

Protocolo experimental

O que comem os nossos caranguejos?

Enquadramento Teórico

Os oceanos constituem os maiores reservatórios de água (97,2%) no planeta de Terra, constituindo uma fonte vital de recursos biológicos, naturais e económicos. No entanto, o Homem tem negligenciado a importância deste compartimento ambiental, poluindo os oceanos através das diversas atividades antropogénicas que desenvolve quer a nível terrestre quer a nível marítimo. Os resíduos de plástico constituem cerca de 60 a 95% do lixo marinho e têm-se tornado num problema real a nível mundial. Estima-se que cerca de 8 milhões das 300 milhões de toneladas de plástico produzidas por ano têm como destino final o oceano. Cerca de 70% afunda e acumula-se nos fundos oceânicos e estima-se que ca. 270 mil toneladas fiquem a flutuar. Apesar da elevada durabilidade, o plástico vai-se fracionando em partículas cada vez menores. Resíduos plásticos, na ordem dos micrometros e nanometros, denominados por microplásticos têm vindo a acumular-se nos oceanos e sedimentos nas últimas décadas. Os microplásticos também poderão provir do uso e descarte de cremes de limpeza, esfoliantes corporais, branqueadores dentífricos e de grande parte do vestuário. Devido ao seu reduzido tamanho, os microplásticos podem ser ingeridos por organismos dos vários níveis tróficos e bioacumulados afetando assim os principais predadores. As consequências da ingestão de microplásticos nos organismos aquáticos continuam a ser, no entanto, pouco compreendidas.

O caranguejo verde, *Carcinus maenas*, pertencente à família Portunidae, é um invertebrado comumente encontrado nas costas e estuários europeus. Esta espécie encontra-se também distribuída noutras regiões, como África do Sul, Japão, Austrália, EUA e Canadá, sendo considerada uma espécie invasora. *C. maenas* é um caranguejo de tamanho médio, omnívoro, que vive entre 4 a 7 anos, e cujo ciclo de vida alterna entre estádios de larva planctónica e adulto bentónico. Com uma biologia conhecida, fácil de identificar e recolher, o caranguejo verde é uma espécie ecologicamente relevante com uma posição chave na teia alimentar. Uma vez que é fácil de manter em laboratório e é sensível à contaminação, este crustáceo é regularmente usado como organismo modelo em diversos estudos.

Objetivos

Com esta experiência pretende-se estudar a presença de microplásticos no sistema digestivo do Caranguejo-verde, *Carcinus maenas*, através da análise da glândula digestiva destes organismos. Esta atividade permitirá sensibilizar para a problemática do lixo marinho e em especial para a poluição por microplásticos e para os efeitos nefastos deste tipo de poluição. Este protocolo enquadra-se na Área Curricular de Biologia e Geologia (11º ano) e de Biologia (12º ano) do Ensino Secundário. Insere-se no Princípio Essencial 6 “O Oceano e a humanidade estão fortemente interligados” sobre a cultura científica do Oceano fomentada pelo projeto Conhecer o Oceano¹.

¹ <http://www.cienciaviva.pt/oceano/home/>

Material

- Gelo
- Bacia
- Espécimes de caranguejo
- Craveira
- Pinças
- Placa de Petri de vidro
- Papel
- Espátulas
- Estufa a 55 °C
- Almofarizes e pilão
- Gobelés de 100 mL
- Sistema de filtração
- Filtros de nitrocelulose de 0,2 µm porosidade
- Lupa
- Solução salina saturada de NaCl
(Adicionar NaCl ou sal de cozinha a água destilada)
- Solução de 15% (v/v) peróxido de hidrogénio (H₂O₂) 30%
(Para 100 mL, adicionar 47 mL de H₂O₂ a 53 mL de água destilada)

Procedimento

Recolher os caranguejos num estuário e colocá-los durante 48h num tanque, na obscuridade, com aerificação contínua e salinidade de 15 psu, para depuração. Para proceder à recolha de tecidos e extração de microplásticos, evitando a contaminações externas, todo o material deve ser de vidro ou metal e ser devidamente lavado com água destilada.

A. Recolha de tecido

1. Colocar os caranguejos numa bacia com gelo de forma a anestesia-los.
2. Medir a largura e altura das carapaças de cada um dos espécimes e pesar os mesmos (Figura 1).
3. Quando os caranguejos se encontrarem imóveis, abrir os caranguejos e retirar a glândula digestiva para uma placa de petri, registando o seu peso (Figura 1).



Figura 1: *Carcinus maenas* – imagem da esquerda indica como se devem efetuar as medições do comprimento e largura do caranguejo. A imagem da direita indica a localização da glândula digestiva.

B. Extração de microplásticos do conteúdo gástrico

1. Espalhar cada glândula digestiva numa placa de petri de vidro com a ajuda de uma espátula (desfazer bem a glândula) e secar a 55 °C, numa estufa, entre 24 a 48h.
2. Quando seca, retirar a glândula da placa de petri e desfazê-la a pó, com o auxílio de um almofariz e pilão, transferindo-a posteriormente para um gobelé.
3. Adicionar 80 mL da solução salina saturada de NaCl ao conteúdo do gobelé e deixar a mistura repousar por aproximadamente vinte minutos, de forma a promover a suspensão de partículas de menor densidade (atenção que a mistura deve ficar numa superfície nivelada e que não sofra oscilações).

Com este processo, os microplásticos, por serem menos densos, ficarão em suspensão na solução e a restante matéria afundará. Por esta razão, se deve ter cuidado ao decantar de forma a evitar que a matéria que afundou ressuspenda.

4. Durante estes 20 minutos, montar o sistema de filtração com um filtro de nitrocelulose de 0,2 µm de porosidade, junto aos gobelés com a mistura de solução NaCl e o conteúdo gástrico.
5. Decantar a mistura para o sistema de filtração, filtrando-a simultaneamente. O sistema de filtração deve ser lavado com água destilada entre cada amostra.

6. Cada filtro deve ser colocado com o auxílio de uma pinça numa placa de petri, tendo-se adicionado 5 mL de uma solução de 15 % (v/v) H_2O_2 e colocado a secar a 55 °C durante 24h.

O peróxido de hidrogénio (H_2O_2) é um agente antioxidante e ajuda a remoção da matéria orgânica que terá sido filtrada ou que se encontra agregada aos microplásticos.

7. Após 24h, procede-se à contagem de microplásticos por meio de uma lupa Leica com uma amplificação de 35x.

Microplásticos: O que comem os nossos caranguejos?

Registo da experiência

1. Indica qual a hipótese a testar nesta experiência.

2. Regista na Tabela 1 a altura, largura e peso do caranguejo e o peso da glândula digestiva dos vários exemplares de caranguejo. Calcula a média de cada um destes parâmetros. Elabora a legenda da Tabela 1.

Tabela 1:

Nº do exemplar	Peso (g)	Altura (mm)	Largura (mm)	Peso da Glândula digestiva (g)
Média				

5. Desenha alguns dos Microplásticos observados com o auxílio da lupa.

6. Indica três ações que podes desenvolver no teu dia a dia, para diminuir a quantidade de plásticos e conseqüentemente de Microplásticos, que encontramos no Oceano?