ISSN:2594-6153

Evidências histoquímicas de alterações na barreira mucosa de *Seriatopora caliendrum* exposta à benzofenona-3

Wilton Rodrigues de Souza Santos[1]; Ana Beatriz Ferreira Belo Santos[1]; Gabriela Pustiglione Marinsek[4]; Renata de Britto Mari[4]; Hosana Maria Debonsi[2]; Lorena Rigo Gaspar[2]; Luis Felipe Barcena Albertoni[3]; Luciana Lopes Guimarães[1]; Helen Sadauskas-Henrique[1].

[1]Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos (LEBIO), UniversidadeSanta Cecília (UNISANTA), Santos-SP, Brasil
[2]Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP).
[3]Coral Cultura.
[4]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista – São Vicente, SP.

E-mail: wiltonrodrigues77@gmail.com

Resumo: Os recifes de coral são ecossistemas vulneráveis a contaminantes emergentes como a benzofenona-3 (BP-3), presente em filtros solares. Este estudo avaliou a produção de mucinas em *Seriatopora caliendrum* exposta à BP-3 por 96 h. Fragmentos foram analisados por histoquímica (PAS e Alcian Blue). Concentrações elevadas (5–10 mg/L) causaram perda de tecido, enquanto doses intermediárias reduziram glicoproteínas (PAS) e aumentaram mucinas ácidas (AB), indicando desequilíbrios funcionais. Os resultados revelam que, mesmo em níveis subletais, a BP-3 compromete a barreira mucosa, essencial à defesa e nutrição coralínea, reforçando preocupações sobre a presença de filtros solares em áreas recifais e a necessidade de alternativas seguras.

Palavras-chave: Recifes de coral; Histoquímica; Benzofenona-3; Produção de muco 4; Poluição por filtros solares.

Histochemical Evidence of Mucus Barrier Alterations in *Seriatopora caliendrum* Exposed to Benzophenone-3

Abstract: Coral reefs are vulnerable ecosystems to emerging contaminants such as benzophenone-3 (BP-3), commonly found in sunscreens. This study evaluated mucin production in *Seriatopora caliendrum* exposed to BP-3 for 96 h. Fragments were analyzed by histochemistry (PAS and Alcian Blue). High concentrations (5–10 mg/L) caused tissue loss, while intermediate doses reduced glycoproteins (PAS) and increased acidic mucins (AB), indicating functional imbalances. The results show that even at sublethal levels, BP-3 compromises the mucous barrier, essential for coral defense and nutrition, reinforcing concerns about the presence of sunscreens in reef areas and the need for safer alternatives.

Keywords: Coral reefs; Histochemistry; Benzophenone-3; Mucus production; Sunscreen pollution.

Introdução

Os recifes de coral estão entre os ecossistemas mais produtivos e diversos do mundo, desempenhando papéis ecológicos essenciais e servindo como habitat para uma ampla variedade de organismos marinhos [1]. Embora ocupem menos de 0,1% do fundo marinho, estima-se que sustentem milhões de espécies, destacando sua relevância para a biodiversidade marinha [2].

Apesar de sua relevância, esses ecossistemas estão entre os mais vulneráveis a estressores ambientais locais e globais, como a degradação da qualidade da água, a sobrepesca e as mudanças climáticas, fatores que têm contribuído para o declínio global da cobertura coralina e da complexidade estrutural dos recifes [3].

Entre as diversas ameaças antrópicas, a poluição química tem se destacado como um fator de crescente preocupação para os recifes de coral. Dentre os contaminantes emergentes, os filtros solares, vêm sendo detectados em áreas recifais, sobretudo próximas a regiões turísticas [4]. Como reflexo dessa preocupação, legislações em locais como o Havaí e Palau restringiram o uso de protetores solares contendo Benzofenona-3 (Oxibenzona), evidenciando o reconhecimento do seu potencial risco aos ecossistemas recifais [5]. Estudos como Conway et al. 2021 [6] demonstraram efeitos tóxicos da oxibenzona em corais adultos da espécie *Galaxea fascicularis* e os autores observaram “um declínio acentuado na sobrevivência em 10 mg/L de BP-3, com 100% de mortalidade após 96 horas.

Uma característica marcante dos corais é a produção de uma camada de muco superficial, composta principalmente por glicoproteínas e lipídios. Esse muco desempenha funções essenciais para a sobrevivência dos organismos, atuando como barreira contra patógenos e contribuindo para a nutrição e regeneração dos tecidos. Assim, compreender como filtros solares e outros xenobióticos afetam esse sistema é fundamental para avaliar seus impactos na saúde e na resiliência dos recifes [7].

Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a presença e a distribuição de células secretoras de muco nos tecidos do coral *Seriatopora caliendrum* por meio de técnicas histoquímicas (PAS e Alcian Blue), a fim de investigar se a exposição ao filtro solar BP-3, durante 96 horas, promoveu alterações na produção e na composição do muco.

Material e Métodos

Mudas de *Seriatopora caliendrum* foram aclimatadas por sete dias em tanques (sete aquários de vidro de 7 L com água do mar reconstituída), mantidos em banho-maria com aquecedor AQUAEL platinum® (100 W). O fluxo de água (1000 L/h) foi garantido por uma bomba SarloBetter®, e os parâmetros foram monitorados diariamente: salinidade (34 ppt), temperatura (26 °C), pH (8,2) e alcalinidade. A renovação da água foi total a cada 24 horas. A iluminação foi mantida com luminária ForFish® em intensidade de 80 ± 90 µmol quanta/m²/s.

Os grupos experimentais foram constituídos por Controle, Controle do solvente (DMSO 0,3%) e BP-3 nas concentrações de 0,3; 1,3; 2,5; 5 e 10 mg/L. Cada grupo foi replicado, com oito amostras de coral por tanque (n=8; N=56). A exposição durou 96 horas, após as quais amostras dos corais foram separadas e congeladas em ultrafreezer (–80 °C) para posterior análise.

As amostras foram fixadas em solução de paraformol 4% em água do mar e, em seguida, submetidas ao processo de descalcificação com ácido fórmico 5% a fim de remover o esqueleto calcário. Após a descalcificação, os fragmentos foram desidratados ao procedimento histológico padrão e posteriormente seccionados em micrótomo automático, com espessura de 7µm.

A coloração com Ácido Periódico de Schiff (PAS) foi utilizada para identificar glicoproteínas neutras. O Alcian Blue (pH 2,5) foi utilizada para detectar mucinas ácidas. A análise das lâminas foi realizada em microscópio de luz, no aumento de 400×, avaliando a intensidade da reação histoquímica de maneira semi-quantitativa. Seguindo o método aplicado por Marinsek et al. 2016 [8], foi adotada a seguinte escala: (–) para ausência de reação; (+) para reação discreta; (++) para reação moderada; e (+++) para reação intensa.

Resultados

Durante o experimento (Tabela 1), a concentração de 5 mg/L resultou em grande perda de tecido, reduzindo o número de organismos disponíveis para análise. Nesse grupo, apenas dois indivíduos puderam ser avaliados, enquanto nos demais tratamentos foram analisados cinco organismos. Já na concentração de 10 mg/L, não foi possível realizar a análise, pois não restou tecido suficiente devido ao branqueamento.

Tabela 1. Técnicas histoquímicas aplicadas no coral *Seriatopora caliendrum* submetido a diferentes concentrações de Benzofenona-3 (BP-3).

	TRATAMENTOS					
Mucócitos	**Controle**	**DMSO**	**0,3 mg/L**	**1,3 mg/L**	**2,5 mg/L**	**5 mg/L**
PAS +	+++	+++	+++	++	+	-

AB +	-	+	+	+	+	++

A análise da densidade de mucócitos dos corais revelou diferenças entre os tratamentos ao longo da exposição à BP-3. No controle água e controle solvente (DMSO), foi possível visualizar a presença de glicoproteínas em maior densidade (PAS: +++) quando comparado aos tratamentos. A exposição a 0,3 mg/L não promoveu alterações evidentes, mantendo padrão semelhante ao controle (PAS: +++). Já em 1,3 mg/L foi observado um leve declínio na coloração (PAS: ++), que se acentuou em 2,5 mg/L (PAS: +) e culminou na perda quase total em 5 mg/L (PAS: –).

A densidade de células AB+ (pH 2,5) indicou aumento progressivo de acordo com a concentração do contaminante. Enquanto os organismos do grupo controle apresentaram resposta mínima ou ausente, os tratamentos expostos apresentaram intensificação crescente, alcançando maior intensidade em 5 mg/L (AB: ++).

Discussão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a BP-3 exerce efeitos fisiológicos na produção de muco no coral *Seriatopora caliendrum*. Concentrações elevadas como 5 mg/L resultaram em intensa perda de tecido, reduzindo o número de organismos disponíveis para análise, enquanto em 10 mg/L não foi possível avaliar devido à completa ausência de tecido preservado e esses resultados corroboram com o estudo de Conway et al. 2021 [6], que observaram 100% de mortalidade em *Galaxea fascicularis* exposta a 10 mg/L de oxibenzona por 96 horas, evidenciando sua alta toxicidade em corais adultos.

Nas concentrações intermediárias (0,3 a 2,5 mg/L), observaram-se alterações histoquímicas significativas. A redução da densidade de células PAS+ indica uma menor presença de glicoproteínas neutras, componentes essenciais do muco coralíneo, o qual atua tanto na defesa contra microrganismos quanto na nutrição dos tecidos [9]. As mudanças na densidade de células AB+ sugerem desequilíbrios na produção de mucosubstâncias ácidas, que participam da manutenção da homeostase do organismo. Assim, mesmo em níveis subletais, a BP-3 compromete funções fundamentais associadas ao muco, podendo afetar diretamente a saúde e a resiliência do coral.

A exposição crescente ao fotobranqueador promoveu uma mudança clara no perfil mucoso dos corais, caracterizada pela redução progressiva de mucócitos produtores de mucinas neutras (PAS+) e pelo aumento gradual de mucinas ácidas (AB+). Esse padrão sugere

inicialmente uma resposta adaptativa do epitélio, uma vez que mucinas sulfatadas e carboxiladas (ácidas) apresentam maior capacidade de hidratação e aprisionamento de partículas e espécies reativas de oxigênio (ROS) [9]. Contudo, em doses mais elevadas observou-se um esgotamento dos mucócitos neutros, resultado compatível com estresse citotóxico. O pico de células AB+ em 5 mg/L sugere uma possível reprogramação secretória, cenário coerente com estresse oxidativo intenso e disfunção da simbiose em condições associadas ao branqueamento coralíneo [10]. A resposta observada é consistente com outros estudos que apontam efeitos subletais da oxibenzona em diferentes espécies corais como observado por Downs et al. 2016 [11] reportaram branqueamento em *Stylophora pistillata*, mas não tem muitos estudos que observem a alteração do muco em resposta a exposição de fotoprotetores e é importante destacar que existem diferenças fisiológicas, composição do muco e características da microbiota diferentes associada a cada espécie [9]. No caso de *S. caliendrum*, a perda gradual de tecido e as alterações nos padrões histoquímicos indicam uma sensibilidade preocupante ao contaminante.

Do ponto de vista ecológico, os resultados reforçam a preocupação com a presença de filtros solares em áreas recifais, principalmente em regiões turísticas onde já foram reportadas concentrações de BP-3. A redução na produção de muco e a consequente perda de barreiras protetoras podem aumentar a vulnerabilidade dos corais a infecções, estressores ambientais adicionais e levando ao branqueamento. Dessa forma, ainda que os níveis mais elevados de toxicidade observados em laboratório não sejam comuns no ambiente, os impactos cumulativos e crônicos de concentrações menores não podem ser negligenciados.

Conclusões

Os resultados demonstram que a BP-3 exerce efeitos tóxicos significativos sobre o coral *Seriatopora caliendrum*, com perda total de tecido em concentrações elevadas e alterações histoquímicas em níveis subletais. A alteração da densidade de células PAS+ e AB+ evidencia comprometimento na produção de mucos e glicoproteínas, componentes fundamentais para a proteção, nutrição e resiliência dos corais. Esses achados reforçam a preocupação quanto à presença de filtros solares em ambientes recifais, principalmente em áreas de atividade turística, e destacam a necessidade de políticas de manejo e alternativas ecologicamente seguras para produção de fotoprotetores, também a necessidade de ampliar os estudos voltados especificamente para o muco, componente ainda pouco explorado na literatura.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

1. DITZEL, P.; KÖNIG, S.; MUSEMBI, P.; PETERS, M. K. **Correlation between coral reef condition and the diversity and abundance of fishes and sea urchins on an East African coral reef**. *Oceans*, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/oceans3010001.
2. WATKINS, Y.; SALLACH, J. **Investigating the exposure and impact of chemical UV filters on coral reef ecosystems: review and research gap prioritization.** *Integrated Environmental Assessment and Management*, v. 17, 2021. DOI: 10.1002/ieam.4411. Disponível em: https://doi.org/10.1002/ieam.4411.
3. FIDLER, R.Y., ANDRADI-BROWN, D.A., AWALUDINNOER, *et al.* **The importance of biophysical context in understanding marine protected area outcomes for coral reef fish populations**. *Coral Reefs* 40, 791–805 (2021). Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00338-021-02085-y.
4. A HE, TANGTIAN; TSUI, MIRABELLE M. P.; MAYFIELD, ANDERSON B.; LIU, PI-JEN; CHEN, TE-HAO; WANG, LI-HSUEH; FAN, TUNG-YUNG; LAM, PAUL K. S.; MURPHY, MARGARET B. **Organic ultraviolet filter mixture promotes bleaching of reef corals upon the threat of elevated seawater temperature**. *Science of The Total Environment*, v. 876, p. 162744, 2023. ISSN 0048-9697. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162744.
5. MILLER, I. B.; PAWLOWSKI, S.; KELLERMANN, M. Y. et al. **Toxic effects of UV filters from sunscreens on coral reefs revisited: regulatory aspects for "reef safe" products**. *Environmental Sciences Europe*, v. 33, p. 74, 2021. DOI: https://doi.org/10.1186/s12302-021-00515-w.
6. CONWAY, A. J.; GONSIOR, M.; CLARK, C.; HEYES, A.; MITCHELMORE, C. L. **Acute toxicity of the UV filter oxybenzone to the coral *Galaxea fascicularis***. *Science of The Total Environment*, v. 796, p. 148666, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148666.
7. GLASL, B.; HERNDL, G. J.; FRADE, P. R. **The microbiome of coral surface mucus has a key role in mediating holobiont health and survival upon disturbance**. *The ISME Journal*, v. 10, n. 9, p. 2280–2292, 2016. DOI: https://doi.org/10.1038/ismej.2016.9.
8. MARINSEK, G. P.; VILIOD, M.; MARI, R.. **Ecomorphology of the digestive tract of the Brazilian electric ray *Narcine brasiliensis* (Olfers, 1831) (Torpediniformes: Narcinidae)**. *Acta Zoologica*, v. 98, p, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1111/azo.12168.
9. BROWN, B.; BYTHELL, J. **Perspectives on mucus secretion in reef corals.** *Marine Ecology Progress Series*, v. 296, p. 291–309, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.3354/meps296291.
10. OAKLEY, C. A. et al. Thermal shock induces host proteostasis disruption and endoplasmic reticulum stress in the model symbiotic cnidarian Aiptasia. Journal of Proteome Research, Washington, v. 16, n. 6, p. 2121-2134, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00797.
11. Downs, C. A.; Kramarsky-Winter, E.; Segal, R.; Fauth, J.; Knutson, S.; Bronstein, O.; Ciner, F. R.; Jeger, R.; Lichtenfeld, Y.; Woodley, C. M.; Pennington, P.; Cadenas, K.;

Kushmaro, A.; Loya, Y. **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, fev. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00244-015-0227-7.