

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos
Trópicos

BIANCA LEITE CARNIB DE SOUSA

**BIOMONITORAMENTO DA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL COSTA DOS
CORAIS (APACC) COM O BIVALVE *Tivela mactroides* (BORN, 1778), APÓS O
DERRAMAMENTO DE ÓLEO**

MACEIÓ - ALAGOAS
Julho/2022

BIANCA LEITE CARNIB DE SOUSA

**BIOMONITORAMENTO DA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL COSTA DOS
CORAIS (APACC) COM O BIVALVE *Tivela mactroides* (BORN, 1778), APÓS O
DERRAMAMENTO DE ÓLEO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Conservação da Biodiversidade Tropical.

**Orientador (a): Prof. Dr. Lázaro Wender
Oliveira de Jesus**

**MACEIÓ - ALAGOAS
Julho/2022**

*Dedico a todos que estiveram ao
meu lado durante esta caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por todo cuidado e proteção durante esta jornada.

Aos meus pais, Maria da Paz e Georgimar, que sempre foram a peça chave para eu não desistir dos meus sonhos.

A minha família, em nome da minha tia e madrinha, Eurimar, por todo carinho e paciência pelos sumiços.

Ao meu companheiro de vida, Jonas, por ser meu maior incentivador, pela paciência por conta das ausências e estresses.

Ao meu orientador, Lázaro, por ter me acolhido e pela compreensão em momentos difíceis.

A minha querida amiga e mestre Jerusa, obrigada por todo aprendizado, conversas, aventuras e por não me deixar falhar.

Aos meus colegas de laboratório, em especial, Andressa, Zaíne e Max, sempre acreditaram no meu potencial e em momentos difíceis nunca me deixaram esquecer o quanto um trabalho em equipe é importante. Vocês são parte essencial de tudo isso.

As minhas amigas, Valéria, Aldeci e Vitória, a fase do mestrado não é nada fácil e vocês me ajudaram em todos os quesitos, desde pessoal ao acadêmico. Garotas, vocês vão longe. Obrigada Valéria e Aldeci pelos meus presentes Pérola e Maria Cecília, deixaram a caminhada mais leve e divertida.

Agradeço ao corpo docente deste PPG, que contribuíram com meu aprendizado.

Agradeço a CAPES pela concessão da bolsa e ao apoio financeiro.

Agradeço ao CNPq pelo financiamento concedido ao PELD Costa dos Corais visando avaliar os impactos pós-derramamento de óleo.

A todos aqueles que estiveram comigo, cada um tem uma contribuição importante ao longo dessa jornada, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O derramamento de óleo cru ocorrido em 2019 na Costa do Brasil afetou diversas Áreas Marinhas Protegidas, dentre elas, a Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC), em Alagoas. Um dos componentes do óleo são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's), os quais podem causar diversos efeitos deletérios em organismos aquáticos, como desbalanço redox e neurotoxicidade. Estudos de Biomonitoramento com o uso de biomarcadores são uma importante ferramenta para esclarecer os diferentes contaminantes e seus efeitos sobre a biota e, ainda, subsidiar políticas de conservação ambiental. Desta forma, este estudo objetivou avaliar os potenciais efeitos ecotoxicológicos no bivalve *Tivela mactroides* (maçunim) de áreas atingidas pelo óleo. Foram realizadas coletas nos períodos intermediário (setembro/2020), de estiagem (dezembro/2020) e chuvoso (abril/2021) em três localidades da APACC, que representavam um gradiente decrescente do volume de óleo removido: 1) Maragogi; 2) Japaratinga e 3) Paripueira. Foi realizada a quantificação dos HPA's presentes no corpo mole dos bivalves, a avaliação de biomarcadores de balanço redox e neurotoxicidade nas brânquias e glândula digestiva, bem como o cálculo do Índice Integrado de Biomarcadores (IBR). Dos 16 HPA's investigados foram detectados 13 tipos, sendo o Pireno, Benzo (a) antraceno, Criseno, Benzo (b) fluoranteno, Benzo (k) fluoranteno, Benzo (a) pireno e Ideno (1,2,3-cd) responsáveis por ~43% da concentração de HPA's totais. Foi constatada uma resposta antioxidante em todas as localidades para ambos os órgãos investigados, porém essas não foram suficientes para evitar danos oxidativos na glândula digestiva dos bivalves de Maragogi no período estiagem e de Paripueira no período chuvoso. Os maiores valores de IBR foram observados para Japaratinga e Maragogi, entretanto não houve correlação com os níveis de HPAs destes locais. Em geral, *T. mactroides* se mostrou sensível às variações ambientais, entretanto apresentou respostas antioxidantes que o tornam resiliente a diferentes estressores ambientais. Em conjunto, estes dados denotam a importância da inclusão de estudos ecotoxicológicos na APACC para o acompanhamento dos efeitos a longo prazo após o episódio do derramamento de óleo, bem como de outros poluentes oriundos da atividade antrópica.

Palavras-chave: Bivalves, Estresse Oxidativo, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, Neurotoxicidade

ABSTRACT

The oil spill that occurred in 2019 on the Coast of Brazil affected several Marine Protected Areas, including the Costa dos Corais Environmental Protection Area (APACC), in the State of Alagoas. One of the components of the oil are Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's), which can cause several deleterious effects on aquatic organisms, such as redox imbalance and neurotoxicity. Biomonitoring studies using biomarkers are an important tool to clarify the different contaminants and their effects on the biota, and also to support environmental conservation policies. Thus, this study aimed to evaluate the potential ecotoxicological effects on the bivalve *Tivela mactroides* (maçunim) from areas affected by the oil. Specimen sampling were carried out in the intermediate (September/2020), dry (December/2020) and rainy (April/2021) periods in three APACC locations, which represented a decreasing gradient in relation to the volume of oil removed: 1) Maragogi; 2) Japaratinga and 3) Paripueira. The quantification of PAH's present in the soft body of bivalves, the evaluation of biomarkers of redox balance and neurotoxicity in the gills and digestive gland, as well as the calculation of the Integrated Index of Biomarkers (IBR) were performed. Among the 16 PAH's evaluated, 13 types were detected, being Pyrene, Benzo (a) anthracene, Chrysene, Benzo (b) fluoranthene, Benzo (k) fluoranthene, Benzo (a) pyrene and Idene (1,2,3-cd) responsible for ~43% of the total PAH's concentration. An antioxidant response was observed in all locations for both organs investigated, but these were not sufficient to prevent oxidative damage to the digestive gland of bivalves from Maragogi in the dry season and from Paripueira in the rainy season. The highest values of IBR were observed for Japaratinga and Maragogi, however there was no correlation with the levels of PAHs in these locations. In general, *T. mactroides* proved to be sensitive to environmental variations, however it presented antioxidant responses that make it resilient to different environmental stressors. Together, these data denote the importance of including ecotoxicological studies within the APACC, aiming to monitor the long-term effects after the oil spill episode, as well as other pollutants arising from anthropic activity.

Key-word: Bivalves, Oxidative Stress, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Neurotoxicity

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

Figura 1: A- danos resultantes do derramamento de óleo de 2019 em praia. B- peixe coberto por óleo. C- tartaruga coberta por óleo.....	15
Figura 2: Mapa do Brasil com as praias que foram atingidas pelo derramamento de óleo entre setembro e dezembro de 2020.....	16
Figura 3. Estruturas químicas de alguns HPA's comumente estudados.....	18
Figura 4. Espécimes do bivalve <i>T. mactroides</i> coletados na Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC).....	21
Figura 5. Níveis de organização dos biomarcadores.....	22
Figura 6. Integração dos sistemas de defesa enzimática.....	24
Figura 7. Transmissão neuronal da acetilcolina e sua hidrólise por AChE.....	26
Figura 8. Mapa com os municípios que fazem parte da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC).....	27

Artigo

Figura 1: Mapa da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais-Alagoas (APACC) representando as localidades S1- Paripueira (sítio referência), S2- Japaratinga e S3- Maragogi, nas quais as coletas de <i>T. mactroides</i> foram realizadas neste estudo.....	40
Figura 2: Média e erro da média da soma dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) detectados em amostras de <i>T. mactroides</i> de três localidades de Alagoas-Brasil, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). *indica diferença significativa ($p < 0,05$) entre as localidades nos períodos avaliados.....	50
Figura 3. Média e desvio padrão do conjunto de valores de IBR obtidos por permutação para a (A) brânquias e (B) glândula digestiva de <i>Tivela mactroides</i> para cada período avaliado (intermediário, estiagem e chuvoso) e locais de coleta (Paripueira, Japaratinga e Maragogi). Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as localidades em um mesmo período avaliado. Já diferentes letras maiúsculas indicam diferença entre as localidades nos períodos avaliados.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água da região da praia dos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021).....	46
Tabela 2. Quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) em amostras de <i>T. mactroides</i> em três localidades de Alagoas- Brasil, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021).....	48
Tabela 3. Balanço redox em brânquias de bivalves (<i>T. mactroides</i>) coletados na Área de Proteção Ambiental Costa Dos Corais (APACC) de Alagoas nos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). Letras minúsculas representam diferença estatística entre as localidades. Dados resultantes da ANOVA-TWO WAY seguido de Teste Tukey ($p < 0,005$).....	50
Tabela 4. Balanço redox em glândula digestiva de bivalves (<i>T. mactroides</i>) coletados na Área de Proteção Ambiental Costa Dos Corais (APACC) de Alagoas nos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). Letras minúsculas representam diferença estatística entre as localidades. Dados resultantes da ANOVA-TWO WAY seguido de Teste Tukey ($p < 0,005$).....	54

SUMÁRIO

1. Apresentação.....	13
Referências.....	14
2. Revisão da literatura.....	15
2.1 A problemática do episódio do derramamento de óleo no Brasil.....	15
2.2 Composição do óleo provenientes do derramamento.....	17
2.3 Ecotoxicidade em organismos aquáticos.....	18
2.4 Espécie modelo.....	20
2.5 Biomarcadores.....	22
2.6 Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC).....	25
Referências.....	28
3. AVALIAÇÃO DE MÚLTIPLOS BIOMARCADORES NO BIVALVE <i>TIVELA MACTROIDES</i> (BORN, 1778) APÓS O DERRAMAMENTO DE ÓLEO NA MAIOR RESERVA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL MARINHA DO BRASIL.....	34
Resumo.....	34
3.1 Introdução.....	36
3.2 Material e Métodos.....	38
3.2.1 Local de estudo.....	38
3.2.2 Parâmetros ambientais.....	40
3.2.3 Extração e quantificação dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's).....	40
3.2.4 Preparo das amostras e homogenatos para as análises bioquímicas.....	41
3.2.5 Superóxido Dismutase (SOD)	41
3.2.6 Catalase (CAT)	42
3.2.7 Glutathione-S-Transferase (GST)	42
3.2.8 Glutathione Reduzida (GSH)	43
3.2.9 Quantificação de Malondialdeído (MDA)	43
3.2.10 Atividade da Acetilcolinesterase (AChE)	43
3.2.11 Quantificação das proteínas totais.....	44
3.2.12 Índice Integrado de Biomarcadores (IBR).....	44
3.2.13 Análise estatística.....	45
3.3. Resultados.....	45
3.3.1 Parâmetros ambientais.....	45
3.3.2 Quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nos tecidos moles do <i>maçunim</i>	46
3.3.3 Balanço redox em <i>maçunim</i>	49
3.3.3.1 Brânquias.....	49
3.3.3.2 Glândula digestiva	51
3.3.3.3 Atividade da Acetilcolinesterase (AChE)	51
3.3.3.4 Índice Integrado de Biomarcadores (IBR).....	53
3.4 Discussão.....	54
3.5 Conclusão.....	61
Referências.....	63
Anexos.....	72

1. APRESENTAÇÃO

Com a finalidade de estudar os efeitos nocivos decorrentes das interações entre contaminantes e organismos, surge a ecotoxicologia, ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais e vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim, a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (TRUHAUT, 1977; CONNELL et al., 2009).

A composição da comunidade biológica pode ser alterada seletivamente pela presença de substâncias tóxicas em corpos hídricos ou sedimentos, essas substâncias em contato com organismos aquáticos podem alterar de forma a fisiologia de organismos aquáticos, causando efeitos que vão desde dificuldades na abertura da concha à reprodução (SANDRINI-NETO et al., 2016; TURJA et al., 2020). A fim de investigar a presença de poluentes, são realizados estudos de biomonitoramento (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008; FERNANDES et al., 2021). Para esse tipo de estudo são escolhidas espécies biomonitoras (SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013; TURJA et al., 2020) e a partir disso são escolhidos biomarcadores (SANDRINI-NETO et al., 2016; ABDULLA; NASER; AYYAD, 2019).

Visto isso, este trabalho investigou se bivalves da espécie *Tivela mactroides*, conhecidos como maçunins, amostrados em áreas do Estado de Alagoas afetadas pelo episódio do derramamento de óleo que ocorreu em 2019, apresentaram alterações na atividade de biomarcadores de balanço redox e de neurotoxicidade. Considerando esta temática, essa dissertação é estruturada em dois capítulos. O primeiro baseia-se em uma revisão bibliográfica sobre o tema em questão, abordando os principais tópicos deste estudo. O segundo capítulo é um artigo intitulado “Avaliação de múltiplos biomarcadores no bivalve *Tivela mactroides* (Born, 1778) após o derramamento de óleo na maior reserva de proteção ambiental marinha do Brasil” a ser submetido na revista Science of The Total Environment.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, A. A., NASER, H. A., & AYYAD, G. J. (2019). Assessing Genotoxic and Cytotoxic Effects in Bivalves Influenced by Marine Pollution in Bahrain, Arabian Gulf. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 16(3), 35-42.
- CONNELL, DW, LAM, P., RICHARDSON, B., & WU, R. (2009). *Introdução à ecotoxicologia*. John Wiley & Filhos.
- DE OLIVEIRA SOARES, M., TEIXEIRA, C. E. P., BEZERRA, L. E. A., PAIVA, S. V., TAVARES, T. C. L., GARCIA, T. M., & CAVALCANTE, R. M. (2020). Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. *Marine Policy*, 115, 103879.
- FERNANDES, G. M., MARTINS, D. A., SANTOS, R. P., SANTIAGO, I. S., NASCIMENTO, L. S., OLIVEIRA, A. H., ... & CAVALCANTE, R. M. (2021). Levels, source appointment, and ecological risk of petroleum hydrocarbons in tropical coastal ecosystems (northeast Brazil): Baseline for future monitoring programmes of an oil spill area. *Environmental Pollution*, 118709.
- MAGALHÃES, D. D. P., & FERRÃO FILHO, A. D. S. (2008). A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos.
- SANDRINI-NETO, L., PEREIRA, L., MARTINS, C. C., DE ASSIS, H. C. S., CAMUS, L., & LANA, P. C. (2016). Antioxidant responses in estuarine invertebrates exposed to repeated oil spills: effects of frequency and dosage in a field manipulative experiment. *Aquatic Toxicology*, 177, 237-249.
- SARDI, A. E., RAMOS, R., & GARCÍA, E. M. (2013). Hydrocarbon biomarkers responses in the bivalve, *Tivela mactroides*, exposed to polluted sediments. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 90(1), 1-8.
- TRUHAUT, R. (1977). *Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 1(2), 151-173.
- TURJA, R., SANNI, S., STANKEVIČIŪTĒ, M., BUTRIMAVIČIENĒ, L., DEVIER, M. H., BUDZINSKI, H., & LEHTONEN, K. K. (2020). Biomarker responses and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Mytilus trossulus* and *Gammarus oceanicus* during exposure to crude oil. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(13), 15498-15514.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A problemática do episódio do derramamento de óleo no Brasil

Em setembro de 2019 teve início o maior desastre ambiental do Brasil, o derramamento de óleo cru, que afetou toda a costa do Nordeste e parte da costa da região Sudeste. Órgãos governamentais e não governamentais, juntamente com a sociedade civil, uniram-se para ajudar na retirada do óleo e mais de 5000 toneladas de resíduos oleosos foram removidos das praias brasileiras (Fig. 1A), manguezais e recifes de coral afetados pelo acidente (BRUM; CAMPOS-SILVA; OLIVEIRA, 2020). Os poluentes liberados do óleo são capazes de acumular na água doce e do mar, bem como nos sedimentos de ambos os ecossistemas, contaminando assim, a biota (Fig. 1B, 1C) e os seres humanos (EUZEBIO; RANGEL; MARQUES, 2019)

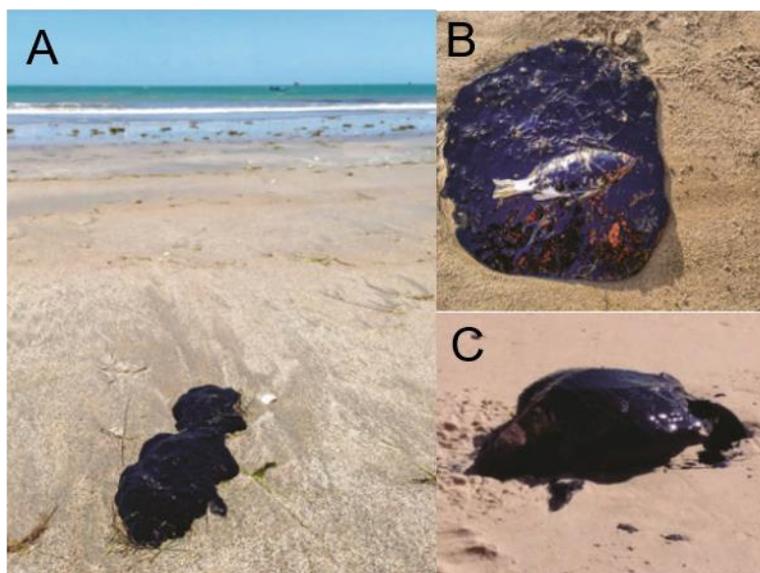


Figura 1. A- Danos resultantes do derramamento de óleo de 2019 nas praias da Costa. B- peixe coberto por óleo. C- tartaruga coberta por óleo. Fonte: de Oliveira Soares et al., (2020).

Após quatro meses do primeiro aparecimento, já tinham sido atingidos cerca de 3.000 km da costa brasileira, incluindo 980 praias (Fig.2). Com o registro sendo observado até na Costa Amazônica. Além disso, o óleo atingiu 55 áreas marinhas protegidas, incluindo as duas das maiores áreas protegidas de recifes de coral no Atlântico Sul: a Área de Proteção Ambiental (APA) Costa dos Corais (APACC) e o Parque Nacional Marinho Abrolhos. Por serem áreas protegidas, caracterizam-se por altas taxas de endemismo, riqueza biológica e fornecimento de importantes bens e serviços ecossistêmicos (DE OLIVEIRA SOARES et al., 2020).

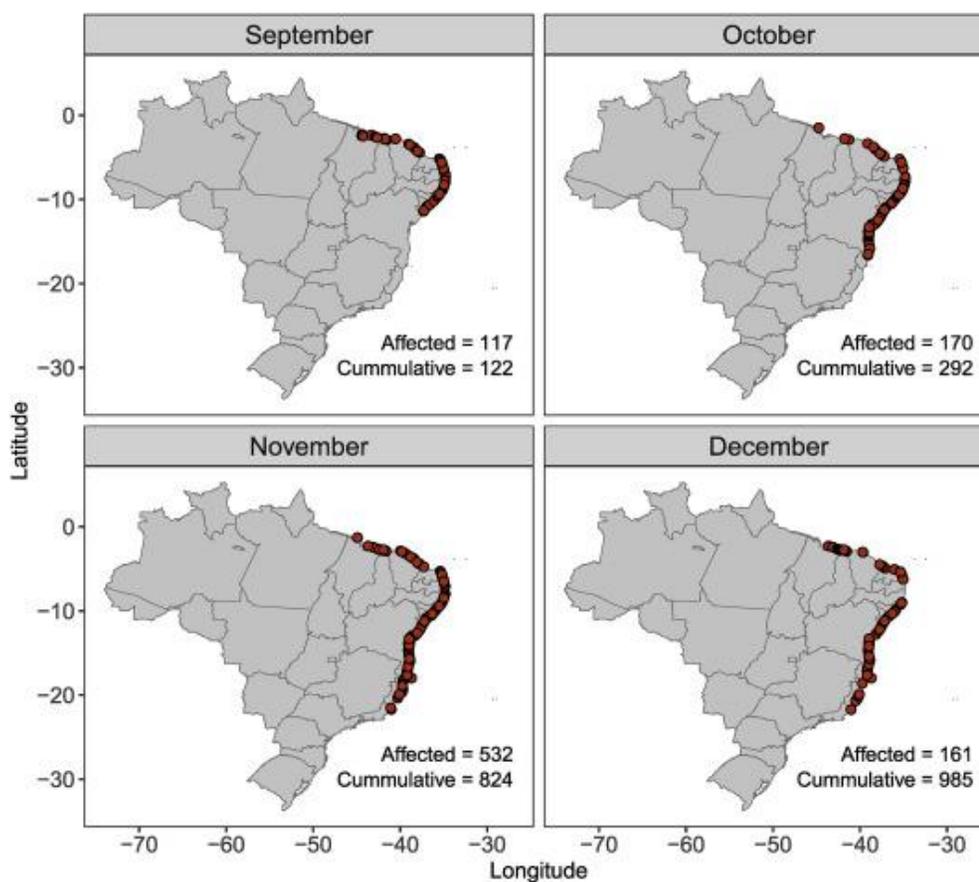


Figura 2. Mapa do Brasil com as praias que foram atingidas pelo derramamento de óleo entre setembro e dezembro de 2020. Fonte: Fonte: de Oliveira Soares et al., (2020).

Nos meses de janeiro e fevereiro de 2021 novas manchas de óleo foram encontradas em algumas localidades do litoral de Alagoas e Pernambuco (BRASIL, 2020). O ressurgimento do óleo decorreu do desprendimento de resíduos que se encontravam no assoalho oceânico próximo à linha de costa, nos costões ou mesmo no sedimento arenoso de praias, em profundidade, devido a eventuais variações meteorológicas (BRASIL, 2020).

O derramamento de petróleo ocorrido no Brasil afetou gravemente a Costa do nordeste do país. As consequências desse desastre ambiental e social ainda podem durar décadas, sendo provável que o acúmulo biológico das toxinas represente um risco a longo prazo na saúde dos organismos que tiveram contato, incluindo os seres humanos (LADLE et al., 2020).

Com isso, a exposição direta dos animais e humanos ao óleo pode ter causado alguns problemas (CARMO; TEIXEIRA, 2020), principalmente devido a constituição desde derivado do petróleo, uma mistura complexa de hidrocarbonetos, associada a componentes extremamente tóxicos como benzeno, tolueno e xileno (LAWAL, 2017).

2.2 Composição do óleo provenientes do derramamento

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) são substâncias químicas que apresentam dois ou mais anéis aromáticos fundidos (Fig. 3), sendo que quanto maior a quantidade de anéis, mais tóxico será o HPA (LAWAL, 2017; FERNANDES et al., 2022). Após a liberação no ambiente os hidrocarbonetos tendem a evaporar rapidamente na atmosfera na primeira semana, simultaneamente a isso, iniciam-se os processos de solubilização e dispersão na coluna de água, espalhando-se por correntes e marés (ARAÚJO; RAMALHO; MELO, 2020).

De acordo com o Committee On Oil in The Sea, os principais grupos presentes no petróleo bruto são hidrocarbonetos saturados (alcanos e cicloalcanos), aromáticos,

resinas e asfaltenos (compostos policíclicos contendo nitrogênio, enxofre e oxigênio) e compostos organometálicos, como metais pesados.

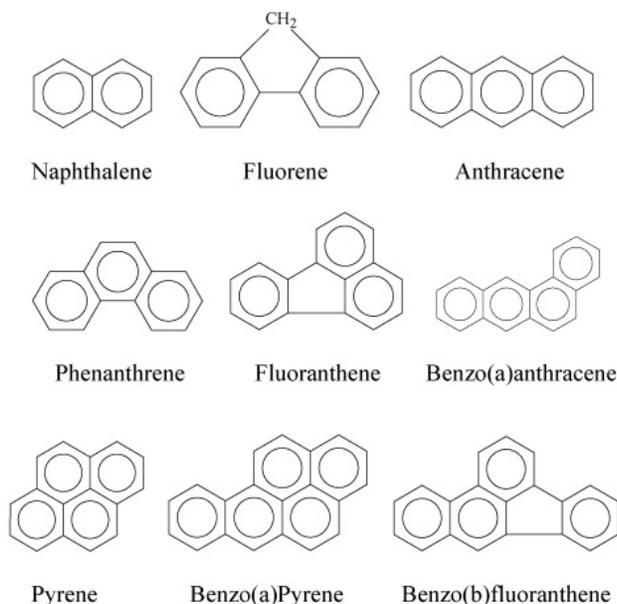


Figura 3: Estruturas químicas de alguns HPA's comumente estudados (HARITASH & KAUSHIK, 2009).

Em um estudo realizado em amostras de óleo coletadas nos estados de Pernambuco, Sergipe e Alagoas, também foram encontrados hidrocarbonetos leves (principalmente n-alcenos com menos de 15 átomos de carbono) (FIORAVANTI, 2019).

2.3 Ecotoxicidade em organismos aquáticos

A fim de estudar os efeitos nocivos decorrentes das interações de xenobióticos - compostos químicos estranhos aos organismos - com a biota, em junho de 1969, o toxicologista René Truhaut, durante uma reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions (ICSU)*, em Estocolmo, sugeriu o termo ecotoxicologia para se referir à ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais e vegetais, terrestres ou aquáticos, que

constituem a biosfera, incluindo assim, a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (TRUHAUT, 1977).

A composição da comunidade biológica pode ser alterada seletivamente pela presença de substâncias tóxicas em corpos hídricos ou sedimentos, em decorrência de alterações negativas na fisiologia de organismos aquáticos. Espécies diferentes reagem de maneiras distintas a xenobióticos por apresentarem diferentes graus de tolerância (PEREIRA, 2002).

Vale ressaltar que os prejuízos à saúde dos organismos marinhos podem ter seus efeitos extrapolados para o nível populacional. Com a diminuição da densidade populacional, pode ocorrer desequilíbrio em níveis superiores, como nas comunidades e ecossistemas. A estrutura da comunidade pode apresentar mudanças, alterando a riqueza e diversidade de espécies, afetando assim a estabilidade do ecossistema (BEGON et al., 2009).

Em organismos aquáticos, a absorção dos xenobióticos ocorre geralmente pelas brânquias, tegumento e/ou trato digestório. Por meio da bioacumulação, a concentração desses compostos químicos pode aumentar nos tecidos em relação ao ambiente. Já pelo processo de biotransformação, os compostos podem ser transformados dentro do organismo pelos sistemas metabólicos, que alteram sua toxicidade e podem facilitar a excreção (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Para realizar estudos de biomonitoramento e ecotoxicidade é importante a escolha do organismo a ser avaliado. Um organismo biomonitor tem a capacidade de fornecer informações sobre as condições ambientais de seu hábitat por sua presença, ausência, pelo seu comportamento ou respostas fisiológicas ao meio. Sua utilização permite uma avaliação integrada dos efeitos ecológicos causados por múltiplas fontes de poluição (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

O uso de organismos marinhos, em especial os bivalves, têm sido úteis como indicadores integrados de contaminantes marinhos, pois estes apresentam ampla distribuição e abundância mundial, possuem capacidade de bioacumulação, são filtradores, sésseis e vivem em regiões entre marés, tendo assim contato direto com o sedimento (ROCHA et al., 2015; KHAN & BURGESS, 2020).

Portanto, os estudos de bivalves têm um papel fundamental como ferramentas para entender a qualidade do habitat e no gerenciamento eficiente de ecossistemas estressados (TURJA et al, 2020; SUN et al., 2021). Além disso, tais abordagens podem ser usadas para identificar pontos críticos e priorizar esforços de conservação, bem como delinear questões críticas de exposição para outras espécies (KHAN & BURGESS, 2020).

2.4 Espécie modelo

Tivela mactroides (Born, 1778) é de origem marinha, pertence à classe dos bivalves, à ordem Venerida, à família Veneridae e ao gênero *Tivela* (WORMS, 2022). Esta espécie é caracterizada pela concha no formato trigonal com coloração que varia de tons de creme com linhas amarronzadas (Fig. 4) e podem ser encontrados vivendo enterrados em substratos arenoso-lamoso de águas rasas (DENADAI et al., 2006; TURRA et al., 2015). Possui ampla distribuição pelo Atlântico oeste entre a ilha de Ascensão no México, em algumas ilhas do Caribe, na Venezuela e Brasil (MCLACHLAN et al., 1996; DOS SANTOS & BATALLA, 2017).



Figura 4: Espécimes do bivalve *T. mactroides* coletados na Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC). Fonte: Autor

A espécie é conhecida popularmente pelo litoral brasileiro por “vôngole”, “maçunim” e possui grande importância socioeconômica, sendo utilizado por muitas famílias como a principal fonte de renda e para subsistência (TURRA et al., 2016; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021). Vários estudos têm sido realizados sobre *T. mactroides* no Brasil, os quais abrangem a sua morfologia (DENADAI et al., 2006), dinâmica populacional (DENADAI et al., 2015a), crescimento relativo (TURRA et al., 2018), aspectos ecológicos (TURRA et al., 2015; DOS SANTOS & BATALLA, 2017), reprodução (DENADAI et al., 2015b) e aspectos socioeconômicos (TURRA et al., 2016).

O único estudo com esta espécie envolvendo a análise de biomarcadores de estresse oxidativos para investigar os efeitos da exposição a HPA's foi realizado na Venezuela, onde esses organismos foram expostos a sedimentos com diferentes concentrações de HPA's (SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013).

2.5 Biomarcadores

Os biomarcadores são definidos como uma alteração nos componentes, processos, estruturas ou funções celulares ou bioquímicas que são mensuráveis em um sistema ou amostra biológica. Podem ser encontrados em diferentes níveis de organização (Fig. 5). Eles preveem, determinam e avaliam a ocorrência de um dano e/ou monitoram suas consequências após a exposição dos organismos a uma fonte de contaminação (FREIRE et al., 2008; GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2020).

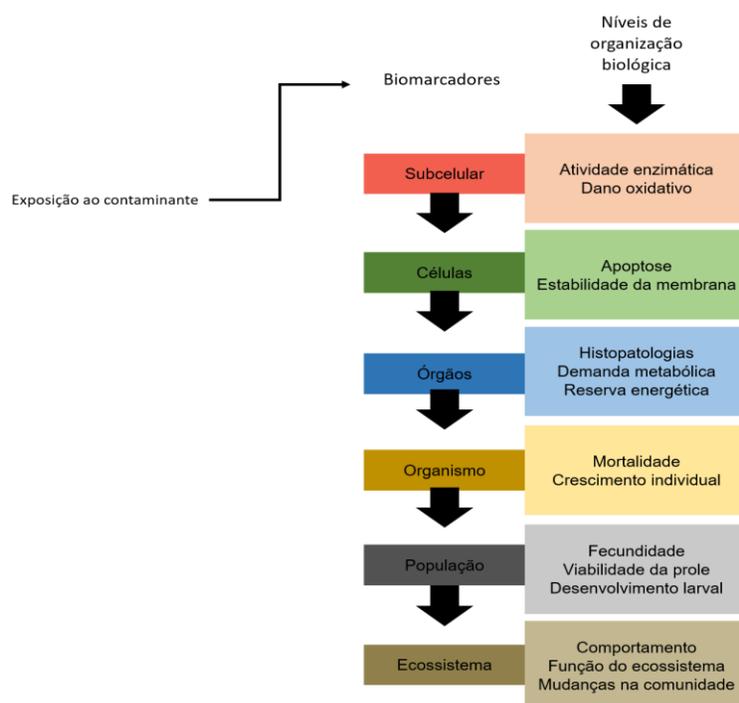


Figura 5: Níveis de organização dos biomarcadores. Fonte: Vieira (2018).

Em geral, quanto maior a concentração do poluente e maior longo o tempo de exposição, maiores serão as chances dos impactos negativos atingirem níveis superiores de organização biológica, como comunidades e ecossistemas. Se a resposta ao agente estressor dura tempo suficiente para levar à morte uma população de organismos, afetando as taxas de crescimento e de reprodução e impedindo o recrutamento de novas espécies, ela é então capaz de alterar a estrutura da comunidade (CAIRNS & PRATT,

1993). Dentre os biomarcadores, alguns são amplamente utilizados nos estudos com bivalves, a exemplos dos biomarcadores de desbalanço redox, de estresse oxidativo e neurotoxicidade (SANDRINI-NETO et al., 2016).

A produção de radicais livres é um processo natural das células e tecidos. Para tentar minimizar as consequências produzidas pelos radicais, são sintetizadas e entram em ação as enzimas antioxidantes (RICHARDSON et al, 2013; TURJA et al, 2020). Porém, quando a produção de radicais se torna excessiva, pode gerar dano oxidativo (BARBOSA et al., 2010; FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O estresse oxidativo é gerado pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROS/ RNS) nas células. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaís (BARBOSA et al., 2010; ALKADI, 2020).

A utilização de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo envolvem a quantificação de enzimas de estresse oxidativo (COGO, 2009), como, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) e a glutathiona (GSH) que participa de muitos processos biológicos importantes, incluindo a proteção contra compostos tóxicos (Fig. 6) (LÜCHMANN et al., 2011; SANDRINI-NETO et al., 2016; ABDULLA; NASER; AYYAD, 2019).

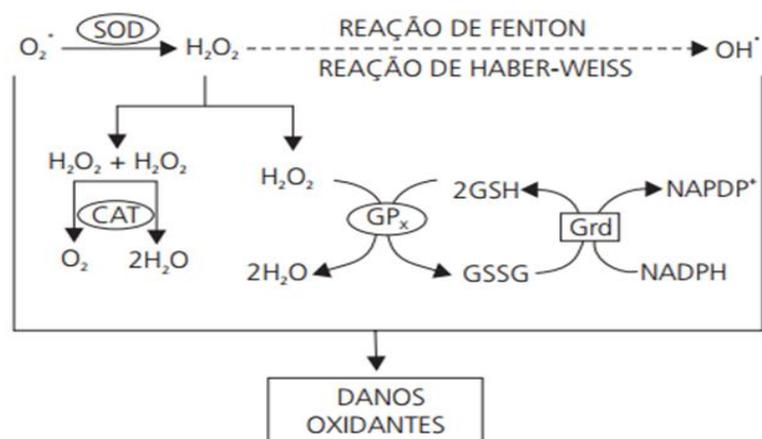


Figura 6: Integração dos sistemas de defesa enzimática. Fonte: BARBOSA et al., (2010).

A Superóxido Dismutase (SOD) é a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de radicais livres, a qual possui a função de catalisar a dismutação do O_2^- (IGHODARO & AKINLOYE, 2018) (Fig. 6). Pode ser encontrada no citoplasma (CuZn-SOD), na matriz mitocondrial (Mn-SOD) e no meio extracelular. O produto resultante da catalisação da reação pela SOD é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que precisa ser retirado rapidamente do meio celular (IGHODARO & AKINLOYE, 2018; CONTRERAS-ZETELLA et al., 2022).

A Catalase (CAT) possui a função de catalisar a degradação do H_2O_2 (Fig. 6). Na reação, uma das moléculas do H_2O_2 é oxidada, gerando oxigênio molecular, enquanto a outra é reduzida a água. Esta enzima pode ser encontrada nos peroxissomos e nas mitocôndrias (IGHODARO & AKINLOYE, 2018; CONTRERAS-ZETELLA et al., 2022).

A Glutathione-S-transferase (GST) catalisa a conjugação de Glutathione Reduzida (GSH) a uma variedade de produtos endógenos, que tem a capacidade de gerar danos oxidativos, como os radicais de hidroxila (OH^\cdot). É considerada uma enzima de desintoxicação por meio da conjugação dos xenobióticos com GSH, formando substâncias de baixa toxicidade (VAISH et al., 2020).

Outro biomarcador amplamente utilizado é a avaliação da neurotoxicidade pela inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta atua nas terminações das sinapses colinérgicas, na qual catalisam a hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina na fenda sináptica, e assim, permitem que o neurônio colinérgico retorne ao seu estado de repouso após ser ativado (Fig. 7). Caso isso não ocorra, pode afetar o crescimento e desenvolvimento de organismos aquáticos, como por exemplo, abertura e fechamento da concha e a reprodução, dentre outros (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016; TURJA et al., 2020).

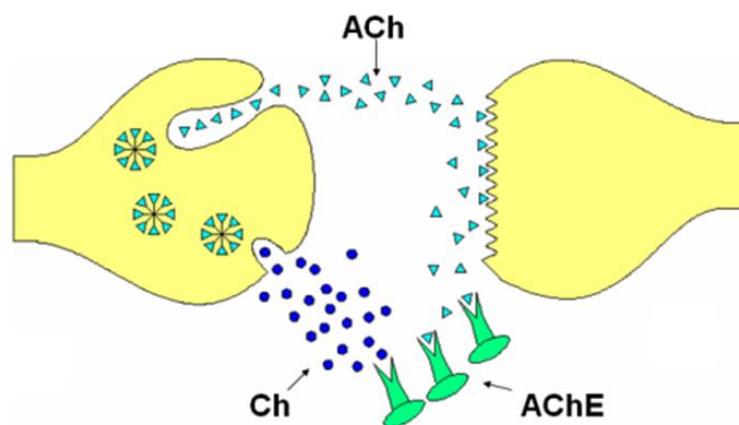


Figura 7. Figura 7. Esquema da transmissão neuronal mediada pelo neurotransmissor acetilcolina e sua hidrólise pela acetilcolinesterase (AChE). Fonte: Petronilho & Figueroa-Villar (2014).

2.6 Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC)

A Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC), localizada entre os estados de Alagoas e Pernambuco (Fig. 8), compreende uma área com mais de 400.000 hectares. É a maior Unidade de Conservação Federal Marinha Costeira do Brasil e abriga uma vasta diversidade de organismos aquáticos (ICMBio, 2021; MIRANDA et al., 2020).

Possui grande importância socioeconômica para Alagoas, principalmente por meio do turismo e pesca (ICMBio, 2019; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021).



Figura 8: Mapa com os municípios que fazem parte da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC). Fonte: Autor.

O derramamento de óleo impactou mais de quarenta áreas marinhas protegidas (AMPs), incluindo a APACC. Esta foi a mais afetada, com cerca de 1.671,83 toneladas de resíduos oleosos (petróleo bruto, areia de praia e outros) que chegaram em sua Costa, sendo as localidades de Japaratinga e Maragogi as mais atingidas (ALAGOAS, 2020;

IBAMA, 2020). Isso ameaçou a economia, saúde de diversas comunidades pesqueiras e animais (DE OLIVEIRA SOARES et al., 2020; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021).

Dado esse cenário, tornam-se necessários estudos de biomonitoramento na APACC com a utilização de espécies biomonitores e com a análise de múltiplos biomarcadores. Nesse sentido, de forma inédita, foi realizado um biomonitoramento passivo em localidades da APACC atingidas pelo óleo, empregando-se a espécie *T. mactroides*.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, A. A., NASER, H. A., & AYYAD, G. J. (2019). Assessing Genotoxic and Cytotoxic Effects in Bivalves Influenced by Marine Pollution in Bahrain, Arabian Gulf. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 16(3), 35-42.
- ALAGOAS. 2020. Reunião Ordinária 300, Conselho Estadual de Proteção Ambiental do Estado de Alagoas – 11 de Fevereiro 2020. Available in: <https://www.youtube.com/watch?v=fzhkIFBB2IY> Data Access: 09/07/2022.
- ALKADI, H. (2020). Uma revisão sobre radicais livres e antioxidantes. *Desordens Infecciosas-Alvos de Drogas (Anteriormente Atuais Alvos de Drogas-Distúrbios Infecciosos)*, 20 (1), 16-26.
- ARAÚJO, M. E. D., RAMALHO, C. W. N., & MELO, P. W. D. (2020). Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in Pernambuco, Northeast Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 36.
- ARAÚJO, C. R. M., SANTOS, V. D. A., & GONSALVES, A. A. (2016). Acetylcholinesterase-AChE: A pharmacological interesting enzyme. *Revista Virtual de Química*, 8(6), 1818-1834.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios (2010). *Revista de Nutricao*, v. 23, n. 4, p. 629–643.
- BEGON, M., TOWNSEND, C. R., & HARPER, J. L. (2009). *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. Artmed editora.
- BRASIL, M. DO. Manchas de Óleo. Disponível em: <<https://www.marinha.mil.br/manchasdeoleo/sobre>>. Acesso em: 29 jul. 2020.
- BRUM, H. D., CAMPOS-SILVA, J. V., & OLIVEIRA, E. G. (2020). Brazil oil spill response: Government inaction. *Science*, 367(6474), 155-156.
- CAIRNS, J.J.R, PRATT, J.R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg DM, Resh VH. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: **Chapman & Hall**; 1993. p. 10-27.
- CARMO, E. H., & TEIXEIRA, M. G. (2020). Desastres tecnológicos e emergências de saúde pública: o caso do derramamento de óleo no litoral do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 36.
- CONTRERAS-ZENTELLA, M. L., VILLALOBOS-GARCÍA, D., & HERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. (2022). Ethanol Metabolism in the Liver, the Induction of Oxidant Stress, and the Antioxidant Defense System. *Antioxidants*, 11(7), 1258.
- DASARI, S., GANJAYI, M. S., YELLANURKONDA, P., BASHA, S., & MERIGA, B. (2018). Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. *Chemico-biological interactions*, 294, 81-90.

- DENADAI, M. R., ARRUDA, E. P., DOMANESCHI, O., & AMARAL, A. C. Z. (2006). Veneridae (Mollusca, Bivalvia) from the north coast of São Paulo State, Brazil. **Biota Neotropica**, 6(3), 0-0.
- DENADAI, M. R., POMBO, M., BERNADOCHI, L. C., & TURRA, A. (2015a). Harvesting the beach clam *Tivela mactroides*: short-and long-term dynamics. **Marine and Coastal Fisheries**, 7(1), 103-115.
- DENADAI, M. R., LE SUEUR-MALUF, L., MARQUES, C. G., AMARAL, A. C., ADAMO, I., YOKOYAMA, L. Q., & TURRA, A. (2015b). Reproductive cycle of the trigonal lam *Tivela mactroides* (Bivalvia, Veneridae) in Caraguatatuba Bay, southeastern Brazil. **Marine Biology Research**, 11(8), 847-858.
- DE OLIVEIRA ESTEVO, M., LOPES, P. F., DE OLIVEIRA JÚNIOR, J. G. C., JUNQUEIRA, A. B., DE OLIVEIRA SANTOS, A. P., DA SILVA LIMA, J. A., ... & CAMPOS-SILVA, J. V. (2021). Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities. **Marine Pollution Bulletin**, 164, 111984.
- DE OLIVEIRA SOARES, M., TEIXEIRA, C. E. P., BEZERRA, L. E. A., PAIVA, S. V., TAVARES, T. C. L., GARCIA, T. M., ... & CAVALCANTE, R. M. (2020). Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. **Marine Policy**, 115, 103879.
- EUZEBIO, C. S., DA SILVEIRA RANGEL, G., & MARQUES, R. C. (2019). Derramamento de petróleo e seus impactos no ambiente e na saúde humana. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (Online)**, (52), 79-98.
- FERNANDES, G. M., MARTINS, D. A., SANTOS, R. P., SANTIAGO, I. S., NASCIMENTO, L. S., OLIVEIRA, A. H., ... & CAVALCANTE, R. M. (2021). Levels, source appointment, and ecological risk of petroleum hydrocarbons in tropical coastal ecosystems (northeast Brazil): Baseline for future monitoring programmes of an oil spill area. **Environmental Pollution**, 118709.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSURABA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo (1997). **Rev Ass Med Brasil**, p. 61–68.
- FIORAVANTI, C. (2019). Os Caminhos da Mancha. Acesso em 20 de Ago. de 2021, disponível em Pesquisa FAPESP: <https://revistapesquisa.fapesp.br/2019/12/03/os-caminhos-da-mancha/>.
- FREIRE, M. M., SANTOS, V. G., GINUINO, I. S. F., & Arias, A. R. L. (2008). Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, 12(3), 2.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. S., NAVARRETE, F., SALA, F., GASPARYAN, A., AUSTRICH-OLIVARES, A., & MANZANARES, J. (2020). Biomarkers in psychiatry: concept, definition, types and relevance to the clinical reality. **Frontiers in psychiatry**, 11, 432.

HARITASH, A. K., & KAUSHIK, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. **Journal of hazardous materials**, 169(1-3), 1-15.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis [IBAMA], 2020. Manchas de óleo no litoral do Nordeste. Retrieved from. <http://www.ibama.gov.br/manchasdeoleo>. Acesso em junho 2021.

IGHODARO, O. M., & AKINLOYE, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, 54(4), 287-293.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)- Plano de Manejo da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais. Brasil (2021).

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)- Diagnóstico da Pesca Artesanal na APACC – 2019 Brasil (2019).

KHAN, B., HO, K. T., & BURGESS, R. M. (2020). Application of biomarker tools using bivalve models toward the development of adverse outcome pathways for contaminants of emerging concern. *Environmental toxicology and chemistry*, 39(8), 1472-1484.

LADLE, R. J., MALHADO, A. C., CAMPOS-SILVA, J. V., & PINHEIRO, B. R. (2020). Brazil's mystery oil spill: an ongoing social disaster. **Nature**, 578(7793), 37-37.

LAWAL, A. T. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science*, 3(1), 1339841.

LIGUORI, I., RUSSO, G., CURCIO, F., BULLI, G., ARAN, L., DELLA-MORTE, D., ... & ABETE, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical interventions in aging**, 13, 757.

LÜCHMANN, K. H., MATTOS, J. J., SIEBERT, M. N., GRANUCCI, N., DORRINGTON, T. S., BÍCEGO, M. C., ... & BAINY, A. C. (2011). Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction. **Aquatic toxicology**, 105(3-4), 652-660.

MAGALHÃES, D. D. P., & FERRÃO FILHO, A. D. S. (2008). A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos.

MIRANDA, R. J., MALHADO, A. C. M., FABRÉ, N., BATISTA, V., SANTOS, R., CAMPOS-SILVA, J., ... & CARVALHO, N. A. (2020). Integrating long term ecological research (Iter)

nd marine protected area management: challenges and solutions. **Oecologia Australis**, 24(2), 279-300.

PEREIRA, R., SOARES, A. M. V. M., RIBEIRO, R., & GONÇALVES, F. (2002). Assessing the trophic state of Linhos lake: a first step towards ecological rehabilitation. **Journal of Environmental Management**, 64(3), 285-297.

PETRONILHO, E. C., & FIGUEROA-VILLAR, J. D. (2014). Agentes para Defesa Contra Guerra Química: Reativadores da Acetilcolinesterase Inibida com Organofosforados Neurotóxicos. **Revista Virtual de Química**, 6(3), 671-686.

RICHARDSON, B. J. et al. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): Do mussels “integrate” biomarker responses?. (2008). **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, n. 6–12, p. 503–514.

ROCHA, T. L., GOMES, T., SOUSA, V. S., MESTRE, N. C., & BEBIANNO, M. J. (2015). Ecotoxicological impact of engineered nanomaterials in bivalve molluscs: An overview. **Marine Environmental Research**, 111, 74-88.

SANDRINI-NETO, L., PEREIRA, L., MARTINS, C. C., DE ASSIS, H. C. S., CAMUS, L., & LANA, P. C. (2016). Antioxidant responses in estuarine invertebrates exposed to repeated oil spills: effects of frequency and dosage in a field manipulative experiment. **Aquatic Toxicology**, 177, 237-249.

SANTOS, A.M. & BATALLA, J.F. 2017. Levantamento conquiológico e análise de predação por gastrópodes em bivalves na Praia de Guaecá, São Sebastião-SP. **BioScience** 6(4): 295-315.

SARDI, A. E., RAMOS, R., & GARCÍA, E. M. (2013). Hydrocarbon biomarkers responses in the bivalve, *Tivela mactroides*, exposed to polluted sediments. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 90(1), 1-8.

SUN, S., SHI, W., TANG, Y., HAN, Y., DU, X., ZHOU, W., ... & LIU, G. (2021). Os impactos tóxicos de microplásticos (MPs) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em parâmetros hemáticos em uma espécie bivalve marinha e seus potenciais mecanismos de ação. **Ciência do Ambiente Total**, 783 , 147003.

Tivela mactroides (Born, 1778). World Register of Marine Species (WORMS). Disponível em: < <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=420964>>. Acesso em: 09/07/2022

TRUHAUT, R. (1977). Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and environmental safety**, 1(2), 151-173.

TURJA, R., SANNI, S., STANKEVIČIŪTĒ, M., BUTRIMAVIČIENĒ, L., DEVIER, M. H., BUDZINSKI, H., & LEHTONEN, K. K. (2020). Biomarker responses and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Mytilus trossulus* and *Gammarus oceanicus* during

exposure to crude oil. **Environmental science and pollution research international**, 27(13), 15498.

TURRA, A.; FERNANDEZ, W.S.; BESSA, E.; SANTOS, F.B. & DENADAI, M.R. (2015). Multi-species generalist predation on the stochastic harvested clam *Tivela mactroides* (Mollusca, Bivalvia). **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 166: 115-123.

TURRA, A., XAVIER, L. Y., POMBO, M., DE CARVALHO PASCHOAL, C., & DENADAI, M. R. (2016). Assessment of recreational harvesting of the trigonal clam *Tivela mactroides*: Socioeconomic aspects and environmental perception. **Fisheries Research**, 174, 58-67.

TURRA, A.; CORTE, G.N.; AMARAL, A.C.Z.; YOKOYAMA, L.Q. & DENADAI, M.R. 2018. Non-linear curve adjustments widen biological interpretation of relative growth analyses of the clam *Tivela mactroides* (Bivalvia, Veneridae). **PeerJ** 1-16.

VAISH, S., GUPTA, D., MEHROTRA, R., MEHROTRA, S., & BASANTANI, MK (2020). Glutathione S-transferase: Uma família de proteínas versáteis. 3. **Biotech**, 10 (7), 1-19.

ZAGATTO, P. A; BERTOLETTI, E. (2008). Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações (Vol. 478). (Ed.). São Carlos: RiMa.

3. AVALIAÇÃO DE MÚLTIPLOS BIOMARCADORES NO BIVALVE *TIVELA MACTROIDES* (BORN, 1778) APÓS O DERRAMAMENTO DE ÓLEO NA MAIOR RESERVA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL MARINHA DO BRASIL

Revista: Science of The Total Environment (Percentil 96)

Bianca Leite Carnib de Sousa ¹, Lázaro Wender Oliveira de Jesus ^{1*}

1-Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada, Universidade Federal de Alagoas.

*Autor correspondente: lazaro.jesus@icbs.ufal.br

RESUMO

O derramamento de óleo cru ocorrido em 2019 na Costa do Brasil afetou diversas Áreas Marinhas Protegidas, incluindo a Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC), em Alagoas. Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) presentes nesse óleo podem causar efeitos adversos aos organismos aquáticos, como desbalanço redox, danos ao sistema nervoso e ao material genético. Desta forma, este estudo objetivou avaliar os possíveis efeitos do derramamento em múltiplos biomarcadores na glândula digestiva e brânquias de maçonins, *Tivela mactroides*. Para isso, foram coletados (n=30) espécimes em três períodos do ano: intermediário, chuvoso e estiagem em três localidades da APACC, que representam um gradiente decrescente de volume de óleo removido: 1) Maragogi; 2) Japaratinga e 3) Paripueira. Nos tecidos moles de *T. mactroides* foram detectados 13 tipos de HPAs dos 16 investigados. As localidades de Japaratinga e Maragogi apresentaram as maiores médias da soma dos 16 HPA's em todos os períodos do ano. Entretanto, não foi detectada correlação entre os níveis de HPA's e atividade dos biomarcadores avaliados nas diferentes localidades e coletas. O valor médio de IBR variou entre os períodos do ano, indicando diferenças na atividade dos biomarcadores de balanço redox de acordo com o período do ano. Já a atividade da acetilcolinesterase (AChE) não foi diferente entre as localidades e os períodos avaliados indicando a ausência de efeito neurotóxico nesses organismos. Em geral, *T. mactroides* se mostrou sensível às

variações ambientais, entretanto apresentou respostas antioxidantes que a torna resiliente a diferentes estressores ambientais. Além disso, os resultados denotam a importância de uma avaliação individualizada dos diferentes biomarcadores para cada órgão. Este estudo foi pioneiro no monitoramento ecotoxicológico na Costa do Estado de Alagoas, demonstrando a efetividade deste tipo de avaliação com o bivalve *T. mactroides* em programas de curto e longo prazo.

Palavras-chave: Biomonitoramento; Balanço redox; Derramamento de óleo.

3.1 Introdução

Em 2019 ocorreu um dos maiores desastres ambientais do Brasil, um derramamento de óleo cru que atingiu uma grande extensão do litoral brasileiro, incluindo a costa de todos os estados do Nordeste e parte da costa sudeste e amazônica (SOARES et al., 2020). Somente no Estado de Alagoas, foram retiradas cerca de 2,4 mil toneladas de óleo cru e outros resíduos, sendo as localidades de Maragogi e Japaratinga com as maiores quantidades removidas, 797 e 554 toneladas, respectivamente (IBAMA, 2020). A costa brasileira é uma região endêmica para muitos organismos (SOARES et al., 2017), abrigando uma rica biodiversidade e esse desastre tem afetado o funcionamento dos serviços ecossistêmicos desta área (SOARES et al., 2020; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021), a saúde animal e humana (BRUM; CAMPOS-SILVA; OLIVEIRA, 2020).

A Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC), localizada entre os estados de Alagoas e Pernambuco, compreende uma área de 400.000 ha. Essa área é a maior Unidade de Conservação Federal Marinha Costeira do Brasil e abriga uma diversidade de organismos aquáticos (ARAÚJO & BERNARD, 2016; ICMBio, 2021). Também possui importância socioeconômica para o Estado de Alagoas, principalmente por meio do turismo e da pesca artesanal de subsistência (ICMBio, 2019). Mesmo após dois anos desse evento ainda podem ser encontrados resquícios desse material em várias praias do Nordeste (BRASIL, 2020; SOARES et al., 2021). O ressurgimento das manchas de óleo decorre do desprendimento de resíduos que se encontravam no assoalho oceânico próximo à linha de costa, nos costões ou mesmo no sedimento arenoso de praias, em profundidade, devido a eventuais variações meteorológicas (BRASIL, 2020).

Acidentes como o derramamento de óleo não são inéditos e já afetaram a costa de diferentes países, como no Kuwait durante a Guerra do Golfo de 1991 (DANISH, 2010), no sul do Brasil em 2000 (SILVA et al., 2009), nas costas de Portugal à França, no afundamento do navio Prestige em 2002 (JUANES et al., 2007), na Coreia do Sul em 2007 (HUANG et al., 2011; HONG et al., 2020) e também no Golfo do México em 2010 (CORN,

2010). Ainda, os poluentes liberados pela indústria petrolífera acumulam-se na água doce e do mar, bem como nos sedimentos, o que pode causar a contaminação da biota (EUZEBIO; RANGEL; MARQUES, 2019).

Dentre os diversos componentes do óleo cru estão os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's), os quais apresentam alto grau de toxicidade (HONDA & SUZUKI, 2020) em mamíferos (MOORTHY & CARLIN, 2015), peixes (ZANATY et al., 2020) e invertebrados aquáticos (RUST et al., 2004). Análises químicas realizadas no óleo cru derivados do derramamento na Costa do Brasil em 2019 encontraram HPA's como fenantreno, naftaleno, fluoranteno, pireno, dentre outros, além de diferentes metais e metalóides (SOARES et al, 2021).

Os efeitos dos HPA's no ambiente aquático, podem ser monitorados por meio da utilização de espécies consideradas biomonitoras (BARŠIENE et al., 2012; SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013; TURJA et al., 2020). Sua utilização permite uma avaliação integrada dos efeitos ecológicos causados por múltiplas fontes de poluição (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). Organismos marinhos, em especial os bivalves, têm sido utilizados como indicadores integrados de contaminantes (SUREDA et al., 2011; SANDRINI-NETO et al., 2016), uma vez que apresentam ampla distribuição geográfica, são filtradores e vivem em regiões entre marés, tendo assim contato direto com o sedimento, além de bioacumular poluentes (KHAN; HO; BURGESS, 2020).

Dentre as espécies de bivalves neotropicais, *Tivela mactroides* (Born, 1778) se destaca no estado de Alagoas por apresentar importância comercial e nutricional para a população pesqueira. Essa espécie é popularmente conhecida como “maçunim” e tem ampla distribuição no litoral brasileiro (MCLACHLAN, 1996; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021). Vários estudos têm sido desenvolvidos com *T. mactroides*, relacionados à sua morfologia (DENADAI et al., 2006), reprodução (DENADAI et al., 2015), aspectos ecológicos (TURRA et al., 2015; DOS SANTOS & BATALLA, 2017) e socioeconômicos (TURRA et al., 2016).

Os bivalves quando expostos à HPA's podem apresentar estresse oxidativo, por meio do aumento ou diminuição na atividade de enzimas como Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione S- Transferase (GST), Glutathione Reduzida (GSH) e dos níveis de Peroxidação Lipídica (LPO) (AL-HOWITI et al., 2020; ALMEIDA, & BAINY, 2006; DELLALI et al., 2021). Tais biomoléculas participam da defesa celular contra compostos tóxicos e, desta forma, tem sido muito utilizado como biomarcadores em estudos ecotoxicológicos (LÜCHMANN et al., 2011; SANDRINI-NETO et al., 2016; SZCZYBELSKI et al., 2019).

Os HPA's também podem causar neurotoxicidade em bivalves por meio da inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) (VIDAL-LIÑÁN et al., 2014; AL-HOWITI et al., 2020). Caso isso ocorra, pode afetar a abertura e fechamento das valvas, com consequências para a alimentação, crescimento e desenvolvimento dos bivalves, dentre outras funções (FULTON & KEY, 2001; TURJA et al., 2020). Para *T. mactroides*, na literatura existe apenas um estudo que investigou os efeitos da exposição a HPA's em condições de laboratório (SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013). Os bivalves foram expostos a uma mistura de sedimentos com diferentes concentrações de HPA's durante 3, 4 e 6 dias, sendo detectadas alterações em enzimas como para SOD e GST (SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013).

Portanto, a fim de identificar os possíveis efeitos deletérios em organismos aquáticos após a exposição ao óleo cru, proveniente do derramamento de óleo na Costa do Nordeste, neste estudo foi realizado um biomonitoramento passivo com *T. mactroides* coletados em diferentes localidades da APACC e em três períodos do ano, com a avaliação de biomarcadores de desbalanço redox e neurotoxicidade.

4. Material e Métodos

2.1 Local do estudo

Os espécimes de *T. mactroides* foram coletados em três localidades do litoral norte de Alagoas (Fig. 1) que fazem parte da APACC, S1- Paripueira (9°27'50,73"S

35°32'29,748W), S2- Japaratinga (-9° 5' 23,89"S -3514' 23,23W) e S3- São Bento-Maragogi (-9°3'19"S -35°14'23"W). Estes municípios representam um gradiente de volume de óleo cru removido da costa após a acidente em 2019, sendo Maragogi o local mais atingido, seguido de Japaratinga e a seguir Paripueira (IBAMA, 2021). Esta última foi considerada a localidade referência por ter sido menos atingida (IBAMA, 2020).

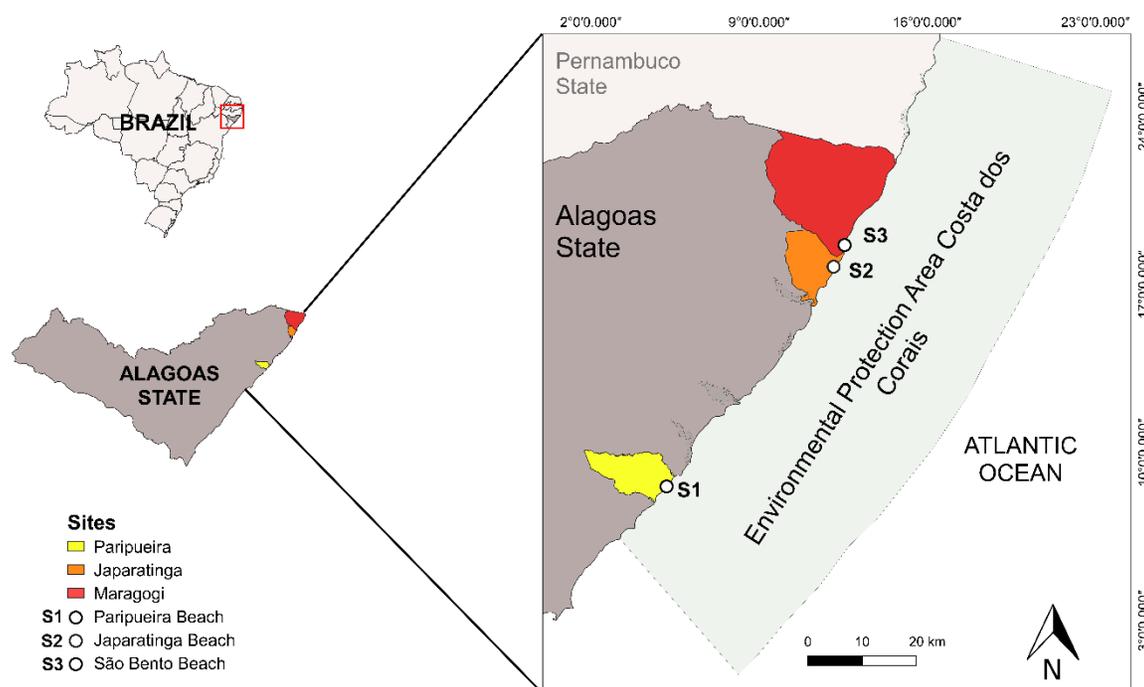


Figura 1: Mapa da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais-Alagoas (APACC) representando as localidades S1- Paripueira (sítio referência), S2- Japaratinga e S3- Maragogi, nas quais as coletas de *T. mactroides* foram realizadas neste estudo.

As coletas iniciaram um ano após o derramamento de óleo cru, no período intermediário (setembro/ 2020), estiagem (dezembro/2020) e chuvoso (abril/2021), de acordo com o volume de precipitação. Foram coletados por busca ativa 30 indivíduos por localidade, totalizando 90 por coleta, com tamanho igual ou superior a 19 mm. Após a coleta, os indivíduos foram transportados em baldes preenchidos com areia e água do

mar até o Laboratório de Morfofisiologia Animal e Aplicada (LMAA), localizado no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) na Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Em laboratório, 10 espécimes foram dissecados rapidamente sob o gelo para coleta das brânquias e glândula digestiva, ao passo que os demais foram destinados à quantificação de HPA's. Para esta última técnica, os espécimes foram agrupados em 3 *pools*, cada um com 10 espécimes, e acondicionados em embalagem de alumínio calcinada, em seguida congelados à -20°C e depois enviado para o Laboratório de Estudos Marinhos e Ambientais (LabMAM) da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RIO), local em que as quantificações foram realizadas.

3.2.2 *Parâmetros ambientais*

Foi realizada a aferição dos parâmetros abióticos da água como temperatura (°C), salinidade, oxigênio dissolvido (%), turbidez e pH com o uso de uma sonda multiparamétrica (YSI- model 650 MDSS). Por questões técnicas não foi possível medir esses parâmetros para a localidade de Paripueira na coleta do período estiagem. A média de precipitação dos últimos 5 anos foi calculada a partir dos dados meteorológicos registrados para as três localidades, pela consulta aos boletins no site da Secretaria do Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos de Alagoas (SEMARH).

3.2.3 *Extração e quantificação dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)*

O trabalho de quantificação dos HPA's foi realizado no LabMAM da PUC-RJ, onde foi realizada a extração acelerada por solvente (ASE200). Para tanto, foram adicionadas na célula de extração a amostra úmida misturada com Sulfato de Sódio, além de sílica desativada a 5% e 20 µL da solução com os padrões deuterados naftaleno-D8, acenafteno-D10, fenantreno-D10, criseno-D12 e perileno-D12, todos com concentração igual a 5 µg.mL⁻¹. Utilizou-se diclorometano: metanol (4:1 v/v) em três ciclos de extração a -80 °C.

A análise instrumental para os HPA's seguiu o protocolo EPA-8270E, utilizando cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. A calibração do

equipamento foi feita com curva de calibração com 12 concentrações (0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 1000 e 2000 ng.mL⁻¹) de solução contendo os HPA's controlados pelo método (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo (a) antraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, indeno (1,2,3-c,d) pireno, dibenzo (a,h)antraceno, benzo (ghi) perileno), e benzo (e) pireno). Em cada solução da curva de calibração havia ainda os padrões internos deuterados (naftaleno-D 8, acenafteno-D 10, fenantreno-D 10, criseno-D 12 e perileno-D 12), cada um em concentração fixa igual a 100 ng mL⁻¹.

3.2.4 Preparo das amostras e homogenatos para as análises bioquímicas

Após a dissecação de cada bivalve, as amostras de brânquias e glândula digestiva foram acondicionadas individualmente em microtubos, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra-freezer (-80°C) até a realização das análises. Em uma próxima etapa, as amostras de brânquias e glândulas digestivas foram pesadas e homogeneizadas individualmente em tampão fosfato de potássio (0,2 mol/L, e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (1 mmol/L, pH 7,4) na proporção 1:1 com auxílio de um homogeneizador (Dlab D -160) em rotação média e posteriormente centrifugadas (10.000g por 20 min à 4°C). O sobrenadante resultante de cada amostra foi aliquoteado, armazenado a -80 °C e utilizado para a avaliação da atividade de enzimas envolvidas na defesa antioxidantes, de biomarcadores de estresse oxidativo e neurotoxicidade descritos abaixo.

3.2.5 Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi realizada pela metodologia de Madesh & Balasubramanian (1998), baseado em sua capacidade de catalisar a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O teste foi realizado em microplaca de 96 poços e em cada poço uma mistura reacional de tampão fosfato de potássio (25 mmol/ L, pH 8), 30µl amostra, 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5 difenilbrometo de tetrazolina](MTT) (1,25 mmol/ L) e ácido pirogálico (100 µmol/ L) foram adicionados. Em seguida, as microplacas foram

incubadas a 37°C por 5 min, e a reação finalizada com a adição de dimetilsulfóxido (DMSO). A absorbância foi mensurada a 570 nm, em leitor de microplaca. A atividade da SOD foi calculada como unidades por miligrama de proteína, com uma unidade (U) de SOD definido como a quantidade que inibiu a taxa da autoxidação de 50% do pirogalol.

3.2.6 *Catalase (CAT)*

A atividade da CAT foi avaliada segundo Hadwan & Abed (2016), que se baseia na reação do H₂O₂ com o Molibdato de amônia, formando um produto de cor amarelada. Em microplaca, foi adicionada 5 µl da amostra em duplicata, o H₂O₂ (20 mmol/ L) e após 3 min foi adicionado molibdato (32,4 mmol/ L). Foi realizado uma reação controle para cada amostra, que continha tampão fosfato de sódio e potássio (50 mmol/ L, pH 7,0) e molibdato. Em seguida, a microplaca foi centrifugada por 2 min a 1000g para reduzir a interferência das bolhas na leitura. A leitura foi realizada em leitor de microplacas a 405 nm e calculada como U por miligrama de proteína. A concentração da enzima foi quantificada por meio de curva padrão utilizando H₂O₂ e tampão de fosfato de sódio e potássio em diluição seriada.

3.2.7 *Glutathione-S-Transferase (GST)*

A atividade da GST foi realizada pelo método descrito por Habid et al. (1974), que se baseia na metabolização do cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) pela GST conjugado à Glutathione, com aumento da absorbância. O teste foi realizado em espectrofotômetro (IL-226-NM), onde o meio reacional continha na seguinte ordem, tampão fosfato (0.1 mol/ L pH 7.0), GSH (100 mmol/ L), amostra e CDNB 0,1 (mol/ L). A reação foi monitorada durante 90 s à 340 nm. O ensaio foi realizado em triplicata e o coeficiente de extinção molar para CDNB $\epsilon_{340} = 9,6 \text{ mmol/ L / cm}$ foi utilizado para os cálculos. Uma unidade de atividade de GST foi definida como a quantidade de enzima que catalisou a formação de um µmol de produto / min / mL. A atividade de GST foi expressa como mmol/ min/g tecido.

3.2.8 *Glutathione Reduzida (GSH)*

A atividade da GSH foi realizada segundo método adaptado por Anderson (1985). A GSH reage com o reagente de Ellman, 5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB), formando um ânion tiolato (TNB) de cor amarelada. O teste foi realizado em espectrofotômetro a 412 nm durante 90 s. Inicialmente foi realizada a adição de ácido tricloroacético 12% (TCA) em microtubos, em seguida, ficaram em repouso por 5 min e levadas para centrífuga a 10,000g por 5 min. O sobrenadante resultante foi utilizado no meio reacional com tampão fosfato de potássio (0,2 mol/ L pH 8.0) e DTNB (2,525 mol/ L). O ensaio foi realizado em duplicata. Para os cálculos foi utilizado o coeficiente de extinção molar do DTNB $\epsilon=14,15 \text{ mol/ L/ cm/}$ e os resultados foram expressos em mmol/ g.

3.8.9 *Quantificação de malondialdeído (MDA)*

A quantificação do malondialdeído (MDA) foi efetuada segundo Buege & Aust (1978), que se baseia na concentração do malondialdeído (MDA), produto secundário da oxidação lipídica. Em um microtubo foi adicionado à solução TBARS (ácido tricloroacético 10% (TCA), ácido tiobarbitúrico 0,375% (TBA) e ácido clorídrico 0,6% (HCl), em seguida foram agitados por 15 segundos e levados para banho maria a 90°C por 40 min. Após o banho maria, as amostras foram levadas para banho de gelo por 5 min e então foi adicionado N-butanol. Cada amostra foi agitada fortemente por 2 min e centrifugadas a 1,000g por 5 min. A leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro na absorvância de 535 nm. A concentração dos TBARS foi determinada utilizando 0,156 mmol/ L/ cm como coeficiente de extinção molar de MDA. Os resultados foram expressos em nmol/ mg proteína e todas as amostras foram analisadas em duplicata.

3.8.10 *Atividade da Acetilcolinesterase (AChE)*

A atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi determinada usando o método de Ellman et al. (1961). O meio reacional continha tampão fosfato de potássio (0,1 mol/ L, pH 8,0), 25 μ l amostra, DTNB (0,01 mol/ L) e Iodeto de acetilcolina (0,075 mol/ L). A leitura foi realizada em espectrofotômetro durante 5 min a 412 nm absorvância. As análises

foram realizadas em triplicata. Foi usado o coeficiente de extinção molar do DTNB $\epsilon=14,15$ mol/ L/ cm/ para os cálculos e os resultados foram expressos em mmol/ min/ g.

3.2.11 *Quantificação das proteínas totais*

A quantificação das proteínas totais seguiu o protocolo de Lowry et al. (1951). Para isso foi utilizada albumina de soro bovino (BSA) (1,6 mmol/ L) para o preparo da curva padrão. A leitura foi realizada a 700 nm com o auxílio do espectrofotômetro, sendo todas análises realizadas em duplicata.

3.2.12 *Índice Integrado de Biomarcadores (IBR)*

O IBR é uma importante ferramenta para a visualização e interpretação dos efeitos biológicos em estudos de campo (DEVIN et al., 2014; FERREIRA et al., 2021). Quando o valor de IBR é elevado indica alto nível de estresse e isso auxilia na compreensão das respostas biológicas do organismo estudado (DEVIN et al., 2014). O IBR fornece uma síntese gráfica dos múltiplos biomarcadores avaliados, sendo gerado um valor numérico que integra todas essas respostas (DEVIN et al., 2014). Os dados de biomarcadores obtidos no estudo foram utilizados para calcular o IBR, seguindo o método desenvolvido por Devin et al. (2014). O valor de IBR calculado entre os biomarcadores (SOD, CAT, GST e MDA) nas brânquias e (AChE, SOD, CAT, GSH, GST e MDA) na glândula digestiva dos maçonins coletados nas três localidades (Paripueira, Japaratinga e Maragogi) foi calculado usando a interface Calibri (<https://liec-univ-lorraine.shinyapps.io/calibri/>), proposta pelo Laboratório de Ambientes Continentais (LIEC) da Universidade de Lorraine. Originalmente era necessário ter um grupo controle. Como no presente estudo é usado um local referência, a fórmula usada pelo Calibri realiza uma correção dos dados em relação ao que é considerado o local referência.

O valor padronizado representa o gradiente de valores para cada biomarcador em cada categoria diferente, com os maiores valores correspondendo aos maiores efeitos biológicos. O valor IBR é calculado como a área total (A) que é exibida pelo gráfico de radar. Para evitar as fortes dependências do arranjo dos biomarcadores ao longo do

gráfico de radar, todos os valores de IBR correspondentes a todas as ordens possíveis de biomarcadores ao longo do gráfico de radar, usando um procedimento de permutação levando a valores possíveis $(k-1)!/2$, onde k é o número de biomarcadores (CALIBRI, 2022), de acordo com a fórmula abaixo.

$$IBR = \sum A_i, \text{ com } A_i = S_i * S_{i+1} * \sin(2\pi/k)/2$$

3.2.13 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e o teste de Bartlett. Os dados paramétricos foram submetidos a uma análise de variância bidirecional (ANOVA- TWO WAY) levando em consideração os fatores localidade e tempo seguido de teste Tukey. Foi feita correlação de Spearman para relacionar os valores de IBR e da quantificação de HPA's. As análises estatísticas e plotagem dos gráficos foram realizadas no software Graphpad prism 8.01 ® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA) e expressos como a média \pm erro padrão da média. O nível de significância foi $P < 0,05$.

3.3 Resultados

3.3.1 Parâmetros ambientais

A temperatura da água entre os períodos avaliados variou entre 26,9- 31,63 °C. Em Paripueira a salinidade da água variou entre 15- 95,73 (g/L), Japaratinga 33,4-94,63 (g/L) e Maragogi entre 28,4-71,22 (g/L) (Tab.1). Já a turbidez da água variou entre os períodos do ano, onde no período intermediário teve uma média de 21,4 NTU, no de estiagem 9,1 NTU e no chuvoso 2,1 NTU (Tab.1). O pH se manteve constante durante os dois primeiros períodos, porém no chuvoso podemos observar seu aumento (Tab.1). Não foi observado alteração entre a quantidade de oxigênio dissolvido na água entre os períodos do ano.

Tabela 1: Parâmetros de qualidade da água da região da praia dos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período de estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021).

Localidade	Período	Temperatura (°C)	Salinidade (g/L)	Oxigênio Dissolvido (%)	Turbidez (NTU)	pH
Paripueira		26,9	15	105	21,4	8,0
Japaratinga	Intermediário	30	33,6	103,2	20,5	8,0
Maragogi		29,5	28,4	98,9	28	8,0
Paripueira		-	-	-	-	-
Japaratinga	Estiagem	31,0	33,4	102,9	8,8	8,0
Maragogi		33	34,1	113,8	9,4	8,0
Paripueira		31,2	95,7	119,4	143,3	10,3
Japaratinga	Chuvoso	31,6	94,6	111,6	14,9	9,7
Maragogi		27,3	71,2	102,5	72,1	8,4

A média de precipitação para a localidade Paripueira no mês de setembro foi de 63,8 mm³, para dezembro de 23,8 mm³ e para abril de 276,8 mm³ (SEMARH, 2021). Uma vez que Japaratinga e Maragogi são municípios muito próximos, dependem dos dados fornecidos pela estação meteorológica de Maragogi, na qual a precipitação média para o mês de setembro de 39,8 mm³, para o mês de dezembro foi 37,6 mm³ e para abril foi de 503,75 mm³ (SEMARH, 2021).

3.3.2 Quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nos tecidos moles do maçunim

A determinação de HPA's foi feita nos tecidos moles de maçunim coletados nas três localidades eleitas para o estudo em três coletas distintas (Tabela 2). As concentrações totais de HPA's (Σ HPA) por amostra de tecido mole coletados variaram de <0,01 ng g⁻¹ (duas amostras de Paripueira no período intermediário) a 94,0 ng g⁻¹ (uma amostra de Japaratinga no período estiagem) no período avaliado. O Benzo (a) pireno,

composto por 5 anéis aromáticos, foi o principal contribuinte para a concentração total dos 16 HPA's, exceto em duas amostras de Paripueira no período intermediário (não foi detectada a presença de nenhum dos 16 HPAs) e em uma amostra de Japaratinga também no intermediário. Do total de HPA's investigados, não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas o Fluoreno, Antraceno e Fluoranteno. O Dibenzo (a) antraceno foi encontrado em apenas uma amostra de Japaratinga no período estiagem.

No período intermediário (um ano após o acidente) apenas quatro tipos de HPAs foram identificados, o Naftaleno, Fenantreno, Pireno e o Benzo (a) pireno, com a localidade de Maragogi (mais atingida pelo óleo) apresentando maior concentração ($31,97 \pm 21,67 \text{ ng g}^{-1}$) do total dos 16 HPAs, seguido de Japaratinga ($12,66 \pm 15,94 \text{ ng g}^{-1}$) e Paripueira ($0,57 \pm 0,98 \text{ ng g}^{-1}$). Nos demais períodos amostrados foram encontrados as maiores concentrações de HPAs. Entre esses HPAs, o Pireno, Benzo (a) antraceno, Criseno, Benzo (b) fluoranteno, Benzo (k) fluoranteno, Benzo (a) pireno e Indeno (1,2,3-cd) pireno estão presentes em 43,75% das amostras analisadas nos períodos estiagem e chuvoso.

Tabela 2: Quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) em amostras de *T. mactroides* em três localidades do Estado de Alagoas- Brasil, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021).

Σ PAH: soma total de 16 HPA's analisados. N: Naftaleno; ACF: Acenafitlene; ACE: Acenaftene; F: Fluoreno; PH: Fenantreno; A: Antraceno; Ft: Fluoranteno; Py: Pireno; BaA: Benzo (a) Antraceno; Ch: Criseno; BbF1: Benzo (b) Fluoranteno; BkF1: Benzo (k) Fluoranteno; BaPy: Benzo (a) Pireno; I-Py: Indeno (1,2,3-cd) pireno; DbahA: Dibenzo(a,h)antraceno; BghiPe: Benzo(ghi)perileno.

Localidade	Período	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) (ng g ⁻¹)																	Média e Desvio padrão	
		N	ACF	ACE	F	Ph	A	Ft	Py	BaA	Ch	BbF1	BkF1	BaPy	I-Py	DBah A	BghiPe r	Σ 16HPA		
Paripueira	Intermediário	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00 ± 0,98
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,71	0	0	0	1,71	
Japaratinga		29,63	0	0	0	0	0	0	0	1,29	0	0	0	0	0	0	0	0	30,92	5,6 ± 15,94
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,48	0	0	0	1,48	
		0	0	0	0	1,03	0	0	0	1,21	0	0	0	0	3,36	0	0	0	5,6	
Maragogi		6,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35,05	0	0	0	41,93	41,93 ± 21,67
		38,77	0	0	0	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	7,78	0	0	0	46,88	
		0	0	0	0	0,69	0	0	0	0	0	0	0	0	6,41	0	0	0	7,1	
Paripueira	Estiagem	0	0	0	0	0	0	0	0,26	0,27	0,38	0	2,83	3,75	1,13	0	0	8,63	10,77 ± 7,50	
		0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,34	1,44	0,75	2,72	3,72	0,68	0	0,62	10,77		
		15,26	0	0,33	0	0	0	0	0,52	0,43	0	0,53	1,38	3,6	0,53	0	0	22,57		
Japaratinga		2	0	0	0	0	0	0	6,98	1,56	2,21	1,33	3,02	4,06	1,06	0	0,88	23,1	58,55 ± 50,13	
		67,74	0,4	6,08	0	0	0	0	0,34	1,29	1,15	0,75	2,76	3,64	0	4,01	5,84	94		
Maragogi		21,05	0	0,29	0	0	0	0	12,43	0,25	2,68	1,06	3,1	4,23	2,21	0	1,55	48,85	31 ± 12,93	
		8,97	0	3,57	0	0	0	0	1,57	0	0,98	0,73	2,76	3,71	1,42	0	0	23,71		
		8	0	0	0	0	0	0	2,33	3,92	0	3,74	1,22	3,32	4,3	2,01	0	2,16		31
Paripueira		Chuvoso	2,3	0	0,28	0	0	0	0	10,88	1,42	4,97	2,19	3,5	4,78	1,72	0	0	32,05	23,80 ± 11,66
	0		0	0	0	0	0	0	4,26	0,62	2,01	0,87	2,9	3,88	0,73	0	0,28	15,56		
	0		0	0	0	0	0	0	0,93	0	1,55	0,75	2,89	3,88	1,72	0	2,32	14,03		
Japaratinga	0		0	0	0	0	0	0	1,18	0	1,72	0,92	2,88	3,85	1,69	0	2,28	14,52	14,27 ± 0,34	
	0		0	0	0	0	0	0	0	0,3	0,6	0	2,69	3,58	0	0	0	7,18		
Maragogi	0		0	0	0	0	0	0	0	0,25	0,6	0	2,72	3,56	0	0	0	7,13	7,18 ± 3,89	
	0		0	0	0	0	0	0	0	0,29	0	0	2,64	4,27	0	0	0	7,2		

As concentrações totais de HPAs (anéis $\Sigma 2-4$) variaram de $<0,01 \text{ ng g}^{-1}$ a $200,6 \text{ ng g}^{-1}$. Enquanto que de 5 e 6 anéis variaram de $4,01 \text{ ng g}^{-1}$ a $114,6 \text{ ng g}^{-1}$. Ao analisar a diferença das médias da soma dos 16 HPAs entre as localidades e períodos do ano, foram encontradas diferenças estatísticas apenas entre Paripueira no período intermediário quando comparado com Japaratinga no período estiagem ($p=0,0450$) (Fig.2).

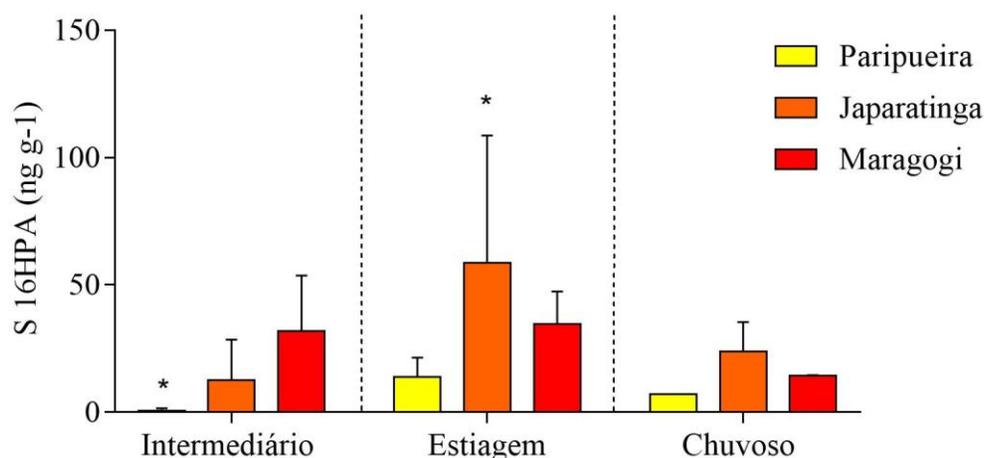


Figura 2: Média e erro da média da soma dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) detectados em amostras de *T. mactroides* de três localidades de Alagoas-Brasil, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). *indica diferença significativa ($p < 0,05$) entre as localidades nos períodos avaliados.

3.3.3 Balanço redox em maçonim

3.3.3.1 Brânquias

Ao comparar a atividade das enzimas não foi observada diferença na atividade de SOD ($p=0,2212$) nas brânquias do maçonim entre as localidades nos períodos observados (Tab. 3). A atividade da CAT nas brânquias no período estiagem foi maior em Japaratinga ($p=0,0230$) quando comparada à Paripueira (Tab. 3). Já a atividade de GST nas brânquias foi menor para as localidades de Japaratinga ($p<0,0001$) e Maragogi ($p<0,0001$) quando

comparadas com Paripueira no período intermediário ($p < 0,0001$) (Tab.3). Nas brânquias dos maçonins não foram encontradas diferenças nos níveis de MDA entre as localidades nos três períodos avaliados ($p = 0,1019$; $F = 2,4$) (Tab. 3).

Tabela 3: Balanço redox em brânquias de bivalves (*T. mactroides*) coletados na Área de Proteção Ambiental Costa Dos Corais (APACC) de Alagoas nos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). Letras minúsculas representam diferença estatística entre as localidades. Dados resultantes da ANOVA-TWO WAY seguido de Teste Tukey ($p < 0,005$).

Períodos	Localidades	SOD	CAT	GST	MDA
Intermediário	Paripueira	0,087 ± 0,006	15,4 ± 0,85 ^a	8,48 ± 1,34 ^a	0,21 ± 0,013
	Japaratinga	0,114 ± 0,008	18,1 ± 0,86 ^b	1,49 ± 0,183 ^b	0,26 ± 0,020
	Maragogi	0,098 ± 0,004	15,1 ± 0,37 ^{ab}	2,40 ± 0,044 ^b	0,20 ± 0,016
Estiagem	Paripueira	0,158 ± 0,006	3,2 ± 0,161	2,04 ± 0,207	0,125 ± 0,01
	Japaratinga	0,188 ± 0,005	10,8 ± 0,99	1,94 ± 0,175	0,134 ± 0,013
	Maragogi	0,129 ± 0,004	9,37 ± 0,77	2,44 ± 0,276	0,15 ± 0,015
Chuvoso	Paripueira	0,237 ± 0,029	22,4 ± 2,33	6,56 ± 1,16	0,371 ± 0,04
	Japaratinga	0,241 ± 0,009	21 ± 1,07	8,53 ± 1,55	0,241 ± 0,02
	Maragogi	0,250 ± 0,031	22,1 ± 2,5	7,01 ± 1,21	0,243 ± 0,04

3.3.3.2 *Glândula digestiva*

A atividade de SOD e CAT para a glândula digestiva não apresentou alteração quando comparadas as localidades ($p=0,1751$) (Tab. 4). A atividade de GST na glândula digestiva dos maçonins de Japaratinga ($p=0,0006$) e Maragogi ($p<0,0001$) foi maior no período intermediário quando comparada à Paripueira (Tab. 4). A atividade da GSH diminuiu em relação às demais localidades no período chuvoso ($p=0,0003$) (Tab. 4). Já os níveis de MDA foram maiores para Maragogi quando comparado à Paripueira ($p<0,0001$) no período estiagem (Tab. 4). Já no período chuvoso o maior nível de MDA é encontrado na glândula digestiva dos maçonins de Paripueira quando comparado à Japaratinga ($p<0,0001$) e Maragogi ($p<0,0001$) (Tab. 4).

3.3.3.3 *Atividade da Acetilcolinesterase (AChE)*

Em relação à atividade da AChE na glândula digestiva, não foram encontradas diferenças na atividade da AChE entre as localidades de nenhum período estudado ($F=2,07$; $p=0,1374$) (Tab. 4).

Tabela 4. Balanço redox em glândula digestiva de bivalves (*T. mactroides*) coletados na Área de Proteção Ambiental Costa Dos Corais (APACC) de Alagoas nos municípios de Paripueira, Japaratinga e Maragogi, durante o final do período intermediário (setembro/2020), período estiagem (dezembro/2020) e período chuvoso (abril/2021). Letras minúsculas representam diferença estatística entre as localidades. Dados resultantes da ANOVA-TWO WAY seguido de Teste Tukey ($p < 0,005$).

Períodos	Localidades	SOD	CAT	GSH	GST	MDA	AChE
Intermediário	Paripueira	0,140 ± 0,002	6,970 ± 0,517	0,230 ± 0,041	6,140 ± 0,409 ^a	0,073 ± 0,004	0,386 ± 0,045
	Japaratinga	0,145 ± 0,004	7,380 ± 0,159	0,215 ± 0,016	16,00 ± 0,820 ^b	0,088 ± 0,004	0,357 ± 0,032
	Maragogi	0,123 ± 0,005	6,590 ± 0,256	0,157 ± 0,021	18,10 ± 0,654 ^b	0,068 ± 0,006	0,286 ± 0,018
Estiagem	Paripueira	0,16 ± 0,014	11,50 ± 1,320	0,206 ± 0,012	16,40 ± 0,426	1,140 ± 0,123 ^a	0,283 ± 0,019
	Japaratinga	0,14 ± 0,018	10,80 ± 1,150	0,216 ± 0,021	14,50 ± 0,289	1,900 ± 0,434 ^a	0,234 ± 0,011
	Maragogi	0,127 ± 0,003	10,20 ± 0,755	0,227 ± 0,024	2,44 ± 0,276	3,230 ± 0,399 ^b	0,290 ± 0,021
Chuvoso	Paripueira	0,191 ± 0,007	12,20 ± 0,384	0,243 ± 0,004 ^a	40,20 ± 1,24	0,925 ± 0,019 ^a	0,134 ± 0,018
	Japaratinga	0,192 ± 0,022	13,60 ± 0,909	0,170 ± 0,029 ^a	37,1 ± 2,71	0,360 ± 0,022 ^b	0,243 ± 0,016
	Maragogi	0,205 ± 0,026	11,40 ± 0,642	0,069 ± 0,007 ^b	33,80 ± 3,77	0,251 ± 0,025 ^b	0,223 ± 0,037

3.3.4 Índice Integrado de Biomarcadores (IBR)

No presente estudo a permutação realizada para o conjunto de biomarcadores, resultou em uma matriz de três valores para brânquias e 60 valores para glândula digestiva. Foi selecionado o gráfico radar padrão para cada órgão a fim de fornecer uma ferramenta gráfica mais eficiente para os biomarcadores avaliados (ANEXO 1 e 2). A figura 3 mostra a média e erro padrão de todos os possíveis valores de IBR calculados para ambos os tecidos que distinguem significativamente entre os locais e períodos do ano.

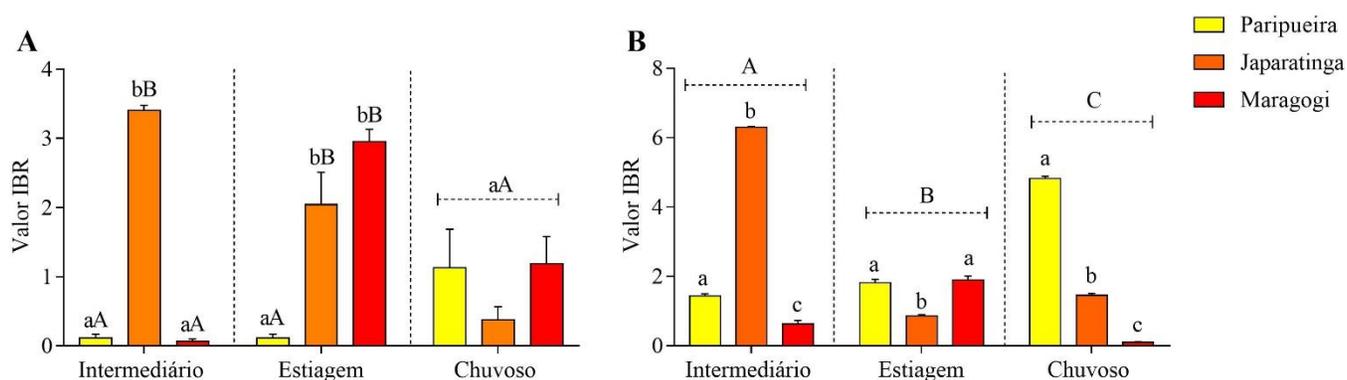


Figura 3. Média e desvio padrão do conjunto de valores de IBR obtidos por permutação para a (A) brânquias e (B) glândula digestiva de *Tivela mactroides* para cada período avaliado (intermediário, estiagem e chuvoso) e locais de coleta (Paripueira, Japaratinga e Maragogi). Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as localidades em um mesmo período avaliado. Já diferentes letras maiúsculas indicam diferença entre as localidades nos períodos avaliados.

Para as brânquias dos bivalves no período intermediário (Fig. 3A), observa-se um valor de IBR ~3,5 para de Japaratinga, para Paripueira de ~0,1 e Maragogi de ~0,06. Já para o período estiagem, os valores de IBR de Japaratinga e Maragogi foram maiores quando comparados à Paripueira. Ao comparar os períodos do ano, em Japaratinga

(intermediário e estiagem) e Maragogi (estiagem) observamos os maiores valores de IBR quando comparado às demais localidades nos períodos do ano.

Na glândula digestiva (Fig. 3B) foi observado um mesmo padrão para Japaratinga no período intermediário, assim como diferença entre todas as localidades nos valores de IBR. Já para o período estiagem, observa-se o menor valor de IBR para Japaratinga quando comparado com as demais localidades. No período chuvoso foi detectado maior valor de IBR para Paripueira (~4,8), nesse mesmo período todos os valores de IBR foram diferentes entre as localidades. Para os períodos do ano, os valores de IBR foram diferentes entre eles.

Ainda, os valores médios de IBR na glândula digestiva (~8) foram quase o dobro do valor encontrado nas brânquias (~4) dos bivalves. Observa-se também que não existe um padrão de variação em relação aos valores de IBR nos diferentes períodos avaliados.

3.4 Discussão

Este é o primeiro estudo ecotoxicológico com biomonitoramento passivo envolvendo a espécie de bivalve *T. mactroides* na Costa do Nordeste e no Brasil. Foram avaliados múltiplos biomarcadores de efeito para investigar possíveis respostas biológicas após o derramamento de óleo cru que acometeu a Costa Nordeste do Brasil em 2019 e após alguns episódios de chegada de resquícios deste óleo meses após o episódio inicial. Para isso foram escolhidas três localidades em praias do Estado de Alagoas que fazem parte da APACC, a partir da quantidade de óleo que chegou a cada uma destas localidades.

Considerando os parâmetros ambientais avaliados no estudo, o baixo valor da salinidade no período intermediário da localidade de Paripueira pode ter sido uma consequência da localização avaliada, uma vez que esta se encontra em uma região de deságue de dois rios. O encontro entre as águas doce e salgada, reduz o nível de salinidade da região, justificando o valor encontrado (MELO-MAGALHÃES et al., 2011). Além disso, essa localidade apresentou maior média no índice pluviométrico no período

chuvoso. Já os menores valores na turbidez da água no período de estiagem, ocorre principalmente devido ao menor índice pluviométrico e velocidade do vento entre os períodos (CARVALHO; SCHLITTLER; TORNISIELO, 2000).

No presente estudo a primeira coleta (período intermediário) foi realizada após um ano do incidente. Nesse período foram detectados 4 tipos de HPA's nos tecidos moles de *T. mactroides*, sendo eles, o naftaleno, fenantreno, pireno e o benzo (a) pireno. Estes dados corroboram os achados do primeiro estudo publicado após o derramamento, o qual evidenciou níveis consideráveis de 5 tipos de HPA's na água do mar, peixes e bivalves amostrados em áreas atingidas pelo óleo cru: naftaleno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno e acenaftaleno (SOARES et al., 2021). Curiosamente, tanto neste estudo (período intermediário) como no de Soares et al., (2021), o naftaleno foi o principal contribuinte para a concentração total dos 16 HPA's analisados, sendo detectado cerca de 8,28 ng g⁻¹ no bivalve *Anomalocardia brasiliiana*.

O naftaleno é um composto químico que pode ser encontrado naturalmente em combustíveis fósseis, como, carvão e petróleo ou pela combustão de biomassa (ATSDR, 2005), sendo considerado o HPA's mais comumente encontrado no ambiente aquático (KOZLOVA et al., 2004; OHNISHI et al., 2018). Estudos têm associado a exposição subaguda ao naftaleno à desregulação da resposta imune humoral em ostras (*Crassostea corteziensis*) (DIAZ RESENDIZ et al., 2014) e a alterações nos biomarcadores fosfatase ácida (ACP) e a fosfatase alcalina (ALP), alanina transaminase (ALT) e aspartato transaminase atividade (AST) da hemolinfa do mexilhão *Perna viridis* expostos ao naftaleno por 28 dias (GOPI et al., 2022).

Entretanto, foram nos períodos de estiagem e chuvoso onde se detectou as maiores concentrações de HPA's, como, o pireno, benzo (a) antraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno e ideno (1,2,3-cd) pireno, sendo o benzo (a) pireno o principal contribuinte para a concentração total dos 16 HPA's investigados. No estudo de Soares et al., (2021) os principais contribuintes para a concentração total de HPAs foram naftaleno, fluoreno e fenantreno. Apesar da diversidade

de HPA's detectados em *T. mactroides* neste estudo, as concentrações encontradas foram baixas e não foi observado correlação destes níveis de HPA's com os elevados valores de IBR para Japaratinga e Maragogi.

No estudo feito por Cao et al. (2010) é relatado que a contaminação por HPA's na água pode ser classificada em quatro graus: micropoluída (10 a 50 ng L⁻¹), levemente poluída (50 a 250 ng L⁻¹), moderadamente poluída (250 a 1000 ng L⁻¹) e altamente poluído (> 1000 ng L⁻¹). Como no Brasil não existe uma legislação que estabeleça os níveis de HPA's em mariscos e moluscos, as concentrações detectadas neste estudo indicaram que os animais avaliados foram amostrados de locais com pouca contaminação por HPA's, considerando que os bivalves são organismos com grande capacidade de filtração da água e podem bioacumular os HPA's em seus tecidos.

A relação entre a poluição ambiental e o desbalanço redox tem sido investigada em estudos utilizando organismos aquáticos de diferentes ecossistemas (LUNA-ACOSTA et al., 2011; VIDAL-LIÑÁN et al., 2014; DELLALI et al., 2021). No presente estudo, também foi avaliado múltiplos biomarcadores do balanço redox em *T. mactroides*.

O aumento de espécies reativas (ERs) nas células é uma das principais ameaças à integridade celular, onde o desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidante e ERs pode causar danos, como o estresse oxidativo (REGOLI & GIULIANI, 2014; TURJA et al., 2020). A SOD é a primeira linha de defesa antioxidante (reações de fase I), sendo responsável pela dismutação do radical superóxido (O²⁻) em H₂O₂ e Oxigênio (O₂). O H₂O₂ resultante é transformado em água e O₂ pela CAT (AEBI, 1974; TURJA et al., 2020). Por ser o primeiro órgão exposto aos poluentes (ROCHA et al., 2015; PIAZZA et al., 2016), as brânquias nos bivalves geralmente possuem uma atividade de SOD maior do que na glândula digestiva (LUNA-ACOSTA et al., 2011).

Entretanto, no presente estudo não foram encontradas alterações na atividade da SOD em nenhum dos órgãos estudados. Já para a CAT foi constatado o aumento da atividade nas brânquias dos bivalves de Japaratinga no período estiagem quando comparado às demais localidades. Em um estudo feito com a ostra *Crassostrea brasiliana*,

não foram detectadas alterações na atividade de CAT do corpo mole dos organismos ao serem expostos à HPA's por 96 h em laboratório (LÜCHMANN et al., 2011).

Em mexilhões foi observado um aumento da atividade de SOD e CAT em brânquias e glândula digestiva após serem expostas a diferentes concentrações de HPA's (GIULIANI et al., 2013; TURJA et al., 2020). O mesmo foi encontrado após exposição a metais potencialmente tóxicos em diferentes estações do ano no Estreito de Istambul (ALBAYRAK et al., 2019). Desta forma, é evidente a atividade de SOD e CAT neste estudo, com a finalidade de evitar o desbalanço redox nas brânquias e glândula digestiva de *T. mactroides*.

A GST é uma das vias de biotransformação II mais eficientes quando se trata de produtos químicos tóxicos em invertebrados (REWITZ et al., 2006; DASARI et al., 2018; LIGUORI et al., 2018). Ela está envolvida na biotransformação de moléculas, onde adiciona um grupo glutationa ao xenobiótico ou a seus metabólitos, a fim de o tornarem mais solúveis em água e facilitar sua excreção (GOWLAND et al., 2002). Ainda é amplamente utilizada como um biomarcador de exposição à HPAs (VAN DER OOST et al., 2003; BREITWIESER et al., 2018). Neste estudo, foi detectada menor atividade de GST nas brânquias de maçonim das localidades de Japaratinga e Maragogi no período intermediário, enquanto que na glândula digestiva foi observado o contrário no período intermediário, enquanto que é observada a maior atividade da enzima nos bivalves de Paripueira.

Tanto a indução (VIDAL-LIÑÁN et al., 2014) quanto a inibição (VAN DER OOST et al., 2003) da atividade de GST está relacionada à exposição de organismos aquáticos a poluentes. O aumento da atividade da GST nas brânquias para Paripueira no período intermediário pode estar associado ao fato de que as brânquias é o primeiro órgão de contato do animal com o meio externo e indica uma resposta mais rápida (ROCHA et al., 2015). Pode ser especulado que no período avaliado neste estudo tenha ocorrido uma maior presença de poluentes na água e no sedimento, assim como observado no estudo de Luna-Acosta et al., (2011).

A maior atividade de GST encontrada na glândula digestiva nos espécimes de *T. mactroides* se assemelha aos achados de LÜCHMANN et al. (2011), o qual também avaliou esta enzima na glândula digestiva de ostras *Crassostrea brasiliana* expostas às diferentes concentrações de óleo diesel durante 96 horas (LÜCHMANN et al., 2011). Tais resultados podem ser justificados uma vez que na glândula digestiva em que são armazenados e desintoxicados os xenobióticos (FAGGIO; TSARPALI; DAILIANIS, 2018). A indução da atividade dessa enzima em bivalves já foi correlacionada em outros estudos com HPA's compostos por 5 e 6 anéis, incluindo, o benzo (a) pireno (VIDAL-LIÑÁN et al., 2019; DELLALI et al., 2021). Apesar do benzo (a) pireno ter sido o HPA's que mais contribuiu para a soma dos 16 HPA's no presente estudo, não foi detectada correlação positiva entre a maior atividade de GST e esse poluente.

A GSH participa na prevenção da peroxidação lipídica causadas por espécies reativas derivadas de oxigênio (BROWNE & ARMSTRONG, 1998; BUKOWSKA, 2003). Ela pode participar de algumas vias de eliminação de xenobióticos, atuando após a conversão de H_2O_2 em água pela glutathione peroxidase (GSHP_x), isso resulta em uma segunda alteração, onde o GSH é oxidado a dissulfeto de glutathione oxidada (GSSG) ou pela via da enzima GST que catalisa a conjugação de glutathione à xenobióticos (BROWNE & ARMSTRONG, 1998; TOWNSEND & TEW, 2003; JAROSIEWICZ et al., 2019).

Neste estudo, foi detectada a diminuição da atividade de GSH na glândula digestiva dos maçonins coletados em Maragogi no período chuvoso. Provavelmente esse fato se deve ao seu consumo no processo de eliminação dos radicais livres. Um resultado semelhante ao do presente estudo foi encontrado por Drif et al., (2019), que investigaram poluição do ambiente marinho no Golfo de Annaba (Argélia), utilizando o molusco bivalve *Donax trunculus* e *Mytilus galloprovincialis* por meio da resposta de biomarcadores como MDA e GSH.

O MDA é um marcador de peroxidação lipídica (LPO) muito utilizado em estudos ecotoxicológicos envolvendo diversos organismos, como peixes (ABDULGANI et al., 2020; EL HAJAM et al., 2020) e invertebrados, incluindo microcrustáceos (LIU; DING; NIE,

2019) e bivalves (SIFI & SOLTANI, 2019; AL-HOWITI et al., 2020; LI et al., 2021). A LPO é um mecanismo de lesão celular e constitui um biomarcador de danos oxidativos nas diferentes membranas celulares (SANDRINI-NETO et al., 2016; LI et al., 2020). Neste estudo os maiores níveis de peroxidação lipídica (LPO) foram encontrados na glândula digestiva dos maçonins da localidade de Maragogi no período estiagem. Já no período chuvoso os maiores níveis foram encontrados na glândula digestiva dos bivalves de Paripueira. Em um estudo realizado por Al- Howiti et al., (2020), em que se empregou o bivalve gigante *Tridacna maxima* para avaliar os efeitos da contaminação ao longo da costa do Mar Vermelho - Arábia Saudita - foi encontrado um aumento no conteúdo de MDA com o aumento da concentração dos poluentes na glândula digestiva (AL-HOWITI et al., 2020).

A atividade da AChE nos bivalves pode ser afetada por poluentes urbanos e industriais (TSANGARIS et al., 2010; SINGH; TIWARI; PANDEY, 2019), a exemplo da inibição causada pela exposição a pesticidas e por HPA's organofosforados e carbamatos (FULTON & KEY, 2001) e outros tipos de HPA's (FROMENT et al., 2016; DELLALI et al., 2021). Todavia, neste estudo, dentre amostras avaliadas, não foram encontradas diferenças na atividade da AChE na glândula digestiva dos maçonins coletadas na APACC.

Não foi encontrada correlação positiva ou negativa entre os biomarcadores avaliados e as concentrações de HPA's detectados no corpo mole dos maçonins da APACC. Entretanto, por meio da análise entre os períodos avaliados, foi observado a redução do valor de IBR nas brânquias ao longo dos períodos para a localidade Japaratinga, enquanto que em Paripueira o índice se manteve constante no período intermediário e estiagem, com aumento no chuvoso. Já em Maragogi tem-se a alternância nas médias dos índices, com o pico no período de estiagem, ocasionado pelo aumento do MDA. Já para a glândula digestiva é observado o aumento do valor de IBR em Paripueira, com o pico no período chuvoso, além disso, é nesse órgão onde foram encontrados os maiores valores de IBR.

O maior dano oxidativo nas glândulas digestivas nos bivalves coletados em Maragogi pode indicar uma provável bioacumulação (LI et al., 2020). Outros estudos realizados em laboratório com bivalves encontraram uma correlação positiva entre as concentrações de HPA's e os danos oxidativos na glândula digestiva (CHEUNG et al., 2001; LI et al., 2020).

O aumento da atividade para SOD, CAT e GST, e os baixos níveis de MDA encontrados para Paripueira e Japaratinga nos períodos intermediário e de estiagem são sugestivos de que os espécimes de *T. mactroides* tiveram contato com poluentes, porém apresentaram resposta antioxidante eficiente para a manutenção de sua homeostase redox (SARDI; RAMOS; GARCÍA, 2013; ZAPATA-VÍVENES; ROJAS-DE ASTUDILLO; RODRÍGUEZ, 2020). Adicionalmente, é clara a existência de uma resposta específica de cada órgão, tal qual corrobora os resultados de estudos prévios desenvolvidos em bivalves (ROCHA et al., 2015; LI et al., 2020; DELLALI et al., 2021). Em conjuntos, estes dados ressaltam a importância da análise das respostas biológicas específicas de cada órgão neste grupo de organismos marinhos, mesmo quando se trata de uma espécie que apresenta pequenas proporções corporais, como é o caso de *T. mactroides*.

Os resultados do presente estudo sugerem que *T. mactroides* apresenta respostas antioxidantes que foram suficientes para evitar o desbalanço redox e torná-lo mais resiliente aos estressores ambientais. O mesmo tipo de resposta biológica foi encontrado em *T. mactroides* da Venezuela expostos a metais potencialmente tóxicos em estudo de campo (ZAPATA-VÍVENES; ROJAS-DE ASTUDILLO; RODRÍGUEZ, 2020). Tais autores não detectaram diferença sazonal no conjunto de biomarcadores avaliados. Por outro lado, no período chuvoso foram encontrados níveis elevados de Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb) na região nordeste da Venezuela (ZAPATA-VÍVENES; ROJAS-DE ASTUDILLO; RODRÍGUEZ, 2020).

Eventos como o derramamento de óleo cru causam impactos que vão desde a esfera social à ambiental, principalmente quando se trata dos efeitos tóxicos que esses poluentes podem causar no meio ambiente e na vida marinha a longo prazo (SOARES et

al., 2020; DE OLIVEIRA ESTEVO et al., 2021). Estudos envolvendo a ecotoxicologia de ambientes marinhos são recentes para a Costa de Alagoas. Tais dados reforçam a importância de incorporar um monitoramento ecotoxicológico na APACC de longa duração, pois é uma questão crucial determinar se essas áreas permanecem com resquícios da contaminação, bem como se as políticas de conservação e zoneamento instauradas estão sendo eficazes para reduzir os impactos antrópicos.

Ainda, também chamamos atenção para a necessidade de estabelecimento dos níveis basais dos diferentes biomarcadores do balanço redox e neurotoxicidade em *T. mactroides*, para uma melhor interpretação das respostas biológicas encontradas neste e em outros estudos.

3.5 Conclusão

No presente estudo foi realizado um biomonitoramento com a espécie de bivalve *T. mactroides* coletados em três localidades que fazem parte da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais (APACC) para avaliar os possíveis efeitos deletérios após o derramamento de óleo que acometeu a costa do Nordeste brasileiro em 2019.

As análises químicas realizadas detectaram 13 tipos de HPA's dentre os 16 investigados e as localidades com maior concentração foram Japaratinga e Maragogi, em paralelo aos maiores valores de IBR. Porém, nenhuma correlação foi observada entre estes dois fatores.

De forma geral, foi observado que os bivalves amostrados em Maragogi, área mais atingida pelo óleo, no período seco apresentaram alterações na atividade das enzimas antioxidantes e aumento nos níveis de peroxidação lipídica. Entretanto, na glândula digestiva dos maçunins de Paripueira também foi detectado aumento do MDA. Tais dados denotam a necessidade de estudos que englobem uma maior diversidade de poluentes, que também podem ter interferido nas respostas biológicas encontradas.

Reforçamos ainda a importância de integrar a ecotoxicologia em estudos de biomonitoramento na APACC, a fim de acompanhar as flutuações de poluentes presentes

e o que eles podem ocasionar na biota da maior área de proteção ambiental marinha do Brasil.

REFERÊNCIAS

Abdulgani, N., Darmanto, W., Winarni, D., Hidayati, D., & Muttaqin, Z. (2020). MDA and GSH levels in the blood plasma of stz-induced diabetic rats after snakehead fish (*Channa striata*) extract treatment. *Annals of Biology*, 36(2), 203-208.

Albayrak, S., Albayrak, G., Celikkol, M. T., Gazdağlı, A., Yörük, E., & Çağlar, S. (2019). The effects of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds on antioxidant enzyme activities in *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 from Istanbul Strait. *Marine Pollution Bulletin*, 149, 110662.

Al-Howiti, N. S., Othmen, Z. O. B., Othmane, A. B., & Chaffai, A. H. (2020). Use of *Tridacna maxima*, a bivalve in the biomonitoring of the Saudi Arabian Red Sea coast. *Marine pollution bulletin*, 150, 110766.

Almeida, E. A. D., & Bairy, A. C. D. (2006). Effects of aerial exposure on antioxidant defenses in the brown mussel *Perna perna*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(2), 225-229.

Anderson, M. E. (1985). Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in enzymology*, 113, 548-555.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2005. Toxicological profile for naphthalene, 1-methylnaphthalene, and 2-methylnaphthalene. (NTIS/02937293). <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults.xhtml?searchQuery=PB2006100004> [accessed 07 Jul 2022].

Baršienė, J., Rybakovas, A., Garnaga, G., & Andreikėnaitė, L. (2012). Environmental genotoxicity and cytotoxicity studies in mussels before and after an oil spill at the marine oil terminal in the Baltic Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 184(4), 2067-2078.

Beutler, E. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J. lab. clin. Med.*, 61, 882-888.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic press.

Buss, D. F., Baptista, D. F., & Nessimian, J. L. (2003). Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cadernos de Saúde Pública*, 19, 465-473.

Brasil, M. DO. Marinha do Brasil: Protegendo nossas riquezas, cuidando da nossa gente. 2020.

Breitwieser, M., Thomas-Guyon, H., Huet, V., Sagerup, K., & Geraudie, P. (2018). Spatial and temporal impacts of the Skjervøy harbour diesel spill on native population of blue mussels: A sub-Arctic case study. *Ecotoxicology and environmental safety*, 153, 168-174.

Browne, R. W., & Armstrong, D. (1998). Reduced glutathione and glutathione disulfide. In *Free radical and antioxidant protocols* (pp. 347-352). Humana Press.

Brum, H. D., Campos-Silva, J. V., & Oliveira, E. G. (2020). Brazil oil spill response: Government inaction. *Science*, 367(6474), 155-156.

Bukowska, B. (2003). Effects of 2, 4-D and its metabolite 2, 4-dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(4), 435-441.

Cao, Z., Liu, J., Luan, Y., Li, Y., Ma, M., Xu, J., & Han, S. (2010). Distribution and ecosystem risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Luan River, China. *Ecotoxicology*, 19(5), 827-837.

Carvalho, A. R., Schlittler, F. H. M., & Tornisielo, V. L. (2000). Relações da atividade agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. *Química Nova*, 23(5), 618-622.

Cheung, C. C. C., Zheng, G. J., Li, A. M. Y., Richardson, B. J., & Lam, P. K. S. (2001). Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic toxicology*, 52(3-4), 189-203.

Corn, M. L. (2010). Deepwater Horizon oil spill: coastal wetland and wildlife impacts and response. DIANE Publishing.

Danish, E. Y. (2010). Ecological impact from chemicals in the Arabian Gulf due to Gulf oil spill. *Water and Environment Journal*, 24(1), 65-73.

Dasari, S., Ganjari, M. S., Yellanurkonda, P., Basha, S., & Meriga, B. (2018). Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. *Chemico-biological interactions*, 294, 81-90.

Dellali, M., Hedfi, A., Ali, M. B., Noureideen, A., Darwish, H., Beyrem, H., ... & Boufahja, F. (2021). Multi-biomarker approach in *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus* as a predictor of pelago-benthic responses after exposure to Benzo [a] Pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 249, 109141.

Denadai, M. R., Arruda, E. P., Domaneschi, O., & Amaral, A. C. Z. (2006). Veneridae (Mollusca, Bivalvia) from the north coast of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica*, 6(3), 0-0.

Denadai, M. R., Le Sueur-Maluf, L., Marques, C. G., Amaral, A. C., Adamo, I., Yokoyama, L. Q., & Turra, A. (2015). Reproductive cycle of the trigonal clam *Tivela mactroides* (Bivalvia, Veneridae) in Caraguatatuba Bay, southeastern Brazil. *Marine Biology Research*, 11(8), 847-858.

de Oliveira Estevo, M., Lopes, P. F., de Oliveira Júnior, J. G. C., Junqueira, A. B., de Oliveira Santos, A. P., da Silva Lima, J. A., ... & Campos-Silva, J. V. (2021). Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities. *Marine Pollution Bulletin*, 164, 111984.

de Oliveira Soares, M., da Cruz Lotufo, T. M., Vieira, L. M., Salani, S., Hadju, E., Matthews-Cascon, H., ... & de Kikuchi, P. (2016). Brazilian marine animal forests: a new world to discover in the southwestern Atlantic. *Marine Animal Forests*. Springer International Publishing, Cham.

Devin, S., Burgeot, T., Giambérini, L., Minguez, L., & Pain-Devin, S. (2014). The integrated biomarker response revisited: optimization to avoid misuse. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(4), 2448-2454.

Diaz Resendiz, K. J. G., Romero Bañuelos, C. A., Marenco, R., DE Lourdes, M. A. R. I. A., Rojas Garcia, A. E., Barron Vivanco, B. S., ... & Giron Perez, M. I. (2014). Deregulation of the humoral immune response of the oyster (*Crassostrea corteziensis*) exposed to naphthalene.

Dieterich, S., Bieligk, U., Beulich, K., Hasenfuss, G., & Prestle, J. (2000). Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. *Circulation*, 101(1), 33-39.

dos Santos, A. M., & Batalla, J. F. (2017). Levantamento conquiológico e análise de predação por gastrópodes e bivalves na Praia de Guaecá, São Sebastião-SP. *Unisanta BioScience*, 6(4), 295-315.

Drif, F., Abdenmour, C., Ciğerci, İ. H., Muddassir Ali, M., Mansouri, O., & Messarah, M. (2019). Preliminary assessment of stress and genotoxicity biomarkers in bivalve molluscs from the Gulf of Annaba, Algeria. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 102(4), 555-559.

El Hajam, M., Plavan, G. I., Kandri, N. I., Dumitru, G., Nicoara, M. N., Zerouale, A., & Faggio, C. (2020). Evaluation of softwood and hardwood sawmill wastes impact on the

common carp "*Cyprinus carpio*" and its aquatic environment: An oxidative stress study. *Environmental toxicology and pharmacology*, 75, 103327.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

Euzebio, C., Rangel, G., & Marques, R. (2019). OIL SPILLS AND ITS ENVIRONMENTAL AND HUMAN HEALTH IMPACTS. *Brazilian Journal of Environmental Sciences (Online)*, (52), 79-98. <https://doi.org/10.5327/Z2176-947820190472>

Faggio, C., Tsarpali, V., & Dailianis, S. (2018). Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: an overview. *Science of the Total Environment*, 636, 220-229.

Ferreira, C. P., Piazza, T. B., Souza, P., Lima, D., Mattos, J. J., Saldaña-Serrano, M., ... & Lückmann, K. H. (2021). Integrated biomarker responses in oysters *Crassostrea gasar* as an approach for assessing aquatic pollution of a Brazilian estuary. *Marine Environmental Research*, 165, 105252.

Froment, J., Langford, K., Tollefsen, K. E., Bråte, I. L. N., Brooks, S. J., & Thomas, K. V. (2016). Identification of petrogenic produced water components as acetylcholine esterase inhibitors. *Environmental Pollution*, 215, 18-26.

Fulton, M. H., & Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 20(1), 37-45.

Giuliani, M. E., Benedetti, M., Arukwe, A., & Regoli, F. (2013). Transcriptional and catalytic responses of antioxidant and biotransformation pathways in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to chemical mixtures. *Aquatic toxicology*, 134, 120-127.

Gopi, J., Nathiya, K. R., Devi, A. S., & Krishnamurthy, R. (2022). Impact of naphthalene exposure on marker enzymes of green mussel *Perna viridis*. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 11-18.

Gowland, B. T. G., McIntosh, A. D., Davies, I. M., Moffat, C. F., & Webster, L. (2002). Implications from a field study regarding the relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons and glutathione S-transferase activity in mussels. *Marine Environmental Research*, 54(3-5), 231-235.

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.

Hadwan, MH, & Abed, HN (2016). Dados que suportam o método espectrofotométrico para a estimativa da atividade da catalase. *Dados resumidos*, 6, 194-199.

Honda, M., & Suzuki, N. (2020). Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1363.

Hong, S., Yoon, S. J., Kim, T., Ryu, J., Kang, S. G., & Khim, J. S. (2020). Response to oiled wildlife in the management and evaluation of marine oil spills in South Korea: A review. *Regional Studies in Marine Science*, 101542.

Huang, Y. J., Jiang, Z. B., Zeng, J. N., Chen, Q. Z., Zhao, Y. Q., Liao, Y. B., ... & Xu, X. Q. (2011). The chronic effects of oil pollution on marine phytoplankton in a subtropical bay, China. *Environmental monitoring and assessment*, 176(1), 517-530.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis [IBAMA], 2020. Manchas de óleo no litoral do Nordeste. Retrieved from. <http://www.ibama.gov.br/manchasdeoleo>.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)- Plano de Manejo da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais. Brasil (2021).

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)- Diagnóstico da Pesca Artesanal na APACC – 2019 Brasil (2019).

Jarosiewicz, M., Krokosz, A., Marczak, A., & Bukowska, B. (2019). Changes in the activities of antioxidant enzymes and reduced glutathione level in human erythrocytes exposed to selected brominated flame retardants. *Chemosphere*, 227, 93-99.

Juanes, J. A., Puente, A., Revilla, J. A., Álvarez, C., García, A., Medina, R., ... & García-Castrillo, G. (2007). The Prestige oil spill in Cantabria (Bay of Biscay). Part II. Environmental assessment and monitoring of coastal ecosystems. *Journal of Coastal Research*, 23(4), 978-992.

Khan, B., Ho, K. T., & Burgess, R. M. (2020). Application of biomarker tools using bivalve models toward the development of adverse outcome pathways for contaminants of emerging concern. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(8), 1472-1484.

Kozlova, E. V., Puntus, I. F., Slepkin, A. V., & Boronin, A. M. (2004). Naphthalene degradation by *Pseudomonas putida* strains in soil model systems with arsenite. *Process Biochemistry*, 39(10), 1305-1308.

- Li, D., Liu, T., Pan, L., Hu, F., & Jin, Q. (2020). Bioaccumulation and oxidative damage of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 197, 110558.
- Li, B., Song, W., Cheng, Y., Zhang, K., Tian, H., Du, Z., ... & Zhu, L. (2021). Ecotoxicological effects of different size ranges of industrial-grade polyethylene and polypropylene microplastics on earthworms *Eisenia fetida*. *Science of The Total Environment*, 783, 147007.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.
- Liu, S., Ding, R., & Nie, X. (2019). Assessment of oxidative stress of paracetamol to *Daphnia magna* via determination of Nrf1 and genes related to antioxidant system. *Aquatic toxicology*, 211, 73-80.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, 265-275.
- Lüchmann, K. H., Mattos, J. J., Siebert, M. N., Granucci, N., Dorrington, T. S., Bicego, M. C., ... & Bainy, A. C. (2011). Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction. *Aquatic toxicology*, 105(3-4), 652-660.
- Luna-Acosta, A., Kanan, R., Le Floch, S., Huet, V., Pineau, P., Bustamante, P., & Thomas-Guyon, H. (2011). Enhanced immunological and detoxification responses in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, exposed to chemically dispersed oil. *water research*, 45(14), 4103-4118.
- Magalhães, D. P., & Ferrão Filho, A. S. (2008). A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, v.12, n.3, p.355-381.
- McLachlan, A. (1996). Physical factors in benthic ecology: effects of changing sand particle size on beach fauna. *Marine Ecology Progress Series*, 131, 205-217.
- Melo-Magalhães, E. M., Moura, A. N., Medeiros, P. R. P., Lima, E. L. R., & Koenig, M. L. (2011). Phytoplankton of the São Francisco river estuarine region (Northeastern Brazil): a study of its diversity. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 15(1), 95-105.
- Moorthy, B., Chu, C., & Carlin, D. J. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons: from metabolism to lung cancer. *Toxicological Sciences*, 145(1), 5-15.

Ohnishi, S., Hiraku, Y., Hasegawa, K., Hirakawa, K., Oikawa, S., Murata, M., & Kawanishi, S. (2018). Mechanism of oxidative DNA damage induced by metabolites of carcinogenic naphthalene. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 827, 42-49.

Piazza, R. S., Trevisan, R., Flores-Nunes, F., Toledo-Silva, G., Wendt, N., Mattos, J. J., ... & Bairy, A. C. (2016). Exposure to phenanthrene and depuration: changes on gene transcription, enzymatic activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. *Aquatic Toxicology*, 177, 146-155.

Regoli, F., & Giuliani, M. E. (2014). Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine environmental research*, 93, 106-117.

Rewitz, K. F., Styrrishave, B., Løbner-Olesen, A., & Andersen, O. (2006). Marine invertebrate cytochrome P450: emerging insights from vertebrate and insect analogies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(4), 363-381.

Rocha, T. L., Gomes, T., Sousa, V. S., Mestre, N. C., & Bebianno, M. J. (2015). Ecotoxicological impact of engineered nanomaterials in bivalve molluscs: An overview. *Marine Environmental Research*, 111, 74-88.

Rust, A. J., Burgess, R. M., Brownawell, B. J., & McElroy, A. E. (2004). Relationship between metabolism and bioaccumulation of benzo [α] pyrene in benthic invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 23(11), 2587-2593.

Sandrini-Neto, L., Pereira, L., Martins, C. C., de Assis, H. C. S., Camus, L., & Lana, P. C. (2016). Antioxidant responses in estuarine invertebrates exposed to repeated oil spills: effects of frequency and dosage in a field manipulative experiment. *Aquatic Toxicology*, 177, 237-249.

Sardi, A. E., Ramos, R., & García, E. M. (2013). Hydrocarbon biomarkers responses in the bivalve, *Tivela mactroides*, exposed to polluted sediments. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 90(1), 1-8.

Soares, M. D. O., Teixeira, C. E. P., Bezerra, L. E. A., Rossi, S., Tavares, T., & Cavalcante, R. M. (2020). Brazil oil spill response: Time for coordination. *Science*, 367(6474), 155-155.

Soares, E. C., Bispo, M. D., Vasconcelos, V. C., Soletti, J. I., Carvalho, S. H. V., de Oliveira, M. J., ... & Santos, J. C. C. (2021). Oil impact on the environment and aquatic organisms on the coasts of the states of Alagoas and Sergipe, Brazil-A preliminary evaluation. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112723.

Sifi, K., & Soltani, N. (2019). Seasonal changes of two biomarkers of oxidative stress (LDH, MDA) in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca: Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria): correlation with carbohydrate and lipid contents. *Molluscan Research*, 39(1), 44-52.

Silva, C. A., Ribeiro, C. O., Katsumiti, A., Araújo, M. L. P., Zandoná, E. M., Silva, G. C., ... & de Assis, H. S. (2009). Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 400-409.

Singh, U., Tiwari, R. K., & Pandey, R. S. (2019). Physicochemical characteristics of fertilizer industry effluent and its toxicological impact on the activity of acetylcholinesterase (AChE) in freshwater teleosts *Heteropneustes fossilis* and *Labeo rohita*. *Croatian Journal of Fisheries*, 77(2), 77-86.

Sureda A, Box A, Tejada S, Blanco A, Caixach J, Deudero S (2011) Biochemical responses of *Mytilus galloprovincialis* as biomarkers of acute environmental pollution caused by the Don Pedro oil spill (Eivissa Island, Spain). *Aquat Toxicol* 101(3–4):540–549. doi:10.1016/j.aquatox.2010.12.011.

Szczybelski, A. S., van den Heuvel-Greve, M. J., Koelmans, A. A., & van den Brink, N. W. (2019). Biomarker responses and biotransformation capacity in Arctic and temperate benthic species exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of the Total Environment*, 662, 631-638.

Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2003). The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22(47), 7369-7375.

Tsangaris, C., Kormas, K., Strogyloudi, E., Hatzianestis, I., Neofitou, C., Andral, B., & Galgani, F. (2010). Multiple biomarkers of pollution effects in caged mussels on the Greek coastline. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 151(3), 369-378.

Turja, R., Sanni, S., Stankevičiūtė, M., Butrimavičienė, L., Devier, M. H., Budzinski, H., & Lehtonen, K. K. (2020). Biomarker responses and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Mytilus trossulus* and *Gammarus oceanicus* during exposure to crude oil. *Environmental science and pollution research international*, 27(13), 15498.

Turra, A.; Fernandez, W.S.; Bessa, E.; Santos, F.B. & Denadai, M.R. (2015). Multi-species generalist predation on the stochastic harvested clam *Tivela mactroides* (Mollusca, Bivalvia). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 166: 115-123.

Turra, A., Xavier, L. Y., Pombo, M., de Carvalho Paschoal, C., & Denadai, M. R. (2016). Assessment of recreational harvesting of the trigonal clam *Tivela mactroides*: Socioeconomic aspects and environmental perception. *Fisheries Research*, 174, 58-67.

Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.

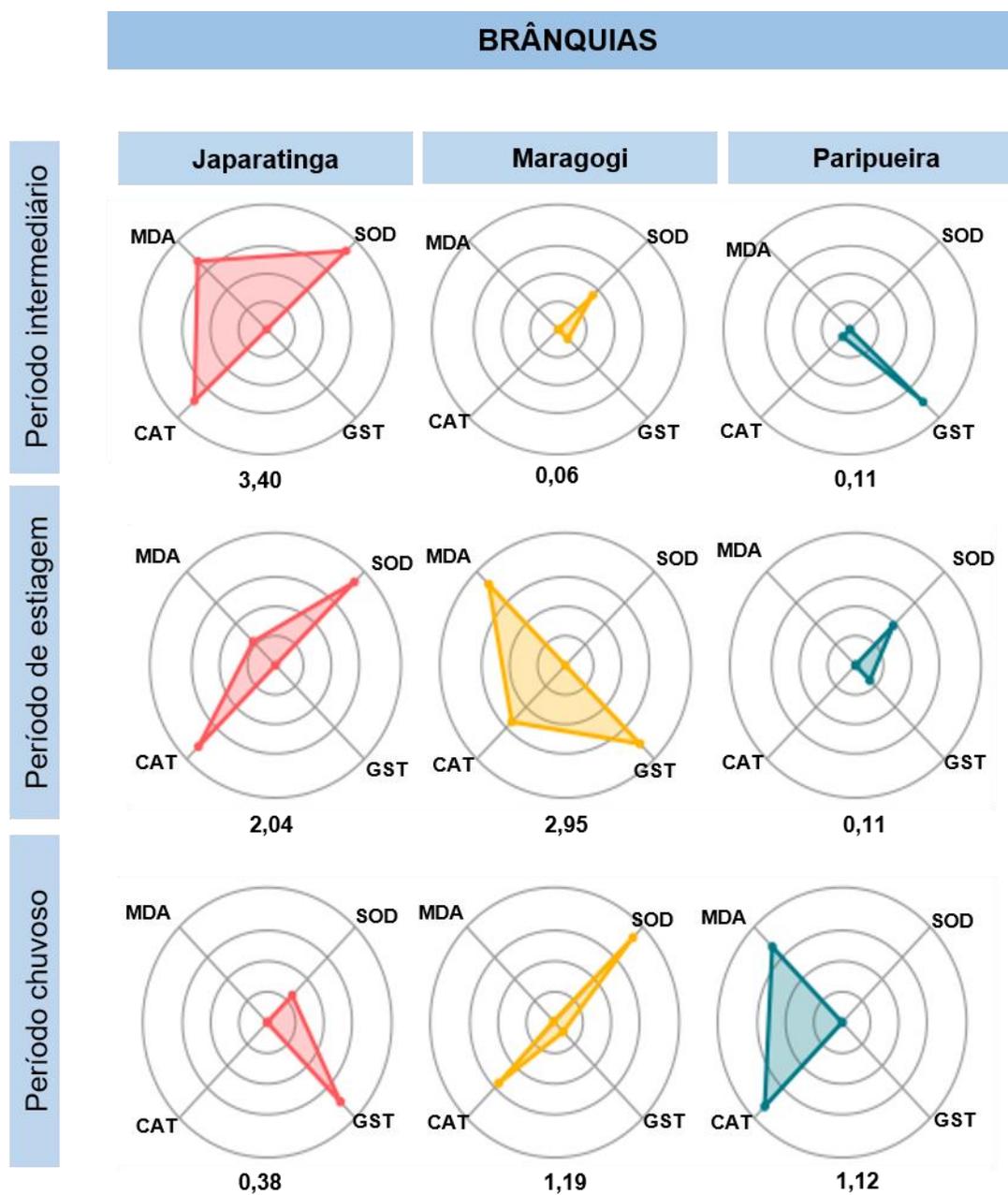
Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Etxebarria, N., Nieto, O., & Beiras, R. (2014). Glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and acetylcholinesterase activities in mussels transplanted to harbour areas. *Science of the total environment*, 470, 107-116.

Zapata-Vívenes, E., Rojas-de Astudillo, L., & Rodríguez, W. (2020). Metales Pesados y Biomarcadores de Estrés Oxidativo en la Almeja *Tivela mactroides* (Born, 1778). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 36(3), 657-666.

Zanaty, M. I., Sawada, N., Kitani, Y., Nassar, H. F., Mahmoud, H. M., Hayakawa, K., ... & Suzuki, N. (2020). Influence of benz [a] anthracene on bone metabolism and on liver metabolism in nibbler fish, *Girella punctata*. *International journal of environmental research and public health*, 17(4), 1391.

ANEXOS

Anexo 1. Gráfico de radar padrão contendo os biomarcadores selecionados para brânquias do bivalve *Tivela mactroides* para as localidades de Japaratinga, Maragogi e Paripueira em três períodos avaliados.



Anexo 2. Gráfico de radar padrão contendo os biomarcadores selecionados para glândula digestiva do bivalve *Tivela mactroides* para as localidades de Japaratinga, Maragogi e Paripueira em três períodos avaliados.

