ISSN:2594-6153

Interação entre estresse térmico e benzofenona-3 em *Seriatopora caliendrum*: respostas bioquímicas e celulares

Lucas Fiorin de Souza[1]; Giulia Maneira De Prá[1]; Thamiris Silva Gomes[1]; Luis Felipe Barcena Albertoni[3]; Hosana Maria Debonsi[4]; Lorena Rigo Gaspar[4]; Gabriela Pustiglione Marinsek[5]; Luciana Lopes Guimarães[6]; Helen Sadauskas-Henrique[1,2]

[1]Universidade Santa Cecília (Unisanta), Brasil.
[2]Universidade Federal São Carlos (UFSCAR), Brasil.
[3]Coral Cultura LTDA
[4]Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, (Universidade São Paulo).
[5]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Campus
[6]Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais
do Litoral Paulista – São Vicente, SP.

E-mail:ls253344@alunos.unisanta.br

Resumo: Os recifes de coral são ameaçados pelo aumento da temperatura oceânica e por contaminantes emergentes, como o filtro ultravioleta benzofenona-3 (BP-3). Este estudo avaliou os efeitos da exposição aguda (96h) à 50% do valor da EC50-96h da BP-3 (2 mg/L) combinada ao estresse térmico (26°C e 30°C) sobre biomarcadores em *Seriatopora caliendrum*: peroxidação lipídica (TBARS), danos em DNA e estabilidade da membrana lisossomal. A temperatura afetou a peroxidação lipídica, e a estabilidade lisossomal foi afetada pela temperatura, pela BP-3 e pela interação entre ambas ($p<0,001$), indicando sinergismo. Não houve efeito sobre o DNA. A estabilidade lisossomal mostrou-se biomarcador precoce e sensível ao estresse combinado, reforçando riscos cumulativos sob cenários de aquecimento global.

Palavras-chave: Benzofenona-3; Estresse térmico; Seriatopora caliendrum; Estresse oxidativo; Ecotoxicologia marinha.

Interaction between thermal stress and benzophenone-3 in *Seriatopora caliendrum*: biochemical and cellular responses

Abstract: Coral reefs are threatened by rising ocean temperatures and emerging contaminants such as the UV filter benzophenone-3 (BP-3). This study evaluated the effects of chronic exposure (96h) to 50% EC50-96h for BP-3 (2 mg/L) combined with thermal stress (26 and 30 °C) on biomarkers in *Seriatopora caliendrum*: lipid peroxidation (TBARS), DNA damage, and lysosomal membrane stability. Temperature affected lipid peroxidation, and lysosomal stability was affected by temperature, BP-3, and their interaction ($p<0.001$), indicating synergism. No effect was found on DNA. Lysosomal stability proved to be an early, sensitive biomarker of combined stress, reinforcing concerns about cumulative risks under global warming scenarios.

Keywords: Benzophenone-3; Thermal stress; *Seriatopora caliendrum*; Oxidative stress; Marine ecotoxicology.

Introdução

Os recifes de coral estão entre os ecossistemas mais produtivos e biodiversos do planeta, abrigando cerca de 25–33% das espécies marinhas conhecidas, apesar de ocuparem menos de

1% do fundo oceânico [1]. A formação dessas estruturas depende da associação simbiótica entre corais escleractínios e microalgas fotossintéticas da família Symbiodiniaceae, responsável por suprir até 95% das necessidades energéticas do hospedeiro [2].

Esse equilíbrio simbiótico é altamente sensível a alterações ambientais. O aumento da temperatura oceânica é o principal agente do branqueamento coralino em escala global, processo associado à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ao consequente estresse oxidativo celular [1,3].

Além do aquecimento, contaminantes emergentes representam uma ameaça adicional aos recifes. Entre eles, destacam-se os filtros ultravioleta presentes em protetores solares, cuja liberação em ambientes costeiros tem aumentado com o uso recreacional dessas áreas. A benzofenona-3 (BP-3), um dos filtros UV orgânicos mais utilizados, já foi associada a alterações fisiológicas em corais, incluindo redução da eficiência fotossintética das Symbiodiniaceae, aumento de ROS e comprometimento da calcificação [4,5].

O desequilíbrio entre produção de ROS e capacidade antioxidante compromete proteínas, lipídios e DNA, sendo os biomarcadores bioquímicos e celulares ferramentas relevantes para detectar efeitos subletais antes de danos irreversíveis ao organismo [6].

Seriatopora caliendrum (*Pocilloporidae*) é utilizada como organismo-modelo em ecotoxicologia marinha por sua sensibilidade a alterações ambientais. Ainda assim, poucos estudos avaliam os efeitos combinados de contaminantes emergentes e estresse térmico sobre múltiplos biomarcadores nessa espécie, sobretudo em concentrações ambientalmente relevantes.

Objetivos

Avaliar os efeitos da exposição aguda à benzofenona-3 (2 mg/L, 96h), isolada e combinada ao estresse térmico (26°C e 30°C), sobre biomarcadores bioquímicos e celulares de *Seriatopora caliendrum*, especificamente a peroxidação lipídica, os danos em DNA (strand breaks) e a estabilidade da membrana lisossomal.

Material e Métodos

Fragmentos de *S. caliendrum*, doados pela empresa Coral Cultura Ltda., foram aclimatados por sete dias (26°C, salinidade 33 ppt, pH 8,1, alcalinidade 7–8 dKH, fotoperíodo de 8h). Após a aclimatação, os corais foram distribuídos em grupos experimentais em triplicata (N=3 aquários; 8 fragmentos/aquário; N=24 por grupo), submetidos a 96h de exposição aos tratamentos: controle (26°C e 30°C), controle-solvente com DMSO 0,03% (26°C e 30°C) e BP-

3 a 2 mg/L (26°C e 30°C), com renovação diária de 100% da água. A concentração de BP-3 correspondeu a 50% da CE50-96h estimada para a espécie em estudo prévio.

A peroxidação lipídica (TBARS) foi determinada pela reação do malondialdeído com o ácido tiobarbitúrico. Os danos em DNA (strand breaks) foram quantificados por precipitação alcalina, com base na formação de complexos K_2SDS entre DNA e proteínas. A estabilidade da membrana lisossomal foi avaliada pelo tempo de retenção do corante vermelho neutro nas zooxantelas. As diferenças entre os grupos experimentais foram analisadas por ANOVA de dois fatores (temperatura × tratamento), seguida do teste de Tukey ($p<0,05$), nos softwares SigmaStat 3.5 e SigmaPlot 11.0.

Resultados

A concentração de BP-3 dissolvida na água de exposição reduziu ao longo de 24h em ambas as temperaturas avaliadas (perda de aproximadamente 49% a 26°C e 59% a 30°C), confirmando a necessidade da renovação diária adotada para manter a concentração nominal do contaminante.

A peroxidação lipídica (TBARS) foi significativamente afetada pela temperatura, sem efeito do tratamento com BP-3 isoladamente ou da interação entre os fatores. Os danos em DNA (strand breaks) não foram afetados pela temperatura, pelo tratamento com BP-3 nem pela interação entre eles. Já a estabilidade da membrana lisossomal foi significativamente afetada pela temperatura, pela BP-3 e pela interação entre os fatores, evidenciando efeito sinérgico entre o contaminante e o estresse térmico (Tabela 1).

Biomarcador	Temperatura (F; p)	Tratamento (F; p)	Temperatura × Tratamento (F; p)
Peroxidação lipídica (TBARS)	**9,98; 0,003**	0,30; 0,742	2,51; 0,090
Danos em DNA (strand breaks)	1,85; 0,181	1,55; 0,224	0,20; 0,815
Estabilidade da membrana lisossomal	**35,27; <0,001**	**190,84; <0,001**	**17,46; <0,001**

Tabela 1. Resultados da ANOVA de dois fatores (valores de F e p) para os biomarcadores avaliados, considerando os efeitos da temperatura, do tratamento com benzofenona-3 e da interação entre os fatores. Valores em negrito indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

Discussão

A integridade da membrana lisossomal mostrou-se o biomarcador mais sensível aos efeitos combinados da BP-3 e da temperatura, evidenciado pela interação estatisticamente significativa entre os dois fatores ($p<0,001$). Esse resultado indica que o impacto tóxico da BP-3 sobre os lisossomos de *S. caliendrum* é amplificado sob estresse térmico, sugerindo ação sinérgica entre o poluente químico e o aquecimento, de forma semelhante ao observado em outros estudos sobre estresse oxidativo em corais [3,6].

É importante destacar que a concentração efetiva de BP-3 na água sofreu maior degradação a 30°C ao longo da exposição, de modo que os corais mantidos nessa temperatura estiveram, na prática, expostos a uma dose ligeiramente menor do contaminante em comparação ao grupo a 26°C. Ainda assim, o efeito sobre a estabilidade lisossomal foi consideravelmente mais acentuado a 30°C, reforçando que a interação observada reflete um aumento real na sensibilidade biológica ao contaminante sob estresse térmico, e não um artefato de maior exposição.

A peroxidação lipídica foi afetada exclusivamente pela temperatura, sem efeito significativo isolado da BP-3, embora a interação entre os fatores tenha se aproximado do limite de significância ($p=0,09$), sugerindo uma possível tendência de agravamento do estresse oxidativo sob exposição combinada. Esse padrão é compatível com a natureza mais tardia e cumulativa desse biomarcador, cujo efeito pode não se manifestar completamente dentro do período experimental de 96h, ao contrário da estabilidade lisossomal, indicador mais precoce e sensível.

Os danos em DNA não foram impactados por nenhum dos fatores avaliados, sugerindo que os mecanismos de reparo genético podem ter sido suficientes para conter o dano genotóxico no período experimental, ou que a concentração de BP-3 utilizada não foi suficiente para gerar um efeito genotóxico detectável, apesar de já comprometer a integridade da membrana lisossomal, biomarcador reconhecidamente mais sensível e precoce de estresse celular [6].

Em conjunto, os resultados evidenciam uma hierarquia de sensibilidade entre os biomarcadores avaliados: estabilidade da membrana lisossomal > peroxidação lipídica > danos em DNA. Essa hierarquia reforça a estabilidade lisossomal como indicador precoce de estresse combinado, útil para identificar efeitos tóxicos antes que danos mais graves e menos reversíveis ocorram. Do ponto de vista ecológico, esses achados indicam que corais expostos simultaneamente ao aquecimento previsto em cenários de mudanças climáticas [7,8] e à contaminação por filtros UV, como a BP-3, podem estar sujeitos a um risco sinérgico, e não meramente aditivo, ampliando a preocupação quanto aos impactos cumulativos de contaminantes de uso cotidiano sobre ecossistemas recifais já pressionados pelas mudanças climáticas.

Considerações Finais

Os resultados obtidos indicam que a exposição à benzofenona-3 associada ao estresse térmico compromete, de forma sinérgica, a estabilidade da membrana lisossomal de *S. caliendrum*, evidenciando esse biomarcador como indicador precoce e sensível dos efeitos

combinados desses estressores. A peroxidação lipídica foi afetada isoladamente pela temperatura, com tendência de interação com a BP-3, enquanto os danos em DNA não foram alterados no período experimental de 96h. Em conjunto, esses achados sugerem que os efeitos tóxicos da BP-3 sobre corais escleractínios podem ser potencializados por condições de aquecimento, reforçando a preocupação com os impactos cumulativos de contaminantes de uso cotidiano, como os filtros UV, sobre ecossistemas recifais já pressionados pelas mudanças climáticas.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES)- CÓDIGO DE FINANCIAMENTO 001 e com auxílio do Programa/Portaria: PDPG Emergencial de Consolidação Estratégica dos Programas de Pós-graduação stricto sensu acadêmicos – Portaria nº 155, de 10 de agosto de 2022. Processo no 88881.709630/2022-01.

Referências

1. Hoegh-Guldberg O et al. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science. 2007;318(5857):1737-42.
2. Davy SK, Allemand D, Weis VM. Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. Microbiol Mol Biol Rev. 2012;76(2):229-61.
3. Weis VM. Cellular mechanisms of cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. J Exp Biol. 2008;211:3059-66.
4. Mitchelmore CL et al. Sunscreen environmental risk assessment: recommendations for coral reef protection. Environ Toxicol Chem. 2021;40(11):2962-79.
5. Downs CA 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. Arch Environ Contam Toxicol. 2016;70(2):265-88.
6. Lesser MP. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. Annu Rev Physiol. 2006;68:253-78.
7. Hughes TP et al. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. Nature. 2017;543:373-7.
8. IPCC. Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva: IPCC; 2023.