

BIOACUMULAÇÃO DE METAIS E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS EM OSTRAS *Crassostrea gasar* E *Crassostrea gigas* COLETADAS EM UM ESTUÁRIO NO SUL DO BRASIL

Juliano Marcelo Vilke¹, Juliana Righetto Moser², Clarissa Pelegrini Ferreira³, Flavia Lucena Zacchi², Carlos André da Lima Veiga Rosa³, Camila Lisarb Velasquez Bastolla², Afonso Celso Dias Bainy², Jacyara Nascimento Correa⁴, Marianna Basso Jorge⁴, Karim Hahn Luchmann⁵.

¹ Acadêmico do Curso de Engenharia de Pesca, CERES - bolsista PROBIC/UDESC.

² Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática (LABCAI), Nepaq/UFSC.

³ Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas, CERES/UDESC.

⁴ Departamento de Oceanografia e Limnologia, Laboratório de Ecotoxicologia (Lab Ecotox) - UFMA.

⁵ Orientadora, Departamento de Educação Científica e Tecnológica - CEAD /UDESC -
khlichmann@gmail.com; karim.luchmann@udesc.br

Palavras-chave: Biomonitoramento. Biomarcadores. Poluição.

Estuários são ambientes costeiros onde águas de rio e mar se misturam e desempenham grande importância ecológica, atuando como berçário, abrigo, habitat alimentar e reprodutivo para diversas espécies. São ecossistemas vulneráveis, pois sofrem constantes impactos de diversas fontes de contaminantes através de atividades urbanas, industriais, agrícolas, portuárias e turísticas. Dentre os contaminantes, os metais se destacam, pois possuem potencial tóxico e exercem uma série de efeitos deletérios aos organismos expostos.

Neste contexto, programas de biomonitoramento ambiental avaliam os níveis de contaminação destes ambientes, mensurando a bioacumulação de contaminantes e sua toxicidade através da análise de biomarcadores em organismos bioindicadores de contaminação. Neste contexto, as ostras são comumente utilizadas pois apresentam ampla distribuição geográfica, toleram grandes variações ambientais, são organismos sésseis e filtradores. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o padrão de bioacumulação de metais (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Zn) e de respostas de biomarcadores bioquímicos, através das atividades das enzimas catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), em diferentes tecidos e classes de tamanho de ostras *Crassostrea gasar* e *Crassostrea gigas* coletadas no Sistema Estuarino de Laguna (SEL), sul do estado de Santa Catarina.

Em dezembro de 2016, foram coletadas ostras residentes do SEL através de mergulho livre. Os espécimes foram encaminhados ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM-CERES), para biometria e dissecação. O manto foi armazenado em etanol absoluto e mantido em freezer -20°C para a identificação das espécies. Brânquias (BR) e glândulas digestivas (GD) foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C para análises bioquímicas, e o restante dos animais foi seco em estufa a 50°C para quantificação de metais. A extração de DNA e identificação das espécies, por PCR-RFLP, seguiram as metodologias adaptadas de Lopera-Barrero (2008) e Pie et al. (2006), respectivamente. A quantificação dos metais e a determinação das atividades CAT, GST e G6PDH e dos níveis de proteínas totais foram realizadas de acordo com as metodologias descritas em Ferreira et al. (2019).

Para as classes de tamanhos, organismos entre 5 e 7 cm foram classificados como pertencentes à classe A, de 7,1 a 10,5 cm como classe B, e entre 10,6 e 11 cm na classe C. Os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk afim de testar normalidade e ao teste de

Bartlett para averiguar homocedacidade. Quando não atingidas as premissas, os dados foram log transformados. As diferenças estatísticas na bioacumulação de metais foram testadas através do teste *t*, considerando o fator classe ou espécie. Para os biomarcadores bioquímicos foi utilizado o teste de Kruskal Wallis. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Também foi realizada Correlação de Spearman para avaliar a possível relação entre os níveis de metais e as respostas dos biomarcadores. Todos os testes foram realizados no software R.

A concentração de metais nos tecidos e atividades enzimáticas determinadas na BR e GD de *C. gasar* e *C. gigas* são representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração de metais ($\mu\text{g/g ps}$) em tecido e atividade enzimática (U/mg de proteína) em brânquias (BR) e glândulas digestivas (GD) de ostras coletadas no SEL. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão. * representa diferença estatística entre as duas espécies da classe B. + representa diferença estatística entre as classes de uma mesma espécie.

Metal	<i>Crassostrea gigas</i>			<i>Crassostrea gasar</i>		
	A	B	C	A	B	C
Al	222,63 \pm 105,20	208,82 \pm 81,54	-	-	217,87 \pm 204,93	351,95 \pm 250,10
Cd	0,89 \pm 0,81	0,72 \pm 0,78	-	-	0,69 \pm 0,71	0,74 \pm 0,42
Cr	0,06 \pm 0,05	<LD	-	-	0,12 \pm 0,05+	0,42 \pm 0,25+
Cu	88,02 \pm 26,80	113,93 \pm 17,71*	-	-	47,95 \pm 34,38*	38,44 \pm 22,53
Fe	262,77 \pm 100,73	291,38 \pm 87,62	-	-	274,73 \pm 122,88	331,17 \pm 182,94
Mn	13,00 \pm 6,78	13,81 \pm 4,92	-	-	10,35 \pm 2,85	15,36 \pm 13,24
Zn	4064,64 \pm 1204,60	3874,65 \pm 847,30	-	-	4078,89 \pm 2355,72	3564,86 \pm 2522,70

Enzima	Tecido	A	B	C	A	B	C
CAT	BR	124,730 \pm 42,292	141,502 \pm 22,953	-	-	120,732 \pm 40,975	90,145 \pm 33,807
	GD	184,744 \pm 45,168	180,348 \pm 43,671*	-	-	250,603 \pm 37,075*	189,568 \pm 39,639
GST	BR	0,166 \pm 0,073	0,203 \pm 0,065	-	-	0,140 \pm 0,041	0,180 \pm 0,035
	GD	0,973 \pm 0,503	1,102 \pm 0,327*	-	-	0,372 \pm 0,037*	0,334 \pm 0,223
G6PDH	BR	0,021 \pm 0,016	0,025 \pm 0,001	-	-	0,055 \pm 0,016	0,046 \pm 0,011
	GD	0,010 \pm 0,002	0,010 \pm 0,002	-	-	0,012 \pm 0,004	0,011 \pm 0,005

<LD: abaixo do limite de detecção.

Em relação aos dados de metais, nas ostras *C. gasar* apenas o Cr diferiu estatisticamente entre as classes analisadas, sendo maior na classe C. Por outro lado, ostras *C. gigas* não apresentaram diferenças entre classes. Comparando as duas espécies, Cu foi o único metal que diferiu estatisticamente, sendo os níveis maiores em *C. gigas*. Em relação às enzimas, apenas as GD apresentaram diferenças quando os indivíduos da classe B de ambas espécies foram comparadas. Em *C. gasar* a atividade CAT foi maior que em *C. gigas*. Um padrão oposto foi observado para GST, com maior atividade em *C. gigas* em relação à *C. gasar*. Na GD de *C. gigas*, CAT foi positivamente relacionada com GST e níveis de Mn, enquanto Fe foi positivamente relacionado com níveis de Al. Já nas GD de *C. gasar*, foi observada relação positiva entre os metais Al, Fe e Mn, Cr com Mn, e Cu com Zn, assim como uma relação positiva entre CAT, GST e Zn.

Os resultados apresentados sugerem que existem diferenças no mecanismo molecular com que as ostras residentes no SEL respondem a um possível stress químico. Vale ressaltar que *C. gasar* apresentou representantes na classe C, logo possuem um tamanho maior, mas apresentaram níveis de metais semelhantes aos encontradas em *C. gigas*, com menor tamanho. Ainda, *C. gigas* apresentou maior atividade GST, uma enzima do sistema de biotransformação de xenobióticos (Doyen, 2008), que pode estar auxiliando na eliminação dos metais, evitando, assim, o possível stress que o ambiente pode oferecer. Como perspectivas futuras deste estudo, biomarcadores de dano celular e específicos a metais serão analisados nos animais coletados no SEL.