ISSN:2594-6153

Avaliação hematológica em *Sphoeroides testudineus* de regiões estuarinas sob diferentes níveis de influência antropogênica

Thamiris Silva Gomes[1], Marthe Monique Gagnon[2], Graham L. Cobby[2], Gabriela Pustiglione Marinsek[1,3], Milena Ramires[1], Marco Tadeu Grassi [5], Lincoln Gabriel Santiago de Aquino[5], Gustavo A. Loch[5], Helen Sadauskas-Henrique[1,4]

[1]Universidade Santa Cecília, Santos, São Paulo, Brasil; [2]Universidade de Curtin, Austrália;
[3]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), São Vicente, São Paulo, Brasil;
[4]Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, São Paulo, Brasil;
[5]Universidade Federal do Paraná (UFPR), Centro Politécnico, Curitiba, Paraná, Brasil

E-mail: thamirissgomess@gmail.com

Resumo: Ambientes estuarinos e costeiros podem apresentar diferentes níveis de interferência antropogênica e contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). O baiacu-pintado (*Sphoeroides testudineus*) ocorre em ambientes marinhos e estuarinos e tem sido utilizado em estudos ecotoxicológicos. Este estudo teve como objetivo comparar os parâmetros hematológicos (eritrograma e números totais de leucócitos e trombócitos) de *S. testudineus*, bem como as concentrações de HPAs prioritários nos sedimentos, entre o canal do Porto de Santos, considerado ambiente poluído, e a Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Barra do Una, utilizada como área de referência. Seis HPAs foram detectados exclusivamente nas amostras de sedimento do canal do Porto de Santos, com concentração total (ΣHPAs) de 447,2 ± 226,3 μg kg^{-1}. Os peixes coletados nesse local apresentaram leucopenia e trombocitose em comparação aos indivíduos da RDS Barra do Una, enquanto não foram observadas alterações no eritrograma. Os resultados evidenciam diferenças nas condições ambientais entre as áreas estudadas e reforçam a aplicação integrada de parâmetros hematológicos e análises de contaminantes na avaliação da qualidade ambiental.

Palavras-chave: *Sphoeroides testudineus*; Hematologia; Peixes; Biomarcadores; Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos; Monitoramento Ambiental.

Hematological and polycyclic aromatic hydrocarbon assessment in *Sphoeroides testudineus* from different estuarine regions

Abstract: Estuarine and coastal environments may exhibit different levels of anthropogenic disturbance and contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The checkered pufferfish (*Sphoeroides testudineus*) inhabits marine and estuarine environments and has been used in ecotoxicological studies. This study aimed to compare the hematological parameters (erythrogram and total leukocyte and thrombocyte counts) of *S. testudineus*, as well as the concentrations of priority PAHs in sediments, between the Santos Port Channel, considered a polluted environment, and the Barra do Una Sustainable Development Reserve (SDR), used as a reference area. Six PAHs were detected exclusively in sediment samples from the Santos Port Channel, with a total concentration (ΣPAHs) of 447.2 ± 226.3 μg kg^{-1}. Fish collected at this site exhibited leukopenia and thrombocytosis compared with individuals from the Barra do Una SDR, whereas no changes were observed in the erythrogram. These findings demonstrate differences in environmental conditions between the studied areas and support the integrated use of hematological parameters and contaminant analyses to assess environmental quality.

Keywords: *Sphoeroides testudineus*; Hematology; Fish; Biomarkers; Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; Environmental Monitoring.

Introdução

As regiões costeiras apresentam elevada ocupação humana e intensa atividade econômica. Nesse contexto, os estuários possuem grande importância ecológica e socioeconômica por sua diversidade de habitats, organismos e serviços ecossistêmicos [1]. Seus sedimentos podem acumular contaminantes, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) [2] compostos formados por dois ou mais anéis aromáticos fundidos, originados principalmente da queima de petróleo e derivados, biomassa e carvão e de emissões veiculares, os HPAs são poluentes prioritários devido aos seus efeitos carcinogênicos, mutagênicos, narcóticos e genotóxicos [3].

O Porto de Santos, maior porto da América Latina, recebe efluentes domésticos, resíduos de embarcações e do polo industrial de Cubatão [4]. Em contraste, a Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Barra do Una, em Peruíbe, integra o Mosaico de Unidades de Conservação Juréia-Itatins, uma das áreas mais conservadas da Mata Atlântica [5,6]. *Sphoeroides testudineus* é amplamente distribuído no Atlântico Ocidental e ocorre no estuário do Rio Una e no Sistema Estuarino Santos–São Vicente, permitindo comparações entre locais com diferentes interferências ambientais [4,6]. Seu hábito não migratório e a permanência na mesma região durante o ciclo de vida podem favorecer a exposição contínua a ambientes poluídos [7].

Na toxicologia de peixes, o eritrograma e o leucograma são bioindicadores sensíveis e de resposta rápida a impactos ambientais [8]. O eritrograma informa sobre anemia e transporte de oxigênio, enquanto o leucograma avalia respostas imunes e alterações nos trombócitos podem indicar desafios à homeostase [9]. Assim, a análise conjunta dos HPAs no sedimento e dos parâmetros hematológicos permite caracterizar as condições ambientais e avaliar as respostas de *S. testudineus* às diferentes interferências ambientais.

Objetivos

O presente estudo avaliou a saúde ambiental de dois estuários costeiros (Porto de Santos, sob influência de atividades antropogênicas, e RDS Barra do Una, uma área protegida) por meio da análise de HPAs prioritários no sedimento e de parâmetros hematológicos de *S. testudineus*: hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hb), número de eritrócitos (RBC), índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) e números totais de leucócitos e trombócitos.

Material e Métodos

Exemplares de *S. testudineus* foram capturados com armadilhas no canal do Porto de Santos (n = 11) e na RDS Barra do Una (n = 10). Os peixes foram anestesiados com benzocaína (1 g L^{-1}), eutanasiados por secção medular, pesados, medidos e submetidos à coleta sanguínea. Os eritrócitos (RBC) foram contados em câmara de Neubauer, após diluição em formol-citrato (1:200). A hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometa-hemoglobina [11] e o hematócrito (Ht), pelo método do micro-hematócrito. Os índices VCM, HCM e CHCM foram calculados conforme Brown (1976) [12]. Leucócitos e trombócitos foram quantificados em extensões sanguíneas, com identificação de 2.000 células por amostra.

As amostras de sedimento do canal do Porto de Santos (n = 3) e RDS Barra do Una (n = 2) foram congeladas, liofilizadas, trituradas e homogeneizadas. Os HPAs foram extraídos com acetonitrila e diclorometano (1:5, v/v), utilizando padrão *surrogate*, e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Os resultados foram comparados aos valores orientadores da Resolução CONAMA nº 454/2012 [13]. As concentrações foram expressas em µg kg^{-1} de sedimento seco.

As diferenças entre os locais foram avaliadas pelo teste *t* de Student, considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Foram detectados seis HPAs apenas no sedimento do local contaminado, com ΣHPA de 447,2 ± 226,3 µg kg^{-1}. Os compostos com valores de referência permaneceram abaixo do Nível 1 da Resolução CONAMA nº 454/2012.

Tabela 1: Concentrações de HPAs (µg kg^{-1}) no sedimento (média ± erro padrão) da RDS Barra do Una (referência) e canal do Porto de Santos (poluído) comparadas aos Níveis 1 e 2 da Resolução CONAMA nº 454/2012. ΣHPA = somatório dos HPAs detectados.

HPA	Referência	Contaminado	CONAMA 454/2012	
	(µg kg^{-1})		Nível 1	Nível 2
Fenantreno (PHE)	<LOD	95,9 ± 11,5	240	1500
Fluoranteno (FLT)	<LOD	182,8 ± 154,0	600	5100
Pireno (PYR)	<LOD	104,1 ± 53,0	665	2600
Benzo[k]fluoranteno (BkF)	<LOD	29,1 ± 8,7	–	–
Benzo[a]pireno (BaP)	<LOD	146,3 ± 25,1	230	760
Benzo[ghi]perileno (BghiP)	<LOD	<LOD	–	–
ΣHPA	**-**	**447,2 ± 226,3**	–	–

Nota: <LOD = concentração abaixo do limite de detecção **(µg kg⁻¹):** PHE = 2,5; FLT = 3,6; PYR = 2,7; BbF = 4,5; BkF = 5,6; BaP = 3,6.

Não foram observadas alterações no eritrograma (Figura 1). No entanto, os espécimes coletados no canal do Porto de Santos apresentaram leucopenia e trombocitose (Figura 2).

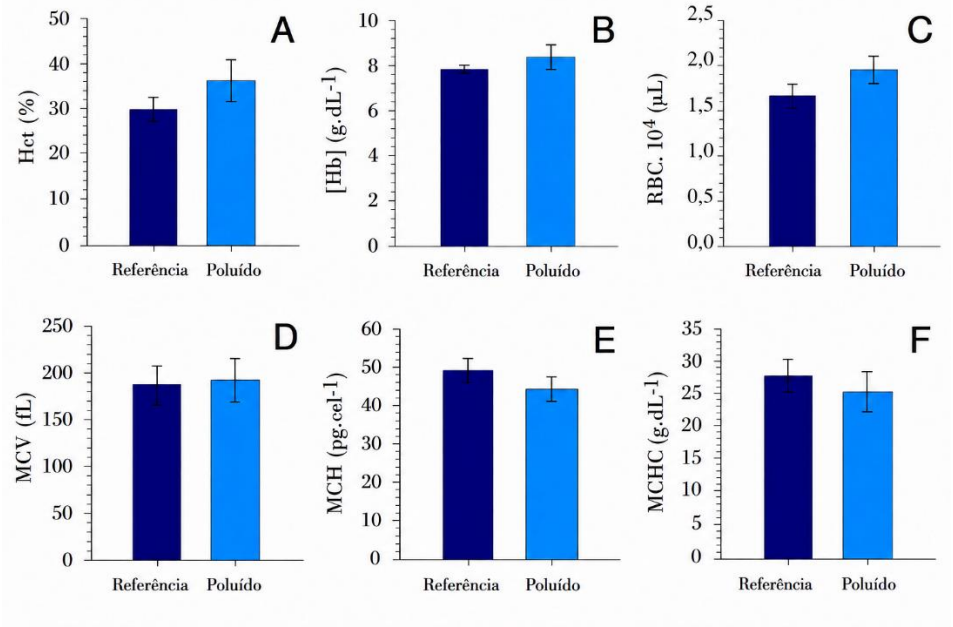


Figura 1. Eritrograma (média ± erro padrão) em *S. testudineus* coletados na RDS Barra do Una (referência) e canal do Porto de Santos (poluído).

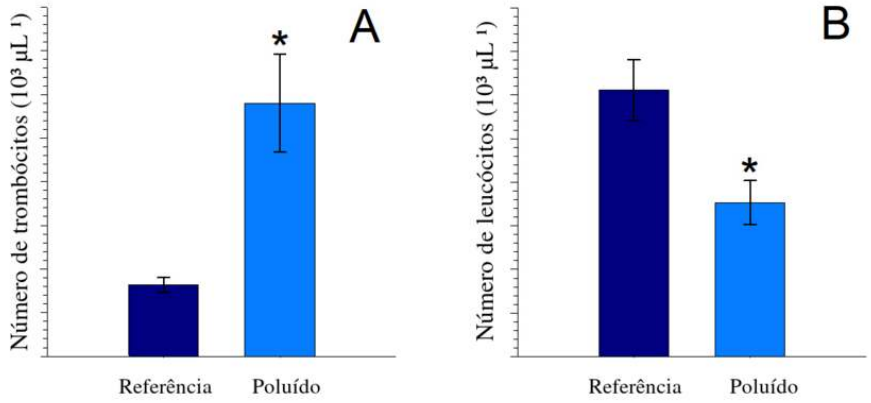


Figura 2. Número total de leucócitos (média ± erro padrão) em *S. testudineus* coletados na RDS Barra do Una (referência) e canal do Porto de Santos (poluído). * indica diferença significativa.

Discussão

Os HPAs foram detectados apenas nos sedimentos do local poluído, abaixo dos valores orientadores [4]. Esse resultado é compatível com a maior influência urbana, industrial e portuária do Porto de Santos [2,3]. A leucopenia pode indicar alteração da resposta

imunológica, enquanto a trombocitose pode estar relacionada a respostas de defesa, inflamação e manutenção da homeostase. Essas alterações podem ocorrer diante de diferentes condições ambientais e formas de estresse [10,11]. Por outro lado, a ausência de diferenças no eritrograma indica que o número de eritrócitos, o hematócrito, a concentração de hemoglobina e os índices hematimétricos não foram alterados entre os locais.

Conclusões

Os resultados evidenciam diferenças entre as condições ambientais dos locais e reforçam o uso de parâmetros hematológicos e contaminantes na caracterização ambiental.

Agradecimentos: Curtin University, Capitania dos Portos de Santos, CAPES (código 001) e CNPq.

Referências

1 Rotundo MM, Gaulia LA, Cardoso GS, Carminatto AA, et al. Ichthyofauna from Santos-São Vincente upper estuary: a study before and during fire at Santos port terminal. Res Soc Dev. 2020;9(10):e6269108901.
2 Souza AC, Lube GV, Jarcovis RDL, et al. A comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian coastal environments. Mar Pollut Bull. 2024;202:116304.
3 Taboada Timoszczuk C, Taniguchi S, et al. Organic biomarkers as indicators of urban, industrial and sewage contamination in a highly impacted subtropical estuary (SE Brazil). Reg Stud Mar Sci. 2026;93:104698.
4 Marinsek GP, Ribeiro CC, Gusso-Choueri PK, et al. Multiple biomarkers in pufferfish as a proxy of environmental health in Brazilian marine protected areas. Sci Total Environ. 2024;914:169742.
5 Ramires M, Barrella W, Carminatto AA, et al. Recreational fishing in the Barra do Una Sustainable Development Reserve: subsidies for the integrated management of the Mosaic of Conservation Units Juréia-Itatins, São Paulo, Brazil. Rev Bras Cienc Ambient. 2023;58(2):283-292.
6 Gonçalves ARN, Marinsek GP, Abessa DMS, et al. Adaptative responses of myenteric neurons of *S. testudineus* to environmental pollution. Neurotoxicology. 2020;76:84-92.
7 Marinsek GP, Gusso-Choueri PK, Choueri RB, et al. Integrated analysis of fish intestine biomarkers: complementary tools for pollution assessment. Mar Pollut Bull. 2022;178:113590.
8 Fagundes KRC, Rotundo MM, Mari RB. Morphological and histochemical characterization of the digestive tract of the puffer fish Sphoeroides testudineus (Linnaeus 1758) (Tetraodontiformes: Tetraodontidae). An Acad Bras Cienc. 2016;88(3 Suppl):1615-1624.
9 Witeska M, Kondera E, Bojarski B. Hematological and hematopoietic analysis in fish toxicology: a review. Animals. 2023;13(16):2625. doi:10.3390/ani13162625.
10 Ranzani-Paiva MJT, Tavares-Dias M. Fish hematology in Brazil: a review. Bol Inst Pesca. 2024;50:e914. doi:10.20950/1678-2305/bip.2024.50.e914.
11 van Kampen EJ, Zijlstra WG. Standardization of hemoglobinometry. In: Boroviczeny CG, editor. Erythrocytometric methods and their standardization. Bibliotheca Hematológica. 1964;18:68-72.
12 Brown BA. Hematology: principles and procedures. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1976.

13 Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 454, de 1º de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Diário Oficial da União. 2012 Nov 8; Seção 1:66-68.