ISSN:2594-6153

Avaliação de estuários costeiros utilizando o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) como indicador da qualidade ambiental

Giulia Maneira De Prá[1], Marthe Monique Gagnon[2], Milena Ramires[1], Camilo Dias Seabra Pereira[1,6], Marco Tadeu Grassi [5], Gustavo Loch[5], Lincoln Aquino [5], Gabriela Pustiglione Marinsek[1,3], 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
[6] Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Santos, São Paulo, Brasil.

E-mail: giu.maneira@gmail.com

Resumo: Estuários costeiros estão sujeitos a pressões antropogênicas que podem afetar a biota. O objetivo deste estudo foi avaliar a saúde ambiental do Porto de Santos-SP (contaminado) e da Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Barra do Una (referência), utilizando o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) como indicador da qualidade ambiental. Foram analisados HPAs no sedimento e biomarcadores hepáticos (proteínas carboniladas, peroxidação lipídica e danos ao DNA). Foram detectados HPAs no Porto de Santos, enquanto nenhum foi detectado na RDS Barra do Una. Proteínas carboniladas e peroxidação lipídica foram maiores no local contaminado, enquanto os danos ao DNA não diferiram entre os locais. Os resultados indicam maior estresse oxidativo no local contaminado.

Palavras-chave: Robalo-peva; Biomarcadores; Estresse oxidativo; Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; Monitoramento ambiental.

Assessment of the environmental health of coastal estuaries using the common snook (*Centropomus parallelus*) as a sentinel fish species

Abstract: Coastal estuaries are subject to anthropogenic pressures that can affect biota. This study aimed to assess the environmental health of the Port of Santos, SP (contaminated), and the Barra do Una Sustainable Development Reserve (RDS) (reference), using the fat snook (*Centropomus parallelus*) as an indicator of environmental quality. PAHs in sediment and hepatic biomarkers (protein carbonylation, lipid peroxidation, and DNA damage) were analyzed. PAHs were detected in the Port of Santos, whereas none were detected in the RDS Barra do Una. Protein carbonylation and lipid peroxidation were higher at the contaminated site, while DNA damage did not differ between sites. The results indicate greater oxidative stress at the contaminated site.

Keywords: Common snook; Biomarkers; Oxidative stress; Polycyclic aromatic hydrocarbons; Environmental monitoring.

Introdução

Os estuários apresentam elevada importância ecológica e socioeconômica, mas estão sujeitos à entrada de contaminantes provenientes de atividades urbanas, portuárias e industriais [1-3]. O estuário de Santos sofre intensa pressão antrópica devido à presença de complexos industriais, refinarias, terminais portuários e áreas urbanizadas [4]. Nesse ambiente, destacam-se os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), associados ao petróleo e à combustão incompleta de biomassa. Por sua afinidade com partículas e matéria orgânica, esses compostos tendem a se acumular nos sedimentos e podem provocar alterações fisiológicas e bioquímicas nos organismos aquáticos [5-7].

Os peixes são amplamente utilizados no monitoramento ambiental por responderem à exposição a contaminantes em diferentes níveis biológicos [6]. No fígado, a metabolização dos HPAs pode gerar compostos reativos e espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo e danos a lipídios, proteínas e DNA [5-9]. O robalo-peva (*Centropomus parallelus*) apresenta características ecológicas que favorecem seu uso como bioindicador [10, 11]. Assim, a análise conjunta de HPAs nos sedimentos e de biomarcadores hepáticos permite avaliar a qualidade de estuários submetidos a diferentes níveis de influência antrópica.

Objetivos

Avaliar a saúde ambiental de dois estuários costeiros com diferentes graus de influência antropogênica (RDS Barra do Una e canal do Porto de Santos) por meio da determinação de HPAs prioritários no sedimento e de biomarcadores de estresse oxidativo no fígado do robalo-peva (*Centropomus parallelus*).

Material e Métodos

As coletas foram realizadas em dois estuários do litoral de São Paulo: (i) no canal do Porto de Santos, na região da Capitania dos Portos, caracterizada por atividades portuárias, industriais e urbanas e pela ocorrência de contaminantes em sedimentos e na biota [4]; e (ii) na RDS Barra do Una, no litoral sul do estado, uma unidade de conservação com extensas áreas de manguezais e elevada diversidade biológica, utilizada como área de referência em estudos ecotoxicológicos [12].

Exemplares de *C. parallelus* foram coletados com auxílio de uma vara e anzol equipado com iscas artificiais. Após a captura, os animais foram anestesiados em solução de benzocaína (1 g L^{-1}) e eutanasiados através de secção medular com bisturi cirúrgico. Logo, os animais foram medidos e pesados e o fígado removido e congelado em nitrogênio líquido até a realização das análises em laboratório. A peroxidação lipídica foi determinada pela concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo Kei (1978) [13]. As proteínas carboniladas foram quantificadas pela reação com 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH), conforme Levine et al. (1994) [14], enquanto os danos ao DNA foram determinados pela técnica de precipitação alcalina, segundo Olive (1988) [15]. As concentrações foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas totais, determinado pelo método de Bradford (1976) [16].

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 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 e Discussão

Os resultados evidenciaram diferenças entre os locais quanto à presença de HPAs no sedimento e às respostas biológicas do robalo-peva. Conforme a Tabela 1, nenhum HPA foi detectado na área de referência (RDS Barra do Una). Na área contaminada (Porto de Santos-SP), fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[k]fluoranteno e benzo[a]pireno apresentaram concentrações quantificáveis. Benzo[a]antraceno apresentou concentração <LOQ, enquanto naftaleno, acenafteno, fluoreno, antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno e benzo[g,h,i]perileno ficaram <LOD. O indeno[1,2,3-cd]pireno foi detectado em uma única amostra (45,6 µg kg^{-1}). Os compostos com valores orientadores permaneceram abaixo do Nível 1 da Resolução CONAMA nº 454/2012.

Entre os HPAs quantificados, fluoranteno, benzo[a]pireno e pireno apresentaram as maiores concentrações. O ΣHPA foi de 447,2 µg kg^{-1} (447,2 ng g^{-1}), valor classificado como

moderado segundo a classificação proposta na literatura [17]. A presença desses compostos pode estar relacionada a atividades portuárias e urbanas, incluindo derivados de petróleo, combustão e escoamento urbano [18].

Os organismos da área contaminada apresentaram maiores níveis de peroxidação lipídica e proteínas carboniladas em comparação à área de referência ($p < 0,05$), enquanto os danos ao DNA foram elevados em ambos os locais, sem diferença estatística (**Figura 1**). Sadauskas-Henrique et al. [8] observaram padrão semelhante de aumento da peroxidação lipídica em peixes expostos a derivados de petróleo, reforçando a relação entre essa resposta e a exposição a contaminantes.

Tabela 1. Concentrações dos HPAs prioritários em sedimentos das áreas de referência (RDS Barra do Una) e poluído (Porto de Santos-SP), expressas em média ± erro-padrão (µg kg⁻¹), comparadas aos Níveis 1 e 2 da Resolução CONAMA nº 454/2012 para sedimentos de águas salinas e salobras. ΣHPA = somatório dos HPAs detectados.

HPA	**Referência**	**Poluído**	CONAMA 454/2012	
	µg kg⁻¹		**Nível 1**	**Nível 2**
Fenantreno	<LOD	95,9 ± 11,5	240	1500
Fluoranteno	<LOD	182,8 ± 154,0	600	5100
Pireno	<LOD	104,1 ± 53,0	665	2600
Benzo[b]fluoranteno	<LOD	41,6 ± 34,0	–	–
Benzo[k]fluoranteno	<LOD	29,1 ± 8,7	–	–
Benzo[a]pireno	<LOD	146,3 ± 25,1	230	760
ΣHPA	**-**	**447,2 ± 226,3**	–	–

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

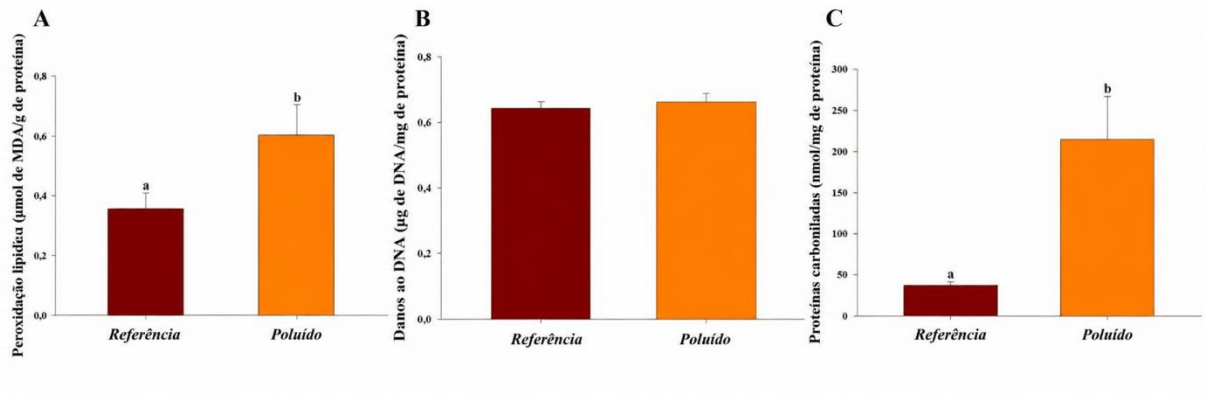

Figura 1. Biomarcadores de estresse oxidativo (média ± erro-padrão) no fígado de *C. parallelus* coletado nas áreas de referência (RDS Barra do Una) e poluído (Porto de Santos-SP). (A) Peroxidação lipídica; (B) danos ao DNA; (C) proteínas carboniladas. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os locais ($p < 0,05$).

Conclusão

A área portuária de Santos apresentou maior contaminação por HPAs, associada a danos oxidativos em proteínas e lipídios do robalo-peva. Na RDS Barra do Una, esses compostos não foram detectados e os peixes apresentaram menores danos oxidativos, indicando melhores condições ambientais e fisiológicas.

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

Referência

1. Alberto, A.; Camargo, A. F. M.; Verani, J. R.; Costa, O. F. T.; Fernandes, M. N. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 61, n. 2, p. 247–255, 2005.
2. Amado, L. L.; Robaldo, R. B.; Geracitano, L.; Monserrat, J. M.; Bianchini, A. Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, v. 52, n. 2, p. 207–213, 2006.
3. Sadauskas-Henrique, H.; Duarte, R. M.; Gagnon, M. M.; Almeida-Val, V. M. F. Validation of a suite of biomarkers of fish health in the tropical bioindicator species, tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Ecological Indicators*, v. 73, p. 443–451, 2017.
4. Albergaria-Barbosa, A. C. R.; Silva, D. A. M.; Rocha, A. J. S.; Taniguchi, S.; Patire, V. F.; Dias, J. F.; Fernandez, W. S.; Bícego, M. C. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons bioavailability on Santos Bay (Brazil) through levels of biliary metabolites. *Marine Pollution Bulletin*, v. 129, n. 2, p. 822–828, 2018.
5. Duarte, I. A.; Reis-Santos, P.; França, S.; Cabral, H.; Fonseca, V. F. Biomarker responses to environmental contamination in estuaries: a comparative multi-taxa approach. *Aquatic Toxicology*, v. 189, p. 31–41, 2017.
6. Van Der Oost, R.; Beyer, J.; Vermeulen, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 13, n. 2, p. 57–149, 2003.
7. Pinheiro, P. P. O.; Massone, C. G.; Carreira, R. S. Distribution, sources and toxicity potential of hydrocarbons in harbor sediments: a regional assessment in SE Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v. 120, n. 1–2, p. 6–17, 2017.
8. Sadauskas-Henrique, H.; Braz-Mota, S.; Campos, D. F.; Barroso, H. S.; Kochhann, D.; Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F. Oil spill in an Amazon blackwater environment: biochemical and physiological responses of local fish species. *Environmental Research*, v. 250, 118347, 2024.
9. Bravo, C. F.; Curtis, L. R.; Myers, M. S.; Meador, J. P.; Johnson, L. L.; Buzitis, J.; Collier, T. K.; Morrow, J. D.; Laetz, C. A.; Loge, F. J.; Arkoosh, M. R. Biomarker responses and disease susceptibility in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed

a high molecular weight PAH mixture. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 30, n. 3, p. 704–714, 2011.

10. Chaves, P. De T. Da C.; Nogueira, A. B. Biologia reprodutiva do robalo-peva, *Centropomus parallelus* (Teleostei), na Baía de Guaratuba (Brasil). *Acta Biológica Paranaense*, Curitiba, v. 47, p. 69–84, 2018.
11. Oliveira Ribeiro, C. A.; Souza, I. C.; Duarte, I. D.; Pimentel, N. Q.; Rocha, L. D.; Morozesk, M.; Bonomo, M. M.; Azevedo, V. C.; Pereira, C. D. S.; Monferrán, M. V.; Milanez, C. R. D.; Matsumoto, S. T.; Wunderlin, D. A.; Fernandes, M. N. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. *Environmental Pollution*, v. 180, p. 136–144, 2013.
12. Barreto, T. M. R. R.; Carminatto, A. A.; Souza, T. R.; Silva, F. S. P.; Barrella, W.; Ramires, M. Caracterização físico-química do estuário de Barra do Una, Peruíbe/SP. *Anais do Encontro Nacional de Pós-graduação*, v. 2, n. 1, 2018.
13. Kei, S. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clínica Chimica Acta*, v. 90, n. 1, p. 37–43, 1978.
14. Levine, R. L.; Williams, J. A.; Stadtman, E. R.; Shacter, E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, v. 233, p. 346–357, 1994.
15. Olive, P. L. DNA precipitation assay: a rapid and simple method for detecting DNA damage in mammalian cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 11, n. 4, p. 487–495, 1988.
16. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.
17. Baumard, P.; Budzinski, H.; Michon, Q.; Garrigues, P.; Burgeot, T.; Bellocq, J. Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 47, n. 1, p. 77–90, 1998.
18. Abdel-Shafy, H. I.; Mansour, M. S. M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, v. 25, n. 1, p. 107–123, 2016.