# EFEITO DA EMERSÃO E REIMERSÃO EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE *Pavona cactus*, UM CORAL CONSTRUTOR DE RECIFE EM ZONAS ENTREMARÉS

# EFFECT OF EMERSION AND REIMMERSION ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Pavona cactus*, A REEF-BUILDING CORAL IN INTERTIDAL ZONES

Luiza de Castro Mastrangelo Dias[1], Beatriz Rodrigues Guarinão[1], Luís Felipe Barcena Albertoni[1], Lucas do Nascimento Lima[1], Marina Minari[2], Daniel C. Moreira[2,3], Marcelo Hermes-Lima[2], Helen Sadauskas-Henrique[1]

[1]Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos, Universidade Santa Cecília, Rua Oswaldo Cruz, 11045-907, Santos, Brazil.
[2]Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil
[3]Centro de Pesquisa em Morfologia e Imunologia Aplicada, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil

E-mail para contato: luiza.mastrangelo@icloud.com

*RESUMO – Ambientes entremarés apresentam periodicamente variações extremas de temperatura, disponibilidade de oxigênio e incidência de radiação. A teoria do preparo para o estresse oxidativo (POS) sugere que corais como Pavona cactus desenvolvem mecanismos antioxidantes para enfrentar danos causados a partir da privação de oxigênio e sua reintrodução. Através de experimentos laboratoriais realizados com o intuito de entender melhor a fisiologia desses cnidários, foi observado que a exposição aérea reduz o metabolismo e aumenta a atividade da Catalase em 1,18 vezes, enquanto a Glutationa S-Transferase não apresentou variação significativa. Um aumento nos níveis de peroxidação lipídica foi registrado durante a emersão e danos ao DNA após a reoxigenação, indicando uma adaptação parcial, mas limitada nesses corais construtores de recife.*

**Palavras-chave:** Ambiente entremarés; Oxigênio; Estresse oxidativo; Espécies Reativas de Oxigênio, Hipóxia.

*ABSTRACT – Intertidal environments periodically experience extreme variations in temperature, oxygen, and radiation. The preparation for oxidative stress (POS) theory suggests that corals like Pavona cactus develop antioxidant mechanisms to mitigate damage from oxygen deprivation. Laboratory experiments aimed at better understanding the physiology of these cnidarians observed that air exposure reduces metabolism and increases Catalase activity by 1.18-fold, while Glutathione S-Transferase showed no significant variation. Lipid damage was recorded during emersion, and DNA damage*

*occurred after reoxygenation, indicating partial but limited adaptation in these reef-building corals.*

**Keywords:** Intertidal environment; Oxygen; Oxidative stress; Reactive Oxygen Species; Hypoxia.

Tipo do trabalho: ( **x** ) Iniciação científica ( ) Iniciação tecnológica ( ) Extensão

# 1 INTRODUÇÃO

Os recifes de corais são ecossistemas altamente biodiversos e produtivos, proporcionando benefícios como ecoturismo e proteção costeira, além de serem fontes de compostos biotecnológicos [1, 9, 13]. A estrutura dos recifes é formada pelo crescimento de corais escleractíneos, cujos exoesqueletos de aragonita são acumulados com a ajuda de dinoflagelados simbióticos, as zooxantelas [10, 11]. Esses corais enfrentam estressores abióticos, como variações de temperatura e salinidade, especialmente durante a exposição ao ar em marés baixas, o que pode causar estresse oxidativo [1, 9, 15]. O estresse oxidativo ocorre devido à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), que pode danificar lipídios, ácidos nucleicos e proteínas [4].

O presente estudo investigou as respostas fisiológicas da espécie de coral *Pavona cactus* à exposição aérea, incluindo mudanças na taxa metabólica, atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e glutationa transferase (GST), e danos ao DNA, lipídios e proteínas, com a hipótese de que haverá uma resposta adaptativa de defesa antioxidante antes da reoxigenação [1, 2, 16].

# 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Vinte e quatro mudas de corais *Pavona cactus* foram adquiridas e aclimatadas no Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos (LEBIO) por uma semana. Os organismos foram divididos em seis aquários de 7 L e mantidos em temperatura controlada a 26°C, salinidade de 33 ppt e pH 8.2. A filtragem foi realizada com mídias biológicas, e a circulação da água foi garantida por bombas. O fotoperíodo foi de 10:14 horas com intensidade de 70 ± 90 µmol quanta/$m^2$/s.

Os corais foram divididos em três grupos, Controle (C), Ar (E), e Recuperação (R). O grupo Controle permaneceu na água, enquanto os grupos Ar e Recuperação foram expostos ao ar por 30 min, com o grupo Recuperação retornando à água por mais 30 min.

A taxa metabólica foi medida com um oxímetro em uma câmara respirométrica de 120 mL. Cada coral foi monitorado individualmente em ausência de luz por 30 min. A taxa de consumo de $O_2$ ($MO_2$, µmol $kg^{-1}$ $h^{-1}$) foi calculada como:

$$MO_2 = \frac{(PO_{2i} - PO_{2f}) \times \alpha O_2 \times V}{M \times T}$$

Atividade enzimática da GST foi medida usando 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e glutationa reduzida como substratos e leitura a 340 nm [7]. A atividade de CAT foi determinada pelo monitoramento do decaimento da concentração de $H_2O_2$ a 240 nm [1]. A peroxidação lipídica foi avaliada com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) após reação das amostras com ácido tiobarbitúrico e leitura a 535 nm [2]. Os níveis de proteínas carboniladas foram medidos após

reação com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) e leitura a 370 nm [4]. Por fim, os danos no DNA foram quantificados por precipitação alcalina usando soluções e curvas de calibração especificadas.

Para a análise estatística, os dados foram apresentados como média ± desvio padrão e analisados por ANOVA com teste post-hoc de Tukey, utilizando SigmaStat 3.5 e SigmaPlot 11.0.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a exposição ao ar, a taxa de consumo de oxigênio de *Pavona cactus* reduziu 4,21 vezes, com uma recuperação de 3,42 vezes ao retornar à água. A atividade da GST permaneceu estável, enquanto a Catalase aumentou em 1,18 vezes em relação ao controle e se manteve elevada após a reoxigenação. Os danos aos lipídios aumentaram 1,37 vezes durante a exposição ao ar, mas foram quase totalmente revertidos ao retornar à água. Os danos ao DNA também aumentaram 1,27 vezes após a reoxigenação. Por fim, não houve alterações significativas nas proteínas carboniladas.

A partir desses resultados, é observado que o organismo entrou em estado de estresse oxidativo, a partir um desequilíbrio no metabolismo redox gerando danos oxidativos, representados através do aumento de TBARS e danos significativos no DNA [8]. A baixa disponibilidade de oxigênio durante a exposição ao ar contribui para danos oxidativos que aumentam durante a reoxigenação [8, 16]. Observou-se uma estratégia adaptativa em *Pavona cactus*, com redução no consumo de oxigênio e aumento da atividade da Catalase para lidar com o estresse oxidativo, embora a proteção ao DNA tenha sido insuficiente. Diferentemente de outros cnidários [14], *Pavona cactus* apresentou aumento na peroxidação lipídica durante a emersão, que foi parcialmente revertida após reoxigenação, sugerindo uma adaptação conhecida como “preparo para o estresse oxidativo” (POS). O POS consiste no aumento de um ou mais antioxidantes durante um estresse ambiental como resposta preventiva do estresse oxidativo que pode acontecer durante a reoxigenação [8, 10]. A estabilidade das proteínas carboniladas pode ser explicada pela insuficiência do estresse oxidativo para induzir danos significativos, aliada a uma possível tolerância elevada do organismo a esses danos. Além disso, o animal pode manter níveis constitutivos elevados de proteínas de choque térmico, que desempenham um papel crucial na rápida reparação e proteção dessa moléculas [14]. As adaptações antioxidantes, como o aumento da Catalase, ajudam na resistência a ambientes intertidais dinâmicos, embora outros antioxidantes como GPx e SOD possam desempenhar papéis adicionais na proteção contra o estresse oxidativo [6, 15].

## 3.1 Figuras

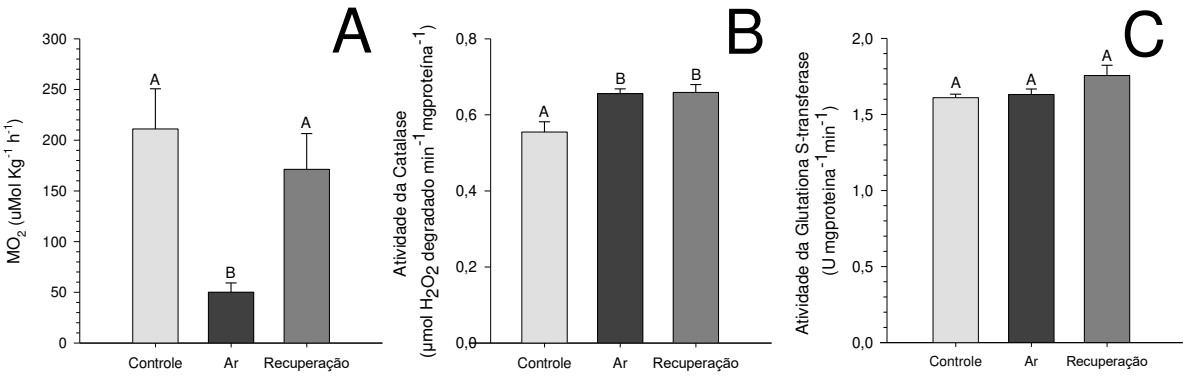


*Figura 1: (A) Taxa de Consumo de Oxigênio ($MO_2$), (B) Atividade das enzimas Catalase e (C) Glutationa S-transferase de Pavona cactus expostos ao controle (imersos), ar (emersos) e recuperação (emersos e posteriormente imersos). Os valores estão representados como média ± SEM (n=8). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (P < 0,05).*

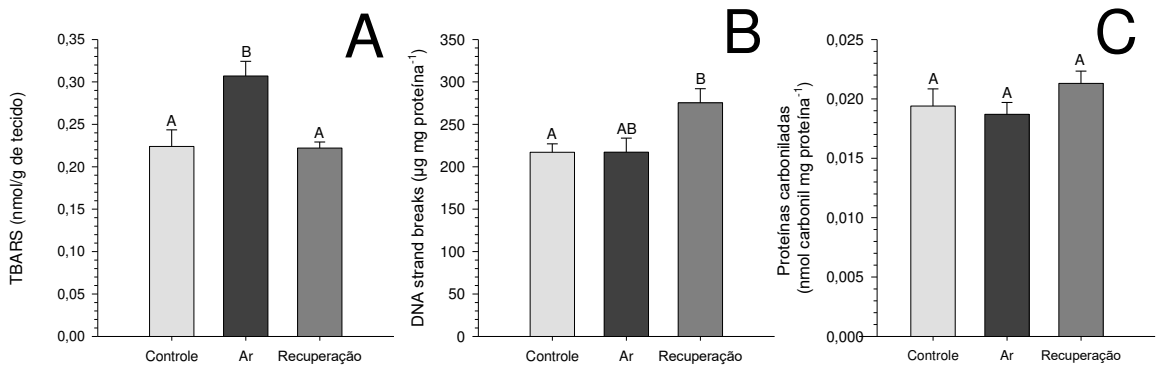


*Figura 2: (A) Danos lipídicos (TBARS), (B) Proteínas carboniladas, (C) DNA strand breaks de Pavona cactus expostos ao controle (imersos), ar (emersos) e recuperação (emersos e posteriormente imersos). Os valores estão representados como média ± SEM (n=8). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (P < 0,05).*

# 4 CONCLUSÃO

O presente estudo revelou, por fim, que *Pavona cactus* enfrenta estresse oxidativo durante a exposição ao ar, evidenciado pelo aumento de TBARS, e na reoxigenação, evidenciado pelo aumento no dano em DNA. O aumento da atividade da catalase caracteriza uma resposta adaptativa contra as espécies reativas de oxigênio (EROs), conhecida como "preparo para o estresse oxidativo". A estabilidade das proteínas carboniladas sugere que danos a proteínas foram mínimos ou rapidamente reparados. Embora o coral tenha mecanismos antioxidantes para lidar com estresse, há limitações na proteção do DNA. Dessa forma, é evidenciada a necessidade de investigar mais profundamente as estratégias de defesa e adaptação de corais frente a hipóxia e reoxigenação em ambientes intertidais.

## 5 REFERÊNCIAS


1. Aebi, H. (1984). “Catalase in Vitro”. Methods in Enzymology 105:121–26.
2. Buege, J.A., Aust, S.D., (1978). Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52, 302–310
3. Eddy T. D., Lam V. W. Y., Reygondeau G., Cisneros-Montemayor A. M., Greer K., Palomares M. L. D., Bruno J. F., Ota Y., Cheung W. W. L. Global decline in capacity of coral reefs to provide ecosystem services. One Earth. 2021;4(9):1278–1285. https://doi.org/10.1016/j.oneear.2021.08.016
4. Fields, R., and H.B. Dixon. (1971). “Micro Method for Determination of Reactive Carbonyl Groups in Proteins and Peptides, Using 2,4-Dinitrophenylhydrazine”. The Biochemical Journal 121 (4):587–89.
5. Freire C. A., Welker A. F., Storey J. M., Storey K. B., Hermes-Lima M. Oxidative Stress in Estuarine and Intertidal Environments (Temperate and Tropical). In: Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. Wiley; 2011. p. 41–57. https://doi.org/10.1002/9781444345988.ch3
6. Guppy M. The biochemistry of metabolic depression: a history of perceptions. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 2004;139(3):435–442.
7. Habig, W.H., M.J. Pabst, e W.B. Jakoby. (1974). “Glutathione S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation”. The Journal of Biological Chemistry 249(22):7130–39.
8. Hermes-Lima M., et al. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: Revisiting the proposal two decades later. Free Radic. Biol. Med. 2015;89:1122–1143. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.09.015
9. Hoegh-Guldberg O. Climate change, coral bleaching and the future of the world’s coral reefs. Mar. Freshwater Res. 1999. https://doi.org/10.1071/MF99078
10. Maximiliano Giraud-Billoud M., et al. Twenty years of the “Preparation for Oxidative Stress” (POS) theory: Ecophysiological advantages and molecular strategies. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2019;234:36–49. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.04.004
11. Moreira D. C., Sabino M. A. C. T., Kuzniewski F. T. B., Furtado-Filho O. V., Carvajalino-Fernández J. M., Angelini R., Freire C. A., Hermes-Lima M. Redox metabolism in mussels (Brachidontes solisianus) under the influence of tides in a rocky beach in Southern Brazil. Estuar. Coast. Shelf Sci. 2021;258:107424. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2021.107424
12. Richards Z. T., Garcia R. A., Wallace C. C., Rosser N. L., Muir P. R. A Diverse Assemblage of Reef Corals Thriving in a Dynamic Intertidal Reef Setting (Bonaparte Archipelago, Kimberley, Australia). PLoS ONE. 2015;10(2):
13. Silva, A. A. da, & Gonçalves, R. C. (2010). Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. Ciência Rural, 40(4), 994–1002. https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000037
14. Teixeira, T., Diniz, M., Calado, R., & Rosa, R. (2013). Coral physiological adaptations to air exposure: Heat shock and oxidative stress responses in Veretillum cynomorium. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 439, 35–41. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.10.010

15. Welker, A. F. et al. Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 165, n. 4, p. 384–404, 1 ago. 2013.
16. Wild, C., Huettel, M., Klueter, A., Kremb, S. G., Rasheed, M. Y. M., & Jørgensen, B. B. (2004). Coral mucus functions as an energy carrier and particle trap in the reef ecosystem. Nature, 428(6978), 66–70. https://doi.org/10.1038/nature02344