TOXICIDADE DA BENZOFENONA-3 EM CORAIS *SERIATOPORA CALIENDRUM*

TOXICITY OF BENZOPHENONE-3 IN CORALS *SERIATOPORA CALIENDRUM*

Ana Beatriz Ferreira Belo Santos[1], Wilton Rodrigues de Souza Santos[1]; Thamiris Silva Gomes[1], Giulia Maneira de Prá[1], Gabriela Pustiglione Marinsek[1], Luciana Lopes Guimarães[1], Hosana Maria Debonsi[2], Lorena Rigo Gaspar[2], Luis Felipe Barcena Albertoni[3], Helen Sadauskas-Henrique[1].

[1]Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos (LEBIO), Universidade Santa Cecilia. [2]Universidade São Paulo (USP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP). [3]Coral Cultura.
E-mail para contato: anabeatrizfbsantos@gmail.com

RESUMO – Os recifes de corais são ecossistemas tropicais de alta biodiversidade que protegem zonas costeiras, sustentam economias e abrigam inúmeras espécies marinhas. Contudo, sofrem impactos de contaminantes químicos, como a benzofenona-3 (BP-3), filtro solar associado ao branqueamento coralino pela perda de zooxantelas. Este estudo avaliou efeitos fisiológicos em Seriatopora caliendrum expostos à BP-3 em diferentes concentrações (0.3, 1.3, 2.5, 5, and 10 mg L^{-1}), além dos controles (Controle, 0,3% DMSO). Observou-se redução significativa na densidade de zooxantelas e nos níveis de clorofila a, além de aumento dos valores de RGB em concentrações elevadas, evidenciando branqueamento progressivo. Os resultados confirmam a toxicidade da BP-3 e reforçam seu potencial risco ambiental aos recifes.

Palavras-chave: Filtros Solares; Branqueamento em corais; Poluição Marinha; Benzofenona; Zooxantelas.

ABSTRACT – Coral reefs are tropical ecosystems of high biodiversity that protect coastal zones, support economies, and provide habitat for numerous marine species. However, they are increasingly impacted by chemical contaminants such as benzophenone-3 (BP-3), a sunscreen agent associated with coral bleaching through the loss of zooxanthellae. This study evaluated the physiological effects of BP-3 on Seriatopora caliendrum exposed to different concentrations (0.3, 1.3, 2.5, 5, and 10 mg L^{-1}), in addition to controls (Control and 0.3% DMSO). Significant reductions in zooxanthellae density and chlorophyll a levels were observed, along with increased RGB values at higher concentrations, indicating progressive

bleaching. The results confirm the toxicity of BP-3 and highlight its potential environmental risk to coral reef ecosystems

Keywords: Sunscreen; Coral bleaching; Marine pollution; Benzophenone; Zooxanthellae.

1 INTRODUÇÃO

Os recifes de corais são ecossistemas marinhos tropicais de cores vibrantes, de grande importância para comunidades costeiras e para a biodiversidade marinha [1]. Eles desempenham papel fundamental como habitat e fonte de sustento para uma ampla variedade de espécies, além de fornecerem alimento para milhões de pessoas e movimentarem a economia, contribuindo com cerca de 375 milhões em bens e serviços por meio de atividades como pesca e turismo. Além disso, auxiliam na proteção de regiões costeiras contra inundações, erosão e impactos de tempestades [2] [3]. Estima-se que os recifes reduzam em até 97% a energia das ondas antes que estas atinjam áreas tropicais, onde vivem muitas comunidades humanas [4].

Apesar de sua relevância, algumas espécies de corais não são totalmente autossuficientes, pois dependem de uma relação simbiótica com microalgas do gênero *Symbiodinium*, conhecidas como zooxantelas [5]. Essas microalgas vivem no interior dos tecidos de alguns cnidários e fornecem a maior parte da energia por meio da fotossíntese. Essa relação é crucial para o crescimento e a formação dos recifes, mas, sob condições de estresse, como aumento da temperatura dos oceanos ou poluição química, os corais podem expulsar as zooxantelas em um processo conhecido como branqueamento [6]. Esses organismos vêm sendo fortemente impactados por poluição marinha, sobrepesca e mudanças climáticas. Embora a elevação da temperatura e a acidificação dos oceanos sejam fatores amplamente estudados no branqueamento, a poluição química também contribui de forma significativa para esse fenômeno [7].

Uma dessas substâncias poluentes provém do uso de protetores solares, indispensáveis principalmente durante a exposição solar em praias, já que os raios UV em excesso causam fotoenvelhecimento e câncer de pele [8]. Para minimizar esses efeitos, foram desenvolvidos filtros UV, cuja principal molécula bloqueadora da radiação solar é a benzofenona-3. Devido à

sua alta capacidade de absorção dos raios UVA e UVB, essa substância é facilmente detectada tanto em fluidos corporais quanto no meio ambiente, já que não é completamente removida em estações de tratamento de água [9]. Estima-se que cerca de 14 mil toneladas de filtros solares contendo benzofenona-3 sejam liberadas nos oceanos a cada ano, atingindo habitats recifais. Como medida de proteção, regiões com áreas de conservação, como o Havaí, proibiram por lei o uso de cosméticos que contenham essa substância [10].

Quando a oxibenzona entra em contato com colônias de corais, os organismos mais afetados não são os corais diretamente, mas as zooxantelas. Isso ocorre porque a benzofenona-3 induz a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) [11], que danificam suas células e comprometem o processo de fotossíntese. Como consequência, essas microalgas deixam de fornecer nutrientes essenciais, como glicose e aminoácidos, necessários ao metabolismo, crescimento e sobrevivência dos corais [12]. Além do estresse oxidativo, a benzofenona-3 provoca danos estruturais ao DNA, fazendo com que as zooxantelas percam a capacidade de sustentar a simbiose, resultando em sua expulsão dos tecidos coralíneos. A perda dessas microalgas leva ao branqueamento, tornando os corais translúcidos e expondo seu esqueleto de carbonato de cálcio, antes recoberto por tecidos vivos, o que pode culminar na morte dos organismos [13].

A preservação dos recifes de corais é, portanto, de extrema importância. Esses ecossistemas vêm sofrendo degradações significativas e permanecem constantemente sob ameaça devido a fatores antrópicos, como a poluição química por benzofenona-3. Além de causar impactos negativos sobre organismos marinhos, essa substância também está associada a efeitos adversos à saúde humana, incluindo distúrbios hormonais e danos celulares.

Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos da benzofenona-3, substância fotoprotetora presente em filtros solares, sobre o coral *Seriatopora caliendrum*. Para isso, foram utilizadas técnicas como análise de cor por meio de RGB, quantificação da densidade de zooxantelas e determinação de clorofila *a*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Protocolo Experimental

Amostras do coral *Seriatopora caliendrum* foram colocadas em tanques experimentais (sete aquários de vidro, com capacidade de 7 L cada, preenchidos com água do mar reconstituída) e submetidas a um período de aclimatação de uma semana. Os aquários foram mantidos em aquecimento indireto (banho-maria), utilizando um aquecedor de 100 W, de modo a garantir estabilidade térmica. A circulação da água foi assegurada por uma bomba de fluxo de 1000 L/h, promovendo renovação constante e manutenção da qualidade do ambiente.

Durante o período de aclimatação, os parâmetros da água foram monitorados diariamente, incluindo salinidade (34), temperatura (26 °C), pH (8,2) e alcalinidade, a fim de manter condições adequadas ao desenvolvimento dos corais. A iluminação foi mantida em intensidade aproximada de 80 a 90 μmol quanta/m²/s, simulando um ambiente adequado à fotossíntese das zooxantelas.

Os grupos experimentais foram compostos por: controle, controle do solvente (0,3% DMSO) e tratamentos com o composto em diferentes concentrações (0,3; 1,3; 2,5; 5 e 10 mg L^{-1}). Cada grupo foi replicado, e em cada aquário foram alocadas oito amostras de corais (n = 8), totalizando 56 amostras (n = 56). A exposição foi conduzida durante 96 horas. As trocas de água foram realizadas a cada 24 horas ao longo de todo o experimento.

2.2 Contagem de Zooxantelas

Para a extração do tecido, um pequeno fragmento de esqueleto recoberto por tecido foi colocado em um tubo Eppendorf de 1,5 mL. A remoção do tecido do esqueleto foi realizada utilizando um air brush com tampão de homogeneização, garantindo que a maior quantidade possível de tecido fosse transferida para o tubo. Posteriormente, o material homogeneizado foi vortexado e distribuído em três novos tubos Eppendorf (1,5 mL): 70 μL para zooxantelas, 70 μL para clorofila e 110 μL para proteínas.

As amostras destinadas à clorofila e às zooxantelas foram armazenadas em freezer a -20 °C, enquanto aquelas destinadas às proteínas foram mantidas em ultrafreezer a -80 °C, até sua determinação.

Para a quantificação da densidade de zooxantelas, as amostras previamente armazenadas foram descongeladas, vortexadas e 10 µL da solução foram pipetados em uma câmara de Neubauer. A densidade celular foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

Número de zooxantelas por mL = (nº de zooxantelas/4) * 10^4 * valor da diluição

- O denominador 4 corresponde ao número de quadrantes analisados;
- O fator 10^4 refere-se ao valor de conversão para mL;

O número total de zooxantelas foi obtido dividindo a densidade calculada pela concentração de proteínas.

2.3 Clorofila *a*

Para a determinação da clorofila a, 45 µL do homogeneizado foram diluídos em 955 µL de etanol em um tubo Eppendorf de 1 mL. O branco foi preparado com 45 µL de água do mar reconstituída e 955 µL de etanol.

As amostras foram armazenadas em geladeira por 24 horas e submetidas à homogeneização em vortex três vezes, em intervalos de oito horas, até completar o período de incubação. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 5200 rpm por 5 minutos.

Em seguida, 1 mL do sobrenadante foi transferido para uma cubeta de quartzo de 1 mL, e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro, previamente calibrado com o branco. As absorbâncias foram registradas em dois comprimentos de onda: 660 nm e 750 nm. Após cada leitura, a cubeta foi lavada com etanol e seca antes da leitura seguinte.

2.4 Análise de branqueamento (RGB)

Para a análise por RGB, as amostras de corais, após serem retiradas dos tanques experimentais, foram levadas a uma caixa de luz fotográfica e fotografadas com uma câmera profissional (Canon EOS 77D) e lente (SIGMA DC 18-200mm 1:3.5 – 6.3), adaptando o protocolo descrito por Hirayama et al. (2017), conforme observado na Tabela 1.

Após a obtenção das imagens de todas as amostras dos diferentes grupos experimentais, os arquivos foram transferidos para um computador e processados individualmente no software Adobe Photoshop CC. Inicialmente, cada fragmento de coral foi selecionado utilizando a ferramenta “Seleção rápida”.

Tabela 1: Configurações da câmera utilizadas para a captura da imagem.

CONFIGURAÇÃO	
Sensibilidade ISO	ISO 6400
Velocidade do obturador	1/400 s
Abertura	f/6.3
Balanço de branco	Automático
Qualidade da imagem	JPG, alta qualidade
Tamanho da imagem	Grande 6000 × 4000 pixels
Modo de foco	Manual
Controle de imagem	Padrão

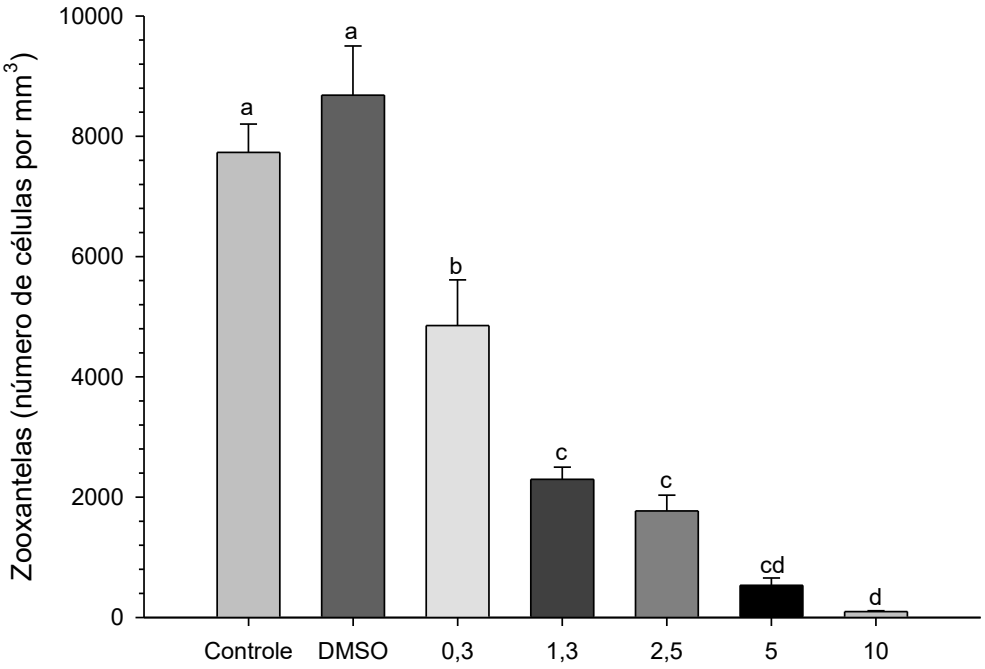
Em seguida, no menu superior do programa, foram aplicados os comandos Imagem → Filtro → Destaque → Média. Por meio da ferramenta "Seleção de cor", foram obtidos os valores médios dos canais R (vermelho), G (verde) e B (azul).

Esse método permite avaliar o branqueamento dos corais a partir da intensidade da cor. Valores mais próximos de zero indicam corais saudáveis, enquanto valores mais elevados indicam maior grau de branqueamento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma redução significativa na densidade de zooxantelas concomitante com o aumento da concentração de benzofenona-3. Os grupos Controle e DMSO apresentaram as maiores densidades celulares, com valores médios superiores a 8.000 células mm^3, não apresentando diferenças significativas entre si. A partir da concentração de 0,3 mg L^{-1}, verificou-se uma diminuição significativa na densidade de zooxantelas, indicando um possível efeito tóxico em baixas concentrações. As concentrações de 1,3 e 2,5 mg L^{-1} apresentaram reduções ainda mais acentuadas, com médias inferiores a 2.500 células mm^3. Nas concentrações de 5,0 e 10,0 mg L^{-1}, os menores valores de densidade celular foram registrados, com diferenças estatísticas em relação ao controle (Figura 1).

Figura 2: Número de zooxantelas (células mm³) em S. caliendrum expostas a diferentes concentrações de benzofenona-3 (0,3; 1,3; 2,5; 5,0 e 10 mg L^{-1}) e os controles (controle e 0,3% DMSO). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (P<0,05).



Os resultados demonstram que a concentração de clorofila *a* foi mais elevada no grupo Controle, diferindo estatisticamente da maioria dos demais tratamentos. O grupo DMSO apresentou valores intermediários, estatisticamente semelhantes ao Controle e superiores aos demais tratamentos com Benzofenona-3, indicando que o solvente por si só não promoveu alterações significativas na densidade de clorofila *a* (Figura 2).

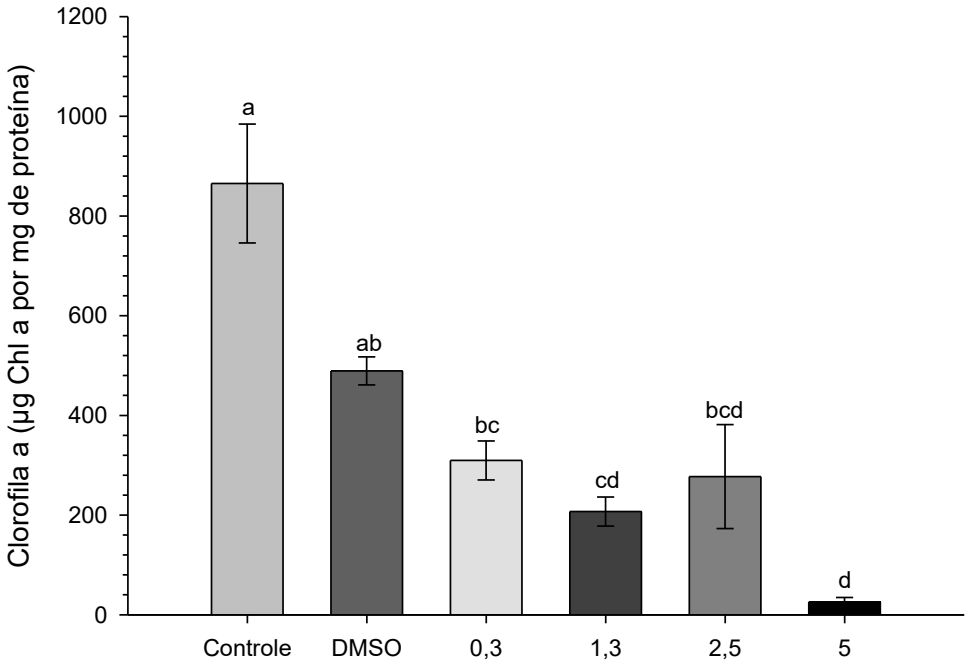
Com o aumento da concentração da Benzofenona-3 para 0,3; 1,3 e 2,5 mg L^{-1}, verificou-se uma redução progressiva nos níveis de clorofila *a*, com diferenças significativas em relação ao Controle. Essa diminuição sugere perda gradual do pigmento fotossintético, provavelmente relacionada à redução do número de zooxantelas e/ou à degradação da maquinaria fotossintética diante do estresse químico.

O tratamento com 5 mg L^{-1} apresentou os menores valores de clorofila a, diferindo significativamente de todos os demais grupos. Esse resultado evidencia um quadro severo de branqueamento, no qual a concentração de pigmentos fotossintéticos foi drasticamente reduzida, refletindo um comprometimento acentuado da simbiose coral–zooxantela. Já o

tratamento 10 mg L^{-1} não foi inserido no gráfico, pois devido à perda severa de tecido coralíneo, não foi possível medir a concentração de clorofila *a.*

De maneira geral, a redução da clorofila *a* com o aumento da concentração da Benzofenona-3 está de acordo com os padrões clássicos descritos para o branqueamento coralino, nos quais tanto a perda de simbiontes quanto a diminuição dos pigmentos fotossintéticos contribuem para a resposta de estresse [14] [15].

Figura 2: Clorofila a (µg por mg de proteína) em S. caliendrum expostas a diferentes concentrações de benzofenona-3 (0,3; 1,3; 2,5; 5,0 e 10 mg L^{-1}) e os controles (controle e 0,3% DMSO). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (P<0,05).

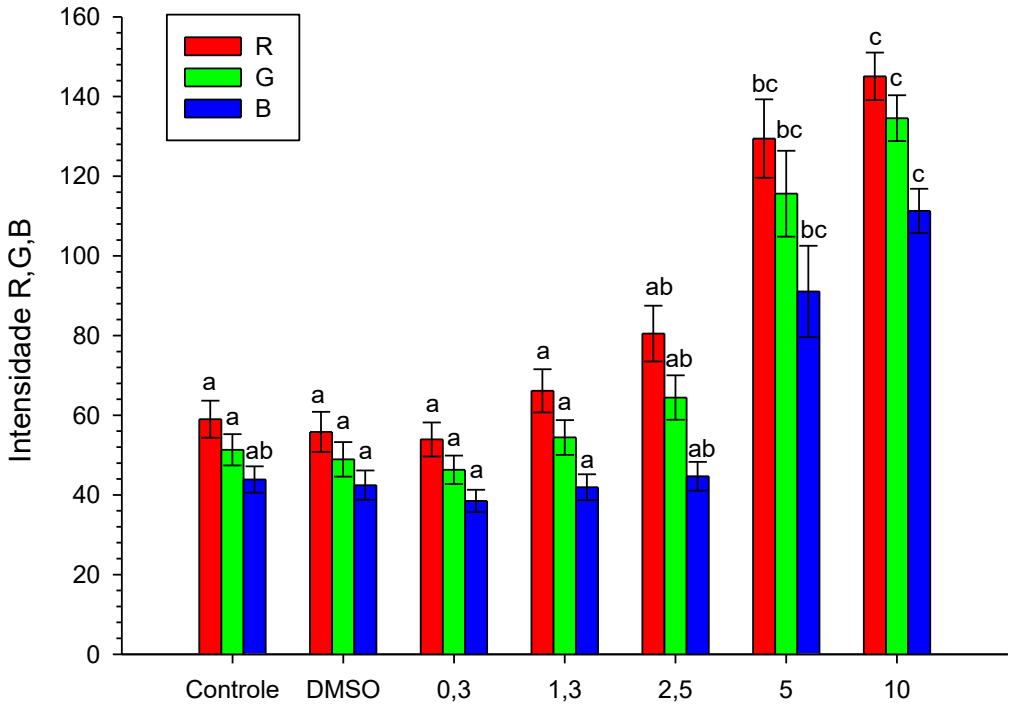


A avaliação dos valores de vermelho (R), verde (G) e azul (B) possibilitou estimar visualmente o nível de branqueamento dos corais expostos a diferentes concentrações da Benzofenona-3. Verificou-se que as médias de RGB permaneceram relativamente baixas e próximas entre os grupos Controle; DMSO; 0,3 e 1,3 mg L^{-1}, o que sugere ausência de branqueamento evidente nesses tratamentos (Figura 3).

Com o aumento das concentrações para 2,5; 5 e 10 mg L^{-1}, observou-se um aumento significativo nos valores de RGB, sobretudo no canal vermelho (R), seguido dos canais verde

(G) e azul (B). O tratamento de 10 mg L^{-1} exibiu os maiores valores de RGB, diferindo estatisticamente dos demais grupos, o que indica um branqueamento mais intenso (Figura 3).

Figura 3: Valores médios dos canais de cor vermelho (R), verde (G) e azul (B) obtidos a partir da análise de imagens em S. caliendrum expostas a diferentes concentrações de benzofenona-3 (0,3; 1,3; 2,5; 5,0 e 10 mg L-1) e os controles (controle e 0,3% DMSO). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (P<0,05).



4 CONCLUSÃO

As diferentes concentrações de benzofenona-3 apresentaram efeitos deletérios sobre *Seriatopora caliendrum*. Foi observado que, mesmo em baixas concentrações (1,3 mg L^{-1}), a densidade de zooxantelas e os níveis de clorofila *a* foram reduzidas, comprometendo a capacidade fotossintética e levando ao branqueamento progressivo. Observou-se que concentrações mais altas do composto intensificaram esses efeitos, refletidos também nos aumentos dos valores de RGB, evidenciando visualmente a perda de pigmentos e o estresse dos corais. O grupo controle e o grupo DMSO não causaram alterações significativas, confirmando que os efeitos observados são decorrentes da benzofenona-3. Esses achados reforçam que a exposição a este composto pode prejudicar a saúde dos recifes, destacando a importância de

avaliar continuamente seus impactos ecotoxicológicos e de adotar medidas preventivas de proteção ambiental.

5 REFERÊNCIAS

Suhardiman, R.; Ringo, D.; Yeo, S. *Status of the Coral Reef Ecosystems of Guam*. 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/236590561_Status_of_the_Coral_Reef_Ecosystems_of_Guam. Acesso em: 10 set. 2025.

SHEPPARD, Charles R.C.; DAVY, Simon K.; PILLING, Graham M. *The biology of coral reefs*. Oxford: Oxford University Press, 2017. Disponível em: https://www.academic.oup.com/book/32664/chapter/270612790. Acesso em: 10 set. 2025.

BIRKELAND, Charles. *Symbiosis, fisheries and economic development on coral reefs*. Trends in Ecology & Evolution, v. 12, n. 9, p. 364-367, ago. 1997. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169534797010999. Acesso em: 10 set. 2025.

FERRARIO, Filippo; BECK, Michael W.; STORLAZZI, Curt D.; MICHELI, Fiorenza; SHEPARD, Christine C.; AIROLDI, Laura. *The effectiveness of coral reefs for coastal hazard risk reduction and adaptation*. Nature Communications, v. 5, p. 3794, 2014. DOI: 10.1038/ncomms4794. Acesso em: 10 set. 2025.

Hoegh-Guldberg, O.; Bruno, J. F. *The impact of climate change on the world's marine ecosystems*. Science, v. 328, n. 5985, p. 1523-1528, 18 jun. 2010. DOI: 10.1126/science.1189930.

HOEGH-GULDBERG, Ove; POLACZANSKA, Elvira S.; SKIRVING, William; DOVE, Simon. Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Frontiers in Marine Science*, v. 4, p. 158, 2017. DOI: 10.3389/fmars.2017.00158. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2017.00158/full. Acesso em: 11 set. 2025.

MCCLANAHAN, Timothy R.; MUTHIGA, Nyawira A.; MAINDA, Peter; et al. *Marine pollution and climate change: A deadly duo for coral reefs*. Environmental Research, [S. l.], v. 245, p. 117198, 2025. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11555334/. Acesso em: 11 set. 2025.

BAYKARA, C.; SEVIMLI, A.; OZTURK, E.; ACAR, H.; BAYKARA, T.; *et al.* Effects of hospital wastewater on antibiotic resistance, and antibiotic resistance genes in environmental bacteria. *The Science of the Total Environment*, v. 775, p. 150094, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150094.

Scheele, A.; Sutter, K.; Karatum, O.; Danley-Thomson, A. A.; Redfern, L. K. *Environmental impacts of the ultraviolet filter oxybenzone*. *Science of the Total Environment*, v. 863, p. 160966, 10 mar. 2023. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.160966. Consultado em: 11 set. 2025.

HAWAI'I. Hawaii Revised Statutes, § 342D-21. Regulation of sunscreen containing oxybenzone and octinoxate. 2024. Disponível em: https://law.justia.com/codes/hawaii/title-19/chapter-342d/section-342d-21/. Acesso em: 11 set. 2025.

HIRAYAMA, K. et al. Effect of low concentrations of Irgarol 1051 on RGB (R, red; …). *Marine Pollution Bulletin*, v. 124, p. 446-451, 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X17304125. Acesso em: 11 set. 2025.

HANSON, K. M.; CLEGG, R. M.; WONG, B. A.; et al. Sunscreen enhancement of UV-induced reactive oxygen species in human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 126, n. 4, p. 853–860, 2006. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17015167/. Acesso em: 11 set. 2025.

ZHANG, W. et al. Macro- and microplastics as complex threats to coral reef ecosystems: A review. *Science of the Total Environment*, v. 898, p. 165380, 2023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412023001873. Acesso em: 11 set. 2025.

DOWNS, C. A.; KRAMARSKY-WINTER, E.; SEGAL, R.; et al. Toxicopathological effects of the sunscreen UV filter, oxybenzone (benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 70, n. 2, p. 265–288, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00244-015-0227-7. Acesso em: 11 set. 2025.

Weis, V. M. “Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis.” *Journal of Experimental Biology*, v. 211, Pt. 19, p. 3059-3066, out. 2008. DOI: 10.1242/jeb.009597. Consultado em: 11 set. 2025.

BROWN, B. E. *Coral bleaching: causes and consequences*. 1997. Disponível em: https://www.coralations.org/Brown%201997%20Blea%20causes%20conseq.pdf. Acesso em: 11 set. 2025.