baini, M., & Lavers, J. L. (2018). A review of plastic-associated pressures: Cetaceans of the Mediterranean Sea and Eastern Australian Shearwaters as case studies. *Frontiers in Marine Science*, 5(MAY), 173. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2018.00173/BIBTEX>
- Frias, J. P. G. L., Sobral, P., & Ferreira, A. M. (2010). Organic pollutants in microplastics from two beaches of the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 60(11), 1988–1992. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2010.07.030>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7). https://doi.org/10.1126/SCIADV.1700782/SUPPL_FILE/1700782_SM.PDF
- Giametti, S. D., & Finelli, C. M. (2022). Detection of plastic-associated compounds in marine sponges. *Marine Pollution Bulletin*, 175. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.113141>
- Graham, E. R., & Thompson, J. T. (2009). Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 368(1), 22–29. <https://doi.org/10.1016/J.JEMBE.2008.09.007>
- Gregson, B. H., McKew, B. A., Holland, R. D., Nedwed, T. J., Prince, R. C., & McGenity, T. J. (2021). Marine Oil Snow, a Microbial Perspective. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2021.619484>

- Groh, K. J., Backhaus, T., Carney-Almroth, B., Geueke, B., Inostroza, P. A., Lennquist, A., Leslie, H. A., Maffini, M., Slunge, D., Trasande, L., Warhurst, A. M., & Muncke, J. (2019). Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Science of The Total Environment*, *651*, 3253–3268. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.10.015>
- Gupta, A., Dhakan, D. B., Maji, A., Saxena, R., P.K., V. P., Mahajan, S., Pulikkan, J., Kurian, J., Gomez, A. M., Scaria, J., Amato, K. R., Sharma, A. K., & Sharma, V. K. (2019). Association of Flavonifractor plautii, a Flavonoid-Degrading Bacterium, with the Gut Microbiome of Colorectal Cancer Patients in India. *MSystems*, *4*(6). <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00438-19>
- Hart, M. W. (1991). Particle Captures and the Method of Suspension Feeding by Echinoderm Larvae. *The Biological Bulletin*, *180*(1), 12–27. <https://doi.org/10.2307/1542425>
- Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, *182*, 781–793. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.05.096>
- Hidalgo-Serrano, M., Borrull, F., Marcé, R. M., & Pocurull, E. (2022). Phthalate esters in marine ecosystems: Analytical methods, occurrence and distribution. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *151*, 116598. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2022.116598>
- Ilechukwu, I., Das, R. R., & Reimer, J. D. (2023). Review of microplastics in museum specimens: An under-utilized tool to better understand the Plasticene. *Marine Pollution Bulletin*, *191*, 114922. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2023.114922>
- Júnior, A. F. de P., Carminatto, A. A., & Borges, R. P. (2022). Spatial variation of plastic pellet abundance on Santos beach, São Paulo, Brazil. *Research, Society and Development*, *11*(3), e53611326800–e53611326800. <https://doi.org/10.33448/RSD-V11I3.26800>
- Karbalaei, S., Hanachi, P., Walker, T. R., & Cole, M. (2018). Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(36), 36046–36063. <https://doi.org/10.1007/S11356-018-3508-7>

- Kimura, K., Hara, H., & Watanabe, Y. (2005). Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs). *Desalination*, *178*(1–3), 135–140. <https://doi.org/10.1016/J.DESAL.2004.11.033>
- Klun, B., Rozman, U., Ogrizek, M., & Kalčíková, G. (2022). The first plastic produced, but the latest studied in microplastics research: The assessment of leaching, ecotoxicity and bioadhesion of Bakelite microplastics. *Environmental Pollution*, *307*, 119454. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2022.119454>
- Lavers, J. L., Bond, A. L., & Hutton, I. (2014). Plastic ingestion by Flesh-footed Shearwaters (*Puffinus carneipes*): Implications for fledgling body condition and the accumulation of plastic-derived chemicals. *Environmental Pollution*, *187*, 124–129. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2013.12.020>
- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, F., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., Hajbane, S., Cunsolo, S., Schwarz, A., Levivier, A., Noble, K., Debeljak, P., Maral, H., Schoeneich-Argent, R., Brambini, R., & Reisser, J. (2018). Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific Reports 2018 8:1*, *8*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22939-w>
- Lee, S. Y., An, J., Kim, J., & Kwon, J. H. (2022). Enhanced settling of microplastics after biofilm development: A laboratory column study mimicking wastewater clarifiers. *Environmental Pollution*, *311*, 119909. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2022.119909>
- Loganathan, Y., Philip, M., & Kizhakedathil, J. (2023). *A Review on Microplastics-An Indelible Ubiquitous Pollutant*. *13*(2), 126. <https://doi.org/10.33263/BRIAC132.126>
- Lucattini, L., Poma, G., Covaci, A., de Boer, J., Lamoree, M. H., & Leonards, P. E. G. (2018). A review of semi-volatile organic compounds (SVOCs) in the indoor environment: occurrence in consumer products, indoor air and dust. *Chemosphere*, *201*, 466–482. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.02.161>
- Lusher, A. (2015). Microplastics in the marine environment: Distribution, interactions and effects. *Marine Anthropogenic Litter*, 245–307. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_10/FIGURES/1
- Lusher, A. L., Hernandez-Milian, G., Berrow, S., Rogan, E., & O'Connor, I. (2018). Incidence of marine debris in cetaceans stranded and bycaught in Ireland: Recent findings and a

- review of historical knowledge. *Environmental Pollution*, 232, 467–476.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2017.09.070>
- Maher, R. L., Schmeltzer, E. R., Meiling, S., McMinds, R., Ezzat, L., Shantz, A. A., Adam, T. C., Schmitt, R. J., Holbrook, S. J., Burkepile, D. E., & Vega Thurber, R. (2020). Coral Microbiomes Demonstrate Flexibility and Resilience Through a Reduction in Community Diversity Following a Thermal Stress Event. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 356. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2020.555698/BIBTEX>
- Mariotti, N., Ascione, G.S., Cottafava, D., Cuomo, F., 2019. Critical barriers for plastic recycling. a cc case-study in turin. *Procedia Environmental Science, Engineering and Management* 6, 169–180.
- Meeker, J. D., Sathyanarayana, S., & Swan, S. H. (2009). Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2097.
<https://doi.org/10.1098/RSTB.2008.0268>
- Moitinho-Silva, L., Nielsen, S., Amir, A., Gonzalez, A., Ackermann, G. L., Cerrano, C., Astudillo-Garcia, C., Easson, C., Siphkema, D., Liu, F., Steinert, G., Kotoulas, G., McCormack, G. P., Feng, G., Bell, J. J., Vicente, J., Björk, J. R., Montoya, J. M., Olson, J. B., ... Thomas, T. (2017). The sponge microbiome project. *GigaScience*, 6(10).
<https://doi.org/10.1093/GIGASCIENCE/GIX077>
- Moore, C. J. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research*, 108(2), 131–139.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2008.07.025>
- Murray, F., & Cowie, P. R. (2011). Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Pollution Bulletin*, 62(6), 1207–1217.
<https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.03.032>
- Muzzy, J. D., & Kays, A. O. (1984). Thermoplastic vs. thermosetting structural composites. *Polymer Composites*, 5(3), 169–172. <https://doi.org/10.1002/PC.750050302>
- Net, S., Sempéré, R., Delmont, A., Paluselli, A., & Ouddane, B. (2015). Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices. *Environmental Science and Technology*, 49(7), 4019–4035.
<https://doi.org/10.1021/ES505233B>

- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Kloas, W., Jagnytsch, O., Lutz, I., Kusk, K. O., Wollenberger, L., Santos, E. M., Paull, G. C., VanLook, K. J. W., & Tyler, C. R. (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2047–2062. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2008.0242>
- Osman, A. I., Hosny, M., Eltaweil, A. S., Omar, S., Elgarahy, A. M., Farghali, M., Yap, P. S., Wu, Y. S., Nagandran, S., Batumalaie, K., Gopinath, S. C. B., John, O. D., Sekar, M., Saikia, T., Karunanithi, P., Hatta, M. H. M., & Akinyede, K. A. (2023). Microplastic sources, formation, toxicity and remediation: a review. *Environmental Chemistry Letters* 2023, 12, 1–41. <https://doi.org/10.1007/S10311-023-01593-3>
- Pedà, C., Battaglia, P., D'Alessandro, M., Laface, F., Malara, D., Consoli, P., Vicchio, T. M., Longo, F., Andaloro, F., Bainsi, M., Galli, M., Bottari, T., Fossi, M. C., Greco, S., & Romeo, T. (2020). Coupling Gastro-Intestinal Tract Analysis With an Airborne Contamination Control Method to Estimate Litter Ingestion in Demersal Elasmobranchs. *Frontiers in Environmental Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/FENV.2020.00119>
- Peng, J. H., Huang, C. W., Weng, Y. M., & Yak, H. K. (2007). Determination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish samples from rivers and estuaries in Taiwan. *Chemosphere*, 66(10), 1990–1997. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2006.07.094>
- Posadas, N.; Baquiran, J.I.P.; Nada, M.A.L; Kelly, M.; Conaco, C. (2022). Microbiome diversity and host immune functions influence survivorship of sponge holobionts under future ocean conditions. *ISME J.*;16(1):58-67. doi:10.1038/s41396-021-01050-5
- Proksch, P., Edrada, R. A., & Ebel, R. (2002). Drugs from the seas - current status and microbiological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(2–3), 125–134. <https://doi.org/10.1007/S00253-002-1006-8>
- Qu, J., Xia, W., Qian, X., Wu, Y., Li, J., Wen, S., & Xu, S. (2022). Geographic distribution and time trend of human exposure of Di(2-ethylhexyl) phthalate among different age groups based on global biomonitoring data. *Chemosphere*, 287(Pt 2). <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132115>
- Ramu, K., Kajiwarra, N., Sudaryanto, A., Isobe, T., Takahashi, S., Subramanian, A., Ueno, D., Zheng, G. J., Lam, P. K. S., Takada, H., Zakaria, M. P., Viet, P. H., Prudente, M., Tana,

- T. S., & Tanabe, S. (2007). Asian Mussel Watch Program: contamination status of polybrominated diphenyl ethers and organochlorines in coastal waters of Asian countries. *Environmental Science & Technology*, *41*(13), 4580–4586. <https://doi.org/10.1021/ES070380P>
- Renard, E., Gazave, E., Fierro-Constain, L., Schenkelaars, Q., Ereskovsky, A., Vacelet, J. and Borchiellini, C. (2013). Porifera (Sponges): Recent Knowledge and New Perspectives. *In eLS*, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001582.pub2>
- Rochman, C. M., Hoh, E., Kurobe, T., & Teh, S. J. (2013). Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Scientific Reports 2013 3:1*, *3*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep03263>
- Rodrigue, B. (2017). The effect of macroplastic debris on marine vertebrates (Doctoral dissertation).
- Roman, L., Lowenstine, L., Parsley, L. M., Wilcox, C., Hardesty, B. D., Gilardi, K., & Hindell, M. (2019). Is plastic ingestion in birds as toxic as we think? Insights from a plastic feeding experiment. *The Science of the Total Environment*, *665*, 660–667. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.02.184>
- Rudel, R. A., Camann, D. E., Spengler, J. D., Korn, L. R., & Brody, J. G. (2003). Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental Science and Technology*, *37*(20), 4543–4553. <https://doi.org/10.1021/ES0264596/>
- Rummel, C. D., Löder, M. G. J., Fricke, N. F., Lang, T., Griebeler, E. M., Janke, M., & Gerdts, G. (2016). Plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, *102*(1), 134–141. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2015.11.043>
- Sharifi, M., Yegdaneh, A., Sajjadi, S. E., & Shushizadeh, M. (2017). Identification and Quantification of Phthalate Pollution in *Holothuria atra*: A Sea Cucumber from the Persian Gulf (Iran). *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 2017 12:4*, *12*(4). <https://doi.org/10.5812/JJNPP.65055>

- Sheavly, S. B., & Register, K. M. (2007). Marine Debris & Plastics: Environmental Concerns, Sources, Impacts and Solutions. *Journal of Polymers and the Environment* 2007 15:4, 15(4), 301–305. <https://doi.org/10.1007/S10924-007-0074-3>
- Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. (2018). Marine microplastics: Abundance, distribution, and composition. *Microplastic Contamination in Aquatic Environments: An Emerging Matter of Environmental Urgency*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813747-5.00001-1>
- Song, Y. K., Hong, S. H., Eo, S., Jang, M., Han, G. M., Isobe, A., & Shim, W. J. (2018). Horizontal and Vertical Distribution of Microplastics in Korean Coastal Waters. *Environmental Science and Technology*, 52(21), 12188–12197. <https://doi.org/10.1021/ACS.EST.8B04032/>
- Squillante, J., Scivico, M., Ariano, A., Nolasco, A., Esposito, F., Cacciola, N. A., Severino, L., & Cirillo, T. (2023). Occurrence of phthalate esters and preliminary data on microplastics in fish from the Tyrrhenian sea (Italy) and impact on human health. *Environmental Pollution*, 316, 120664. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2022.120664>
- Tanaka, K., Yamashita, R., & Takada, H. (2019). Transfer of Hazardous Chemicals from Ingested Plastics to Higher-Trophic-Level Organisms. *Handbook of Environmental Chemistry*, 78, 267–280. https://doi.org/10.1007/698_2018_255
- Thomas, T., Moitinho-Silva, L., Lurgi, M., Björk, J. R., Easson, C., Astudillo-García, C., Olson, J. B., Erwin, P. M., López-Legentil, S., Luter, H., Chaves-Fonnegra, A., Costa, R., Schupp, P. J., Steindler, L., Erpenbeck, D., Gilbert, J., Knight, R., Ackermann, G., Victor Lopez, J., ... Webster, N. S. (2016). Diversity, structure and convergent evolution of the global sponge microbiome. *Nature Communications* 2016 7:1, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms11870>
- Thushari, G. G. N., & Senevirathna, J. D. M. (2020). Plastic pollution in the marine environment. *Heliyon*, 6(8), e04709. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E04709>
- Tourinho, P. S., Silva, A. R. R., Santos, C. S. A., Prodana, M., Ferreira, V., Habibullah, G., Kočí, V., van Gestel, C. A. M., & Loureiro, S. (2022). Microplastic Fibers Increase Sublethal Effects of AgNP and AgNO₃ in *Daphnia magna* by Changing Cellular Energy Allocation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(4), 896–904. <https://doi.org/10.1002/ETC.5136>

- Vad.,J.; Duran S, L.; Summers, S.; Henry T., B., Roberts, J., M. (2022). Marine Sponges in a Snowstorm - Extreme Sensitivity of a Sponge Holobiont to Marine Oil Snow and Chemically Dispersed Oil Pollution. *Front Microbiol.* Published 2022 Jul 15. doi:10.3389/fmicb.2022.909853
- Vargas, S., Leiva, L., & Wörheide, G. (2021). Short-Term Exposure to High-Temperature Water Causes a Shift in the Microbiome of the Common Aquarium Sponge *Lendenfeldia chondrodes*. *Microbial Ecology*, *81*(1), 213–222. <https://doi.org/10.1007/S00248-020-01556-Z/>
- Velez, J. F., Shashoua, Y., Syberg, K., & Khan, F. R. (2018). Considerations on the use of equilibrium models for the characterisation of HOC-microplastic interactions in vector studies. *Chemosphere*, *210*, 359-365.
- Venrick, E. L., Backman, T. W., Bartram, W. C., Platt, C. J., Thornhill, M. S., & Yates, R. E. (1973). Man-made Objects on the Surface of the Central North Pacific Ocean. *Nature* *1973* *241*:5387, *241*(5387), 271–271. <https://doi.org/10.1038/241271a0>
- Volgare, M., De Falco, F., Avolio, R., Castaldo, R., Errico, M. E., Gentile, G., Ambrogio, V., & Cocca, M. (2021). Washing load influences the microplastic release from polyester fabrics by affecting wettability and mechanical stress. *Scientific Reports*, *11*(1), 19479. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-98836-6>
- Von Moos, N., Burkhardt-Holm, P., & Köhler, A. (2012). Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environmental Science & Technology*, *46*(20), 11327–11335. <https://doi.org/10.1021/ES302332W>
- de Voogd, N.J.; Alvarez, B.; Boury-Esnault, N.; Carballo, J.L.; Cárdenas, P.; Díaz, M.-C.; Dohrmann, M.; Downey, R.; Goodwin, C.; Hajdu, E.; Hooper, J.N.A.; Kelly, M.; Klautau, M.; Lim, S.C.; Manconi, R.; Morrow, C.; Pinheiro, U.; Pisera, A.B.; Ríos, P.; Rützler, K.; Schönberg, C.; Vacelet, J.; van Soest, R.W.M.; Xavier, J. (2023). World Porifera Database. Accessed at <https://www.marinespecies.org/porifera> on 2023-05-18. doi:10.14284/359
- Walkinshaw, C., Tolhurst, T. J., Lindeque, P. K., Thompson, R. C., & Cole, M. (2023). Impact of polyester and cotton microfibers on growth and sublethal biomarkers in juvenile

- mussels. *Microplastics and Nanoplastics* 2023 3:1, 3(1), 1–12.
<https://doi.org/10.1186/S43591-023-00052-8>
- Wang, Y., Zou, X., Peng, C., Qiao, S., Wang, T., Yu, W., Khokiattiwong, S., & Kornkanitnan, N. (2020). Occurrence and distribution of microplastics in surface sediments from the Gulf of Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110916.
<https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2020.110916>
- Webster, N. S., & Thomas, T. (2016). The sponge hologenome. *MBio*, 7(2).
<https://doi.org/10.1128/MBIO.00135-16>
- Weerasinghe, R. L., Ranatunga, R. R. M. K. P., & Chinthaka, M. (2018). Presence of Phthalate Derivative in a Marine Soft Coral, *Carijoa Riisei*. *Proceedings of International Forestry and Environment Symposium*, 23.
<https://journals.sjp.ac.lk/index.php/fesympo/article/view/3689>
- Weinhagen, J. C. (2006). Price Transmission: From Crude Petroleum to Plastics Products. *Monthly Labor Review*, 129.
<https://heionline.org/HOL/Page?handle=hein.journals/month129&id=1556&div=129&collection=journals>
- Wiesinger, H., Wang, Z., & Hellweg, S. (2021). Deep Dive into Plastic Monomers, Additives, and Processing Aids. *Environmental Science and Technology*, 55(13), 9339–9351.
<https://doi.org/10.1021/ACS.EST.1C00976>
- Wright, S. L., & Kelly, F. J. (2017). Plastic and Human Health: A Micro Issue? *Environmental Science and Technology*, 51(12), 6634–6647. <https://doi.org/10.1021/ACS.EST.7B00423>
- Yousif, E., & Haddad, R. (2013). Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *SpringerPlus*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>
- Yu, Y., Mo, W. Y., & Luukkonen, T. (2021). Adsorption behaviour and interaction of organic micropollutants with nano and microplastics – A review. *Science of The Total Environment*, 797, 149140. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.149140>
- Zhang, Y., Jiao, Y., Li, Z., Tao, Y., & Yang, Y. (2021). Hazards of phthalates (PAEs) exposure: A review of aquatic animal toxicology studies. *Science of The Total Environment*, 771, 145418. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.145418>

Zhang, Y., Zhou, S., Zhou, Y., Yu, L., Zhang, L., & Wang, Y. (2018). Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet. *Epilepsy Research*, *145*, 163–168. <https://doi.org/10.1016/J.EPLEPSYRES.2018.06.015>

Zhou, P., Huang, C., Fang, H., Cai, W., Li, D., Li, X., & Yu, H. (2011). The abundance, composition and sources of marine debris in coastal seawaters or beaches around the northern South China Sea (China). *Marine Pollution Bulletin*, *62*(9), 1998–2007. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.06.018>

Conclusões gerais

- O DEHP altera o padrão de contração de *Hymeniacidon heliophila* de maneira dose-dependente. A esponja passa por uma longa fase de expansão e recupera sua capacidade contrátil após um período variável;
- Os resultados da formação de primorfos em cultura não indicam alterações na agregação das células, indicando uma ação do DEHP em vias específicas e não uma toxicidade geral;
- Dados proteômicos indicam que a via de contração MLCK parece estar envolvida na recuperação da contração em células expostas ao DEHP e que a via das miosinas não convencionais parece participar da contração das células nos controles;
- Dentre as proteínas produzidas pelas esponjas, há presença de subunidades de enzimas que degradam ftalatos e que são produzidas por bactérias já identificadas em *H. heliophila*, indicando uma possível ação de detoxificação do DEHP por parte do seu microbioma;
- A análise metagenômica indicou uma sucessão concentração-dependente de classes de bactérias com capacidade de degradação de ftalatos. A participação desta microbiota pode ser a provável explicação para a recuperação das contrações da esponja.

Referências

- Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., & Uricchio, V. F. (2020). A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4). <https://doi.org/10.3390/IJERPH17041212>
- Colgren, J., & Nichols, S. A. (2022). MRTF specifies a muscle-like contractile module in Porifera. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31756-9>
- Dudin, O., Ondracka, A., Grau-Bové, X., Haraldsen, A. A. B., Toyoda, A., Suga, H., Bråte, J., & Ruiz-Trillo, I. (2019). A unicellular relative of animals generates a layer of polarized cells by actomyosin-dependent cellularization. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.49801>
- Giametti, S. D., & Finelli, C. M. (2022). Detection of plastic-associated compounds in marine sponges. *Marine Pollution Bulletin*, 175. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.1130141>
- Helber, S. B., Hoeijmakers, D. J. J., Muhando, C. A., Rohde, S., & Schupp, P. J. (2018). Sponge chemical defenses are a possible mechanism for increasing sponge abundance on reefs in Zanzibar. *PloS one*, 13(6), e0197617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197617>
- Nickel, M., Scheer, C., Hammel, J. U., Herzen, J., & Beckmann, F. (2011). The contractile sponge epithelium sensu lato--body contraction of the demosponge *Tethya wilhelma* is mediated by the pinacoderm. *The Journal of Experimental Biology*, 214(Pt 10), 1692–1698. <https://doi.org/10.1242/JEB.049148>
- Posnack, N. G., Idrees, R., Ding, H., Jaimes, R., Stybayeva, G., Karabekian, Z., Laflamme, M. A., & Sarvazyan, N. (2015). Exposure to Phthalates Affects Calcium Handling and Intercellular Connectivity of Human Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0121927>
- Vencato, S., Isa, V., Seveso, D., Saliu, F., Galli, P., Lavorano, S., & Montano, S. (2021). Soft corals and microplastics interaction: first evidence in the alcyonacean species *Coelogorgia palmosa*. *Aquatic Biology*, 30, 133–139. <https://doi.org/10.3354/AB00747>