

LEONARDO MANGOLD WINTER

EFEITOS DO GRADIENTE ESTUARINO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO DE  
*Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767) NA BAÍA BABITONGA, SANTA  
CATARINA

JOINVILLE  
2021

**LEONARDO MANGOLD WINTER**

**EFEITOS DO GRADIENTE ESTUARINO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO DE  
*Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767) NA BAÍA BABITONGA, SANTA  
CATARINA**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente. Orientador: Prof. Dr. Luciano Lorenzi. Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Delwing de Lima.

JOINVILLE  
2021

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

W785e	<p>Winter, Leonardo Mangold</p> <p>Efeitos do gradiente estuarino sobre o estresse oxidativo de <i>Anomalocardia flexuosa</i> (Linnaeus, 1767) na Baía Babitonga, Santa Catarina/ Leonardo Mangold Winter; orientador Dr. Luciano Lorenzi; coorientadora Dra. Daniela Delwing de Lima. – Joinville: UNIVILLE, 2021.</p> <p>54 f.: il. ; 30 cm</p> <p>Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)</p> <p>1. Stress oxidativo. 2. Bivalve (Molusco) – Babitonga, Baía de (SC). 3. Salinidade. I. Lorenzi, Luciano (orient.). II. Lima, Daniela Delwing de (coorient.). III. Título.</p> <p>CDD 594.4</p>
-------	--

Termo de Aprovação

“Efeitos do Gradiente Estuarino sobre o Estresse Oxidativo de *Anomalocardia flexuosa*  
(LINNAEUS, 1767) na Baía Babitonga, Santa Catarina”

por

Leonardo Mangold Winter

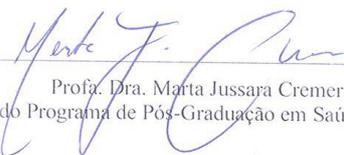
Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dr. Luciano Lorenzi  
Orientador (UNIVILLE)



Dra. Daniela Delwing de Lima  
Coorientadora (UNIVILLE)



Profa. Dra. Marta Jussara Cremer  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

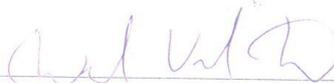
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Luciano Lorenzi  
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Daniela Delwing de Lima  
Coorientadora (UNIVILLE)



Prof. Dr. David Valença Dantas  
(UDESC)



Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger  
(UNIVILLE)

Joinville, 27 de agosto de 2021

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Roberto e Jeane, e minha irmã Luiza, pois, sem seu apoio incondicional, nada disso seria possível, e eu nada seria. Agradeço à minha avó, Edith, pelo incentivo constante em continuar meus estudos, sempre valorizando a educação.

Agradeço, também, à minha namorada, Lara, por ter me mostrado que era possível em todos os momentos em que eu acreditava ser impossível, e pelo amor irrestrito.

Agradeço ao meu orientador, Luciano Lorenzi, e à minha coorientadora, Daniela Delwing-de Lima, por terem me guiado nesse processo de aprendizado contínuo.

Agradeço à banca examinadora da dissertação, pelas suas importantes considerações que, com toda certeza, enriqueceram o trabalho.

Aos meus colegas de Mestrado, da Turma XVIII, obrigado pelos momentos de leveza e descontração, assim como pelo apoio e incentivo mútuo, que se transformou em relações de amizade que levarei para sempre comigo.

Não posso deixar de agradecer, por fim, aos colegas da Univille em São Francisco do Sul pelo auxílio nas análises laboratoriais.

*“Todos os seus sonhos podem se tornar realidade se você tiver coragem para  
perseguir-los.”*

*- Walt Disney*

## RESUMO

**Introdução:** Uma das influências deletérias ao ecossistema marinho da contaminação ambiental por metais pesados é a ocorrência de estresse oxidativo em bivalves. **Objetivo:** Relacionar o gradiente estuarino e o estresse oxidativo observado em indivíduos de *Anomalocardia flexuosa* coletados na Baía Babitonga/SC. **Métodos:** Dois locais de coleta foram amostrados: praia da Avenida e praia do Forte em São Francisco do Sul/SC, nas quatro estações do ano. Foram coletadas amostras de água para determinar em laboratório a salinidade com refratômetro portátil Digit 211 e pH com pHgâmetro de bancada Gehaka PG2000. Doze amostras de tecido de *A. flexuosa*, após serem removidas das conchas, foram armazenadas em recipiente contendo gelo e solução tampão salina. O homogeneizado (10%) (p/v) foi preparado em tampão fosfato de sódio 20 mM com KCl 140 mM, pH 7,4 e, então, centrifugado com objetivo de remover os resíduos. Depois, foi feita uma alíquota e armazenou-se em freezer a -80°C para, por fim, serem determinados as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) e o conteúdo total de proteínas carboniladas. **Resultados:** Observou-se aumento da carbonilação proteica relacionada ao aumento do pH na praia da Avenida na primavera e no outono. Também foi observado aumento da peroxidação lipídica (TBA-RS) com relação ao aumento da salinidade na praia do Forte em inverno e outono. **Conclusões:** Esses achados sugerem maior ocorrência de estresse oxidativo em ambientes com valores superiores de salinidade e pH.

**Palavras-chave:** bivalves; estresse oxidativo; *Anomalocardia flexuosa*; TBA-RS; carbonilação proteica; gradiente estuarino; salinidade.

## ABSTRACT

**Introduction:** One of the deleterious influences of environmental contamination to marine's ecosystem by heavy metals is the oxidative stress generated in bivalves. **Objective:** The main goal of this study was to relate the estuarine gradient and the oxidative stress observed in the clam *Anomalocardia flexuosa* found in Babitonga Bay, southern Brazil. **Methods:** Two sampling areas were selected: Avenida Beach and Forte Beach, both located in São Francisco do Sul, between October 2019 and July 2020. Several water samples were collected to evaluate salinity levels using portable refractometer Digit 211 and pH using bench pHgometer Gehaka PG2000. Twelve *A. flexuosa* tissue samples, after being removed from its shells, were stored in recipients containing ice and buffer saline solution. The homogenized compound (10%) (p/v) was prepared with sodium phosphate buffer 20 mM with KCl 140 mM, pH 7,4 and, then, centrifuged in order to remove waste. After that, an aliquot was made and stored in a freezer to -80°C to, finally, be analyzed thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) and total content of carbonylated proteins. **Results:** It was observed increase of protein carbonylation related to pH increase at Avenida Beach during Spring and Autumn. Also, it was noticed TBA-RS increase related to salinity increase in Forte Beach during Winter and Summer. **Conclusions:** These findings suggest a greater occurrence of oxidative stress in environments with higher levels of salinity and pH.

**Key words:** bivalves; oxidative stress; *Anomalocardia flexuosa*; TBA-RS; protein carbonylation; estuarine gradient; salinity.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DE <i>Anomalocardia flexuosa</i> .....	13
3.1.1 IMPORTÂNCIA SOCIAL E CIENTÍFICA.....	14
3.2 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MOLUSCOS BIVALVES.....	15
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	18
4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	18
4.2 AMOSTRAGENS E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS.....	23
4.2.1 SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.....	25
4.2.2 CONTEÚDO TOTAL DE PROTEÍNAS CARBONILADAS .....	25
4.3 ANÁLISES DOS DADOS.....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	49

## 1 INTRODUÇÃO

Os estuários são conceituados como ambientes transitórios entre continente e oceano, onde há contato entre água salgada do oceano e a água doce do rio (NORIEGA et al., 2005). Essas regiões tendem a acumular grande quantidade de nutrientes, algas e outras plantas, e isso estimula a produtividade biológica na área (OLIVEIRA et al., 2014). Além disso, sabe-se que cerca de 60% das cidades desenvolvem-se próximas a estuários, o que acarreta em deposição de elevadas concentrações de substâncias de origem antrópica nesses locais (SILVA et al., 2011). Esse processo gera contaminação das águas estuarinas e efeitos nocivos para seus recursos, impactando a saúde humana, conseqüentemente, devido à utilização destes recursos para subsistência ou mesmo comercialmente (MIRANDA et al., 2002).

Um fato relevante acerca dos estuários, principalmente dos estuários tropicais do hemisfério Sul, é a sua variação drástica na salinidade. Isso ocorre pela diferença de descarga fluvial, ou seja, do fluxo de água proveniente do rio na região, que provoca aumento ou diminuição da diluição da água salgada, alterando, portanto, o gradiente de salinidade, além da importância evidente da pluviosidade (RIBEIRO et al., 2011). Dessa forma, um ponto amostral mais próximo à foz do estuário tende a apresentar salinidade superior a um ponto amostral mais distante da foz (PEREIRA FILHO et al., 2003). Isso ocorre, principalmente, nos estuários negativos, onde tanto a água marinha quanto a água do rio se encontram na superfície, e a evaporação nesse tipo de estuário aumenta a salinidade e a densidade da água (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004).

Também se sabe que os sedimentos, em estuários, constituem fontes secundárias de contaminantes no ambiente aquático, devido a mudanças físico-químicas na constituição do ambiente, como o aumento ou redução do pH e aumento da salinidade (SALOMONS; FÖRSTNER, 1984). Além disso, outro fato importante de ser avaliado em estuários é a composição e o tamanho das partículas que formam os grãos de sedimento. A partir disso, sabe-se que teores elevados de silte/argila e matéria orgânica aumentam a capacidade dos sedimentos em reter íons metálicos, por exemplo (FRENCH, 1997).

Nesse âmbito, há estudos comprovando a existência de contaminação por metais pesados na Baía Babitonga, a exemplo dos estudos de SOUZA (2016), DEMORI (2008) e TURECK et al. (2006). Nessa área, há intensa atividade agropecuária e de produção de grãos, com amplo uso de inseticidas e adubos químicos. Além disso, o setor industrial desempenha atividades metalúrgicas próximo à região e, somado à conseqüente deposição de sedimentos finos contendo matéria orgânica, levou a um aumento da acumulação e potencialização de efeitos nocivos produzidos pelos poluentes depositados, entre eles os metais pesados (VIEIRA et al., 2008).

Uma das principais influências deletérias ao ecossistema marinho dessa contaminação ambiental por metais pesados é a ocorrência de estresse oxidativo em bivalves (COGO et al., 2009). Esses moluscos são considerados por DABWAN & TAUFIQ (2016) bons bioindicadores de poluição ambiental devido à sua capacidade de acumular metais pesados e outros xenobióticos, além de sofrerem com variações físico-químicas ambientais, e conseqüentemente gerarem estresse oxidativo. Já o estresse oxidativo nesses animais ocorre, principalmente, quando há degradação da membrana lisossomal das suas células, o que provoca reações adversas no organismo (REGOLI et al., 1998).

Esse estresse oxidativo pode ser causado, também, pela influência do gradiente estuarino de salinidade, formado a partir da diluição da água salgada marinha devido ao aporte de água doce nas regiões de estuários. Essa variação da salinidade requer uma adaptação dos organismos habitantes desse ecossistema (BIANCHINI et al., 2008). Além disso, sabe-se que a exposição às alterações de fatores físico-químicos, como a salinidade, pode intensificar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são os precursores de estresse oxidativo tecidual (REGOLI et al., 2002).

Desse modo, sabe-se que *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767), popularmente conhecido como berbigão, é uma espécie de molusco bivalve comumente utilizada como alimento e de relevante importância comercial em todo o litoral catarinense, sendo que Santa Catarina é responsável por 95% da produção nacional (AVEIRO et al., 2010). Esse organismo tende a acumular metais e outros

xenobióticos em seus tecidos e, uma vez que seja consumido a longo prazo, pode elevar as concentrações de metais pesados em seres humanos, causando sérios riscos à população (NEWELL et al., 2005). Esse animal também tem sua densidade populacional, tamanho e características fisiológicas influenciadas pelo gradiente estuarino, sendo que, normalmente, é encontrado com mais facilidade em zonas com alto teor de salinidade (RODRIGUES et al., 2010).

Portanto, devido ao fato de existirem poucos estudos que utilizam *Anomalocardia flexuosa* como indicador de poluição ambiental em estuários e ser importante comercialmente para a região, este trabalho traz a contribuição de avaliar a influência do gradiente estuarino na Baía Babitonga, norte de Santa Catarina, no estresse oxidativo de *Anomalocardia flexuosa*.

Socialmente, é considerado um tema relevante, pois a partir do entendimento da resposta dos organismos às variações ambientais provocadas pelo gradiente estuarino, podem ser iniciadas ações que possibilitem uma melhora na qualidade das águas residuais da região.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a influência do gradiente estuarino sobre o estresse oxidativo e as concentrações de metais pesados em *Anomalocardia flexuosa* na Baía Babitonga, Santa Catarina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- o Mensurar as características físico-químicas (temperatura, salinidade e pH) da água de percolação;
- o Aferir a biometria de espécimes de *A. flexuosa*;
- o Determinar as concentrações de Cádmio, Chumbo e Mercúrio, o conteúdo total de proteínas carboniladas e os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) em *A. flexuosa* em dois pontos amostrais da baía;
- o Determinar as concentrações de Cádmio, Chumbo e Mercúrio, os diâmetros dos grãos e os percentuais de matéria orgânica e carbonato de cálcio nos sedimentos dos pontos de amostragem;
- o Relacionar as características granulométricas e as concentrações de metais no sedimento com o conteúdo de proteínas carboniladas, níveis de TBA-RS e a biometria de *A. flexuosa* no gradiente estuarino.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DE *Anomalocardia flexuosa*

O molusco *Anomalocardia flexuosa* (*A. flexuosa*), popularmente conhecido como berbigão, pertence à família Veneridae, que conta com cerca de 500 espécies, divididas em 50 gêneros e 12 subfamílias (CANAPA et al., 1996). Essa espécie possui como característica morfológica uma concha trigonal sólida, escudo longo e amplo, escultura formada por costelas comarginais anômalo baixas e estrias radiais fracas (DENADAI et al., 2006). Externamente, sua coloração é caracterizada por tons de creme e seu músculo adutor posterior e anterior têm cicatrizes arredondadas e oval-alongadas (DENADAI et al., 2006). A espécie é dioica e extremamente comum ao longo do litoral brasileiro, possui reprodução externa sexuada, com desenvolvimento indireto, composto por um estágio larval que dura de 11 a 30 dias (MOUËZA et al., 1999; TORRES et al., 2002). Segundo RIOS (1994) sua distribuição ocorre desde as Índias Ocidentais (Ilhas Caribenhas) até o Uruguai. *A. flexuosa* habita a superfície do sedimento (RODRIGUES, 2009), principalmente nas áreas em que não há ação de ondas e correntes. Como se enterram na superfície de substratos arenosos ou lodosos, costumam ingerir grande quantidade de material em suspensão, como matéria orgânica e inorgânica (POLI et al., 2004), através do seu sifão inalante (NARCHI, 1972). A sua dominância sobre as comunidades bentônicas nesses ambientes pode ser identificada pela formação de bancos com grande densidade de indivíduos (BOEHS; MAGALHÃES, 2004).

Com relação às variações físico-químicas no ambiente em que está inserido, esse animal costuma adaptar-se de forma eficiente a essas condições, principalmente quando há variações em parâmetros como temperatura e salinidade (SAMPAIO, 2018). Apesar disso, seu ciclo reprodutivo tem seu ponto ótimo na faixa de temperatura de 16 a 25°C, e salinidade acima de 18‰ (SAMPAIO, 2018). BOEHS (2000) também relata que a espécie é adaptável a variações ambientais, até quando essas condições são consideradas causadoras de estresse a outras espécies.

*A. flexuosa* também possui outras características que tornam a espécie um bom indicador de contaminação ambiental, como tolerância a alterações ambientais e diversos contaminantes, vida relativamente longa, ampla distribuição geográfica e alta resistência em estudos laboratoriais e para viver em gaiolas para estudos em campo (ZHOU et al., 2008).

### 3.1.1 IMPORTÂNCIA SOCIAL E CIENTÍFICA

Segundo SOUZA (2007), a pesca de *A. flexuosa* em Florianópolis (Santa Catarina), entre 1989 e 1995, produzia anualmente entre 48 e 185 toneladas. Em toda a região de ocorrência, esse recurso é considerado um item primordial para a alimentação da população de pescadores da região, além do seu valor comercial considerável (SILVA-CAVALCANTI; COSTA, 2011). Devido ao hábito filtrador, a espécie é considerada um potencial bioindicador da presença de metais pesados, principalmente para mercúrio total (NEWELL et al., 2005). No entanto, a literatura que aborda esse tema ainda é escassa (KEHRIG et al., 2006). Segundo SILVA-CAVALCANTI, COSTA e KEHRIG (2016), *A. flexuosa* mostrou-se eficaz no papel de bioindicador de metais-traço relevantes em estuários tropicais brasileiros e responde a variações ambientais, apesar de as concentrações de mercúrio total serem iguais nas estações do ano.

No estudo de WALLNER-KERSANACH et al. (1994), por sua vez, os indivíduos com tamanhos maiores têm maior capacidade de regular as concentrações de cobre e zinco bioacumulados em seus tecidos, enquanto que cádmio e chumbo continuam sendo mais difíceis de depurar. Entretanto, pode haver rearranjos desses metais, alterando a distribuição interna no decorrer do tempo.

Com relação à salinidade, BOEHS et al. (2008), relataram que *A. flexuosa* e outras espécies de bivalves não se adaptam facilmente a condições de redução brusca da salinidade da água, ocasionando choques osmóticos. Por isso, em estações chuvosas, é comum verificar-se uma alta na taxa de mortalidade desses animais.

No trabalho de JESUS (2011) foi verificado predomínio de indivíduos maiores de *A. flexuosa* em locais cujo sedimento era predominantemente formado por silte e argila, cujo elevado teor de matéria orgânica propicia o desenvolvimento de bivalves filtradores.

### 3.2 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MOLUSCOS BIVALVES

Biomarcadores são marcadores biológicos comumente usados para rastreamento de redes de contaminantes (áreas grandes em que há algum tipo de contaminação), que também servem para determinar as possíveis consequências de uma exposição (RAND; PETROCELLI, 1985). Eles detectam os níveis iniciais e intermediários de processos patológicos e identificam os indivíduos mais suscetíveis de uma população, para que assim possa ser iniciado o tratamento de uma doença, quando neste caso, ou qualquer outra intervenção cabível (RAND; PETROCELLI, 1985).

O estresse oxidativo dá-se a partir de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, quando há excesso de radicais livres ou remoção diminuída desses radicais (BARBOSA et al., 2010). Esse processo ocasiona a oxidação de biomoléculas e a perda de função biológica, e a cronificação deste processo em humanos interfere negativamente em doenças como aterosclerose, diabetes, obesidade e câncer (BARBOSA et al., 2010).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), da mesma maneira que os radicais livres, é um processo natural da fisiologia e do metabolismo humano (VELLOSA et al., 2021). Contudo, o seu excesso, como citado anteriormente, gera alterações metabólicas exacerbadas, culminando em níveis elevados de estresse oxidativo. As EROs, nesse sentido, são produzidas de forma endógena, e representam subprodutos derivados do oxigênio diatômico ( $O_2$ ), quando este sofre oxidação ou redução incompleta (VELLOSA et al., 2021). A produção de EROs sofre interferência de fatores exógenos, como radiação ultravioleta, infecções e poluentes. Por esse fator, as moléculas em excesso dessas substâncias reagem com as

moléculas de proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, ocasionando, por fim, alterações funcionais ou até destruição das células (VELLOSA et al., 2021).

De acordo com TREVISAN (2008), as consequências do estresse oxidativo a nível celular em um indivíduo incluem a proliferação celular acentuada, adaptação por meio de alterações enzimáticas, dano celular envolvendo um ou mais tipos de biomoléculas e senescência ou morte celular.

Para a análise de estresse oxidativo geralmente são utilizados biomarcadores enzimáticos baseados em ácidos nucléicos ou proteínas. Dessa forma, são medidos os danos causados pelos agentes tóxicos ao monitorar a entrada de xenobióticos no organismo, que podem causar diversos tipos de anomalias (WILHELM FILHO et al., 2001). Para detectar essas anomalias podem ser utilizadas técnicas espectrofotométricas, que monitoram os biomarcadores enzimáticos, tais como catalase, glutathione S-transferase e superóxido dismutase, que são conhecidos por indicar danos precoces em organismos (WILHELM FILHO et al., 2001). Ademais, sabe-se que radicais livres de oxigênio (RLO) decorrentes de atividade aeróbica influenciam na atividade fisiológica de moluscos bivalves, que também estão sujeitos a alterações funcionais quando expostos a ambientes poluídos por agentes xenobióticos e metais-traço (TORRES et al., 2002).

Um dos principais processos avaliados para determinação de estresse oxidativo é a peroxidação lipídica ou lipoperoxidação. Esse processo acontece quando há excesso de radicais livres produzidos a partir de processos metabólicos. Esses causam alterações na permeabilidade das membranas celulares, ocasionando redução da característica seletiva dessas estruturas, e consequentemente liberando as enzimas hidrolíticas presentes em lisossomos (NELSON; COX, 2014). O organismo produz enzimas, como a superóxido dismutase e a catalase, que atuam no sequestro das EROs e proteção contra a lipoperoxidação, que é um evento mais danoso ao sistema. Quando essas enzimas não conseguem reter as EROs, ocorre a peroxidação lipídica. Nesse processo também há formação de produtos citotóxicos, fato que contribui para a morte celular (NELSON; COX, 2014). Portanto, a lipoperoxidação está associada ao envelhecimento celular, como câncer e outros efeitos causados pela intoxicação por

diversos xenobióticos (FERREIRA; MATSUBARA, 2007). Para se avaliar o nível de lipoperoxidação que ocorre em determinado tecido, utiliza-se a quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), que constituem os produtos finais resultantes do processo de peroxidação lipídica induzida pela presença radicais livres (VELLOSA et al., 2021).

Já a carbonilação proteica (outro biomarcador de estresse oxidativo) ocorre, normalmente, em seguida à oxidação lipídica, em decorrência da desfragmentação dos aminoácidos que compõem as proteínas, alterando o funcionamento de algumas enzimas e levando a um aumento da quantidade de proteínas carboniladas (PACKER, 1997). De forma mais precisa, os aldeídos lipídicos são altamente eletrofílicos e suscetíveis ao ataque nucleofílico pelas cadeias laterais de resíduos proteicos de lisina, histidina e cisteína, resultando na carbonilação proteica. Esse processo é tido como irreversível, e é conhecidamente elevado em vários tecidos animais como consequência de estresse oxidativo prolongado (PACKER, 1997). Além disso, o fato de a carbonilação proteica estar relacionada à má alimentação, deficiência de antioxidantes e envelhecimento, leva à hipótese de que a quantidade de proteínas carboniladas presente no tecido é o elo entre o estresse oxidativo e as disfunções metabólicas (HAUCK et al., 2019).

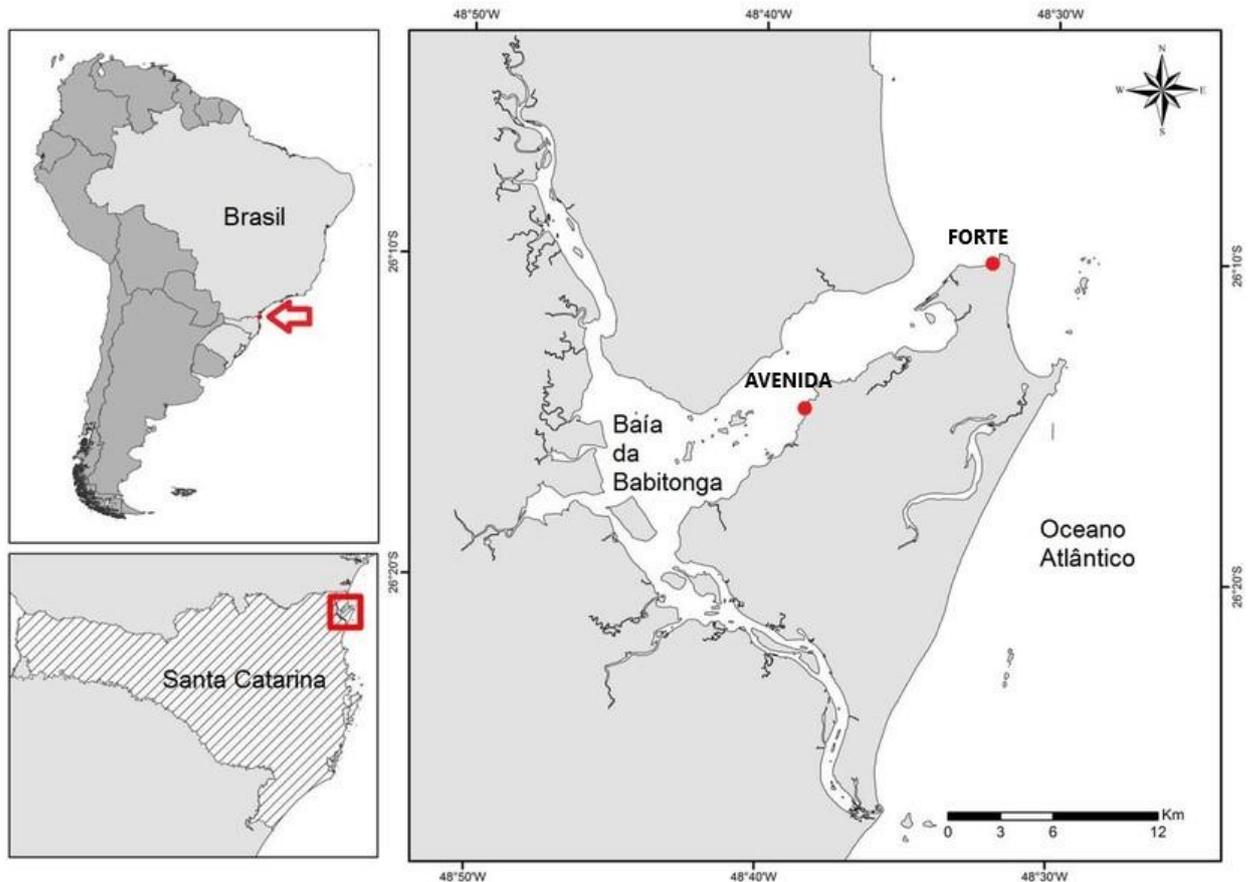
## 4 METODOLOGIA

O estudo é caracterizado por uma pesquisa descritiva de caráter quantitativo. A população de estudo é composta por berbigões da espécie *A. flexuosa*, coletados em dois pontos da Baía Babitonga, norte de Santa Catarina.

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

A Baía da Babitonga (Fig. 1) situa-se na região norte de Santa Catarina e é margeada pelos municípios de Joinville, São Francisco do Sul, Araquari, Barra do Sul, Garuva e Itapoá. Esse complexo estuarino está entre as latitudes 26° 07' W? e 26° 27' S (VIEIRA et al., 2008). A Baía é reconhecida como o maior complexo estuarino do estado de Santa Catarina e por preservar a maior área no limite austral de distribuição dos manguezais Brasileiros (VIEIRA et al., 2008). Um fato relevante relacionado à baía foi o fechamento do Canal do Linguado (ocorrido nos anos 1930) para proporcionar a ligação terrestre entre ilha e continente, que alterou a hidrodinâmica no interior da baía (VIEIRA et al., 2008). Esse evento gerou mudanças nos processos de sedimentação no sistema, afetando a fauna e a flora da região (VIEIRA et al., 2008). Estima-se que, atualmente, a profundidade média do Canal do Linguado é de cerca de 2 a 3m, o que contrasta com os 25m de profundidade média antes do seu fechamento (GERHARDINGER et al., 2006). Adicionalmente, na região intermediária e da foz estuarina, o ambiente também foi modificado, com surgimento de bancos de areia e diferenças no grau de salinidade, potencialmente impactantes a fauna e a flora regionais (GERHARDINGER et al., 2006).

**Figura 1.** Localização dos pontos de coleta (Forte - FOR e Avenida - AVE) na Baía da Babitonga, norte de Santa Catarina, Brasil.



Por isso, levando-se em consideração as informações relatadas acima acerca da Baía da Babitonga, optou-se pela seleção de dois pontos amostrais: Praia do Forte (Fig. 2 e Fig. 3), representando a jusante (foz), e a Praia da Avenida (Fig. 4 e Fig. 5), representando a montante. Como é possível perceber a partir das figuras representativas abaixo, a Praia do Forte possui sedimento predominantemente arenoso e não apresenta ação antrópica ostensiva. Já quando analisadas as figuras referentes à Praia da Avenida, percebe-se a presença de hegemonia de sedimento lodoso, com camada anóxica aumentada em relação à zona aeróbia, e também maior ocupação humana.

**Figura 2.** Praia do Forte.



*Fonte: Acervo pessoal.*

**Figura 3.** Praia do Forte.



*Fonte: Acervo pessoal.*

**Figura 4.** Praia da Avenida.



*Fonte: Acervo pessoal.*

**Figura 5.** Praia da Avenida.



*Fonte: Acervo pessoal.*

#### 4.2 AMOSTRAGENS E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Os exemplares de *A. flexuosa* foram coletados na primavera (PRI) de 2019, outono (OUT), verão (VER) e inverno (INV) de 2020 nas praias do Forte (FOR) e

Avenida (AVE). As coletas foram manuais, com a retirada de três amostras que variaram de 6 a 25 indivíduos em função do tamanho, para alcançar aproximadamente 50 gramas de tecido (indivíduos menores possuem menor quantidade de tecido, sendo necessário, portanto, coletar um número maior de exemplares), sendo armazenadas em caixa térmica para posterior congelamento a -20°C. Em seguida os indivíduos foram dissecados em ambiente estéril com bisturi de aço inoxidável para extrair os tecidos, que foram encaminhados para as análises de metais ( $\geq 10$  gramas de tecido) e, além das amostras destinadas as análises de metais, foram coletados de seis a oito indivíduos por ponto amostral destinados às análises de estresse oxidativo.

Para as análises de estresse oxidativo, as amostras de tecido de *A. flexuosa*, após serem removidas das conchas, foram armazenadas em recipiente contendo gelo e solução-tampão salina. O homogeneizado (10%) (p/v) foi preparado em tampão fosfato de sódio 20 mM com KCl 140 mM, pH 7,4 e, então, centrifugado com objetivo de remover os resíduos. A alíquota contendo o sobrenadante foi armazenada em freezer a -80°C para, por fim, serem determinados as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) e o conteúdo total de proteínas carboniladas (DELWING-DE LIMA et al., 2017).

Para a análise quantitativa (mg/kg) das concentrações de Cádmio (Cd), Chumbo (Pb) e Mercúrio (Hg) foi utilizada a técnica de espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES - *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry*), conforme procedimento estabelecido no manual *Standard Methods* edição 23 (2017).

Quatro amostras de sedimento foram coletadas em cada ponto por estação do ano, acondicionadas em potes plásticos com volume de 300 mL e congeladas. Dessas amostras, três foram encaminhadas para a análise sedimentológica e uma para a análise das concentrações de Cádmio, Chumbo e Mercúrio por ICP-AES (Standard Methods, 2017). As concentrações de matéria orgânica e carbonato de cálcio foram determinadas seguindo o método de DEAN (1974) e a análise

granulométrica foi realizada por pipetagem (GALEHOUSE, 1971) e peneiramento (SUGUIO, 1973).

Em cada ponto ainda foram determinadas a temperatura do sedimento com termômetro de Mercúrio e coletadas amostras de água para determinar em laboratório a salinidade com refratômetro portátil Digit 211 e pH com pHgâmetro de bancada da marca Gehaka, modelo PG2000.

Foram analisadas a biometria de, ao todo, 80 espécimes de Berbigão (10 espécimes por ponto amostral, totalizando 20 espécimes por estação), sendo determinados o comprimento, largura e altura (medidas em mm) utilizando-se de um paquímetro universal metálico de 200 mm e precisão de 0,02 mm, da marca MTX. Para as análises dos percentuais de carbonato de cálcio (%CaCO<sub>3</sub>), matéria orgânica (%M.O.) e areia, silte e argila, foram utilizadas 12 amostras de sedimento. Já com relação às análises de carbonilação proteica e peroxidação lipídica, foram utilizadas 12 amostras de tecido de *A. flexuosa*.

#### 4.2.1 SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBA-RS)

Os níveis de TBA-RS foram determinados de acordo com o método descrito por OHKAWA, OHISHI e YAGI (1979). A metodologia mede a quantidade de malondialdeído (MDA), produto final da lipoperoxidação, gerado, principalmente, por radicais livres hidroxil. O tecido das amostras de *A. flexuosa* foi misturado com ácido tricloroacético a 20% e 0,8% de ácido tiobarbitúrico e aquecido em banho de água fervente durante 60 minutos. O teor de TBA-RS foi determinado pela absorvância a 535 nm. Uma curva de calibração foi obtida utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano como o precursor de MDA, sendo que cada ponto da curva foi submetido ao mesmo tratamento que o das amostras. Os resultados foram expressos em nmol de MDA por mg de proteína.

#### 4.2.2 CONTEÚDO TOTAL DE PROTEÍNAS CARBONILADAS

O teor de carbonilas foi obtido através do método proposto por REZNICK e PACKER (1994), baseado na reação de carbonilação de proteínas com dinitrofenilhidrazina formando dinitrofenilhidrazona, um composto amarelo, medido espectrofotometricamente a 370 nm. Nessa metodologia, 200 µL do homogeneizado foram adicionados a tubos de plástico contendo 400 µL de dinitrofenilhidrazina 10 mM (preparado em HCl 2 M). As amostras foram acondicionadas sem contato com a luz durante 1 hora e agitadas em vórtex a cada 15 minutos. Posteriormente, 500 µL de ácido tricloroacético a 20% foram adicionados a cada tubo. A mistura foi submetida ao vórtex e centrifugada a 14.000 x g durante 3 minutos e o sobrenadante obtido foi descartado. O sedimento restante foi lavado com uma solução de 1 mL de etanol / acetato de etila (1:1 v/v), agitado e centrifugado a 14000 x g durante 3 min. O sobrenadante foi rejeitado e o sedimento ressuspensado em solução de 600µL de guanidina 6M (preparado numa solução de fosfato de potássio 20 mM, pH 2,3), antes de agitação em vórtex e incubação a 60°C durante 15 minutos. As amostras, então, foram centrifugadas pela última vez a 14.000 x g durante 3 minutos e o sobrenadante usado para medir a absorvância a 370 nm (UV) numa cubeta de quartzo, utilizando o espectrofotômetro. Os resultados são relatados como conteúdo total de proteínas carboniladas (nmol / mg de proteína).

#### 4.3 ANÁLISES DOS DADOS

As análises de metais pesados (cádmio, chumbo e mercúrio) não apresentaram resultados diferentes entre as amostras. Em todos os pontos e estações analisados, os resultados foram inferiores ao limite de detecção do equipamento, não sendo possível, portanto, realizar as comparações por testes estatísticos.

Os dados do conteúdo de proteínas carboniladas e dos níveis de TBA-RS, salinidade, temperatura, pH, biometria dos indivíduos e os percentuais de matéria orgânica, carbonato de cálcio e areia, silte e argila foram comparados com as características granulométricas dos sedimentos entre as praias e as estações do

ano. Inicialmente foram aplicados testes de normalidade e homogeneidade às variáveis e posteriormente realizados o teste t, Análise de Variância (ANOVA) e Análise de Componentes Principais (ACP) (UPTON; COOK, 2014). Para as análises estatísticas, foi utilizado o software *Statistica* versão 14.0.0.15.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

# EFEITOS DO GRADIENTE ESTUARINO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO DE *Anomalocardia flexuosa* (GMELIN, 1791) NA BAÍA BABITONGA, SANTA CATARINA

WINTER, Leonardo Mangold<sup>1</sup>; LORENZI, Luciano<sup>1,2</sup>; DELWING-DE LIMA, Daniela<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville– UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10- Zona Industrial Norte, CEP 89201-972, Joinville, SC, Brazil.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade da Região de Joinville– UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10-Zona Industrial Norte, CEP 89201-972, Joinville, SC, Brazil.

<sup>3</sup>Departamento de Medicina, Universidade da Região de Joinville– UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10- Zona Industrial Norte, CEP 89201-972, Joinville, SC, Brazil.

### Resumo

**Introdução:** Uma das influências deletérias ao ecossistema marinho da contaminação ambiental por metais pesados é a ocorrência de estresse oxidativo em bivalves. **Objetivo:** Relacionar o gradiente estuarino e o estresse oxidativo observado em indivíduos de *Anomalocardia flexuosa* coletados na Baía Babitonga/SC. **Métodos:** Dois locais de coleta foram amostrados: praia da Avenida e praia do Forte em São Francisco do Sul/SC, nas quatro estações do ano. Foram coletadas amostras de água para determinar em laboratório a salinidade com refratômetro portátil Digit 211 e pH com pHgâmetro de bancada Gehaka PG2000. Doze amostras de tecido de *A. flexuosa*, após serem removidas das conchas, foram armazenadas em recipiente contendo gelo e solução tampão salina. O homogeneizado (10%) (p/v) foi preparado em tampão fosfato de sódio 20 mM com KCl 140 mM, pH 7,4 e, então, centrifugado com objetivo de remover os resíduos. Depois, foi feita uma alíquota e armazenou-se em freezer a -80°C para, por fim, serem determinados as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) e o conteúdo total de proteínas carboniladas. **Resultados:** Observou-se aumento da carbonilação proteica relacionada ao aumento do pH na praia da Avenida na primavera e no outono. Também foi observado aumento da peroxidação lipídica

(TBA-RS) com relação ao aumento da salinidade na praia do Forte em inverno e outono. **Conclusões:** Esses achados sugerem maior ocorrência de estresse oxidativo em ambientes com valores superiores de salinidade e pH.

**Palavras-chave:** bivalves; estresse oxidativo; *Anomalocardia flexuosa*; TBA-RS; carbonilação proteica; gradiente estuarino; salinidade.

## Abstract

**Introduction:** One of the deleterious influences of environmental contamination to marine's ecosystem by heavy metals is the oxidative stress generated in bivalves. **Objective:** The main goal of this study was to relate the estuarine gradient and the oxidative stress observed in the clam *Anomalocardia flexuosa* found in Babitonga Bay, southern Brazil. **Methods:** Two sampling areas were selected: Avenida Beach and Forte Beach, both located in São Francisco do Sul, between October 2019 and July 2020. Several water samples were collected to evaluate salinity levels using portable refractometer Digit 211 and pH using bench pHgometer Gehaka PG2000. Twelve *A. flexuosa* tissue samples, after being removed from its shells, were stored in recipients containing ice and buffer saline solution. The homogenized compound (10%) (p/v) was prepared with sodium phosphate buffer 20 mM with KCl 140 mM, pH 7,4 and, then, centrifuged in order to remove waste. After that, an aliquot was made and stored in a freezer to -80°C to, finally, be analyzed thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) and total content of carbonylated proteins. **Results:** It was observed increase of protein carbonylation related to pH increase at Avenida Beach during Spring and Autumn. Also, it was noticed TBA-RS increase related to salinity increase in Forte Beach during Winter and Summer. **Conclusions:** These findings suggest a greater occurrence of oxidative stress in environments with higher levels of salinity and pH.

**Key words:** bivalves; oxidative stress; *Anomalocardia flexuosa*; TBA-RS; protein carbonylation; estuarine gradient; salinity.

## Introdução

Os estuários são conceituados como ambientes transitórios entre continente e oceano, onde ocorre diluição gradual da água salgada do mar quando esta entra em contato com a água doce do rio (MIRANDA et al., 2002). Essas regiões tendem a acumular grande

quantidade de nutrientes, algas e outras plantas, e isso estimula a produtividade biológica na área (MIRANDA et al., 2002).

Um fato relevante acerca dos estuários é a sua grande variabilidade na salinidade. Isso ocorre pela diferença de descarga fluvial, ou seja, do fluxo de água proveniente do rio na região, que provoca aumento ou diminuição da diluição da água salgada, alterando, portanto, o gradiente de salinidade (RIBEIRO et al., 2011). Dessa forma, um ponto amostral mais próximo à foz do estuário tende a apresentar salinidade superior a um ponto amostral mais distante da foz (PEREIRA FILHO et al., 2003).

Também se sabe que os sedimentos, em estuários, constituem fontes secundárias de contaminantes no ambiente aquático, devido a mudanças físico-químicas na constituição do ambiente, como por exemplo, o aumento ou redução do pH e aumento da salinidade, uma vez que essas mudanças podem ser potencializadas pela ação antrópica (SALOMONS; FÖRSTNER, 1984).

Uma das principais influências deletérias ao ecossistema marinho dessa contaminação ambiental por metais pesados é a ocorrência de estresse oxidativo em bivalves (COGO et al., 2009). Esses moluscos são considerados por DABWAN & TAUFIQ (2016) bons bioindicadores de poluição ambiental devido à sua capacidade de acumular metais pesados e outros xenobióticos, além de sofrerem com variações físico-químicas ambientais, e conseqüentemente apresentam estresse oxidativo. Esse estresse oxidativo pode ser causado pela influência do gradiente estuarino de salinidade, formado a partir da diluição da água salgada marinha devido ao aporte de água doce nas regiões de estuários (BIANCHINI et al., 2008). Essa variação da salinidade requer uma adaptação dos organismos habitantes desse ecossistema (BIANCHINI et al., 2008).

Desse modo, sabe-se que *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767), popularmente conhecido como berbigão, é uma espécie de molusco bivalve comumente utilizada como alimento e de relevante importância comercial em todo o litoral catarinense, sendo que Santa Catarina é responsável por 95% da produção nacional (AVEIRO et al., 2010). Esse animal também tem sua densidade populacional, tamanho e características fisiológicas influenciados pelo gradiente estuarino, sendo que, normalmente, é encontrado com mais facilidade em zonas com alto teor de salinidade (RODRIGUES et al., 2010).

Portanto, o presente estudo busca determinar a influência do gradiente estuarino no estresse oxidativo e as concentrações de metais pesados em *Anomalocardia flexuosa* na Baía da Babitonga, no litoral norte de Santa Catarina.

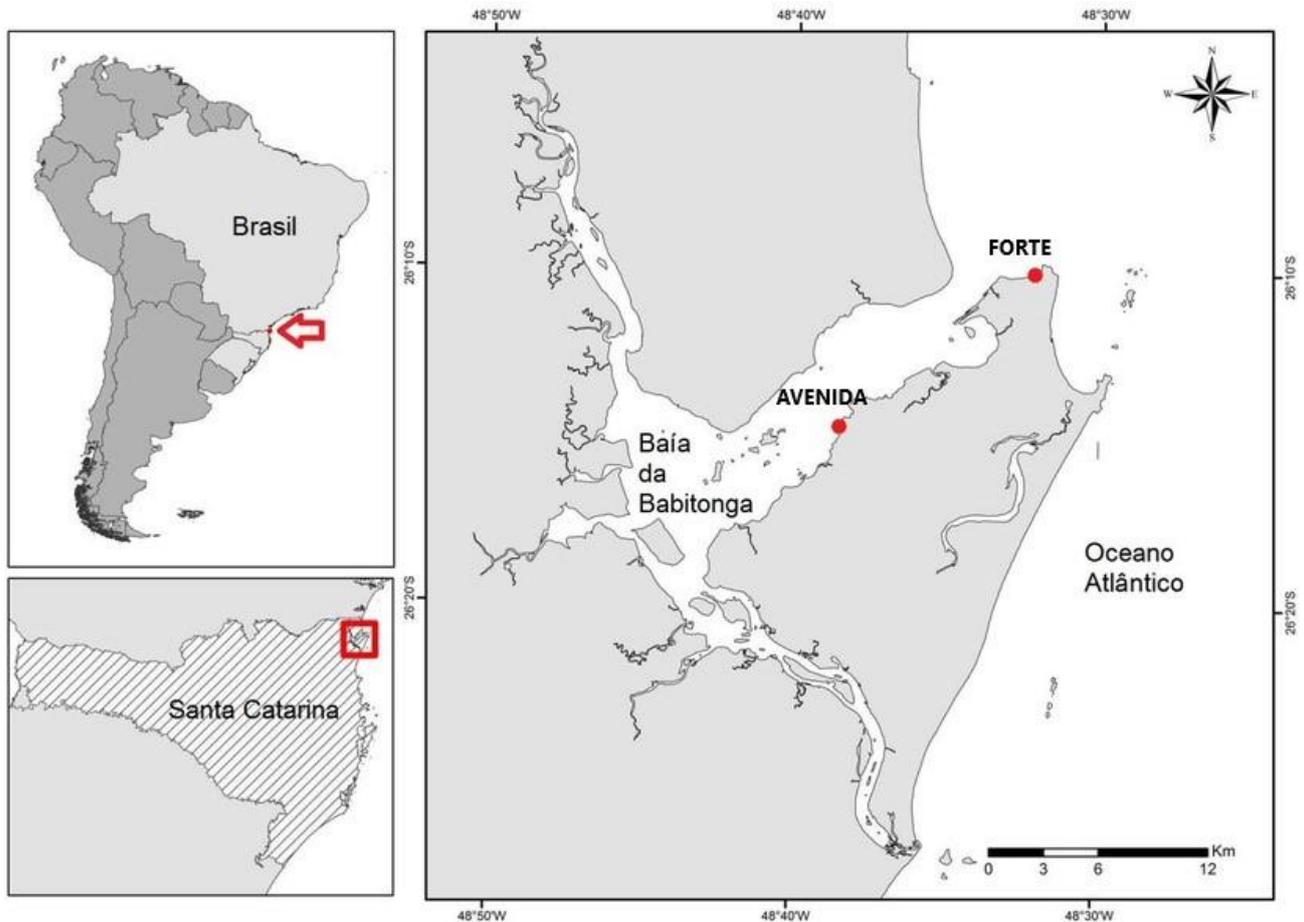
Este estudo é caracterizado por uma pesquisa experimental de caráter quantitativo. A população de estudo é composta por berbigões da espécie *Anomalocardia flexuosa*, coletados em dois pontos da Baía Babitonga, norte de Santa Catarina.

### **Materiais e Métodos**

A Baía da Babitonga (Fig. 1) situa-se na região norte de Santa Catarina e é margeada pelos municípios de Joinville, São Francisco do Sul, Araquari, Barra do Sul, Garuva e Itapoá. Esse complexo estuarino está entre as latitudes 26° 07' W e 26° 27' S (VIEIRA et al., 2008). A Baía é reconhecida como o maior complexo estuarino do estado de Santa Catarina e por preservar a maior área no limite austral de distribuição dos manguezais Brasileiros (VIEIRA et al., 2008).

A seleção dos pontos de coleta abrange um ponto na proximidade com a desembocadura (jusante) da baía, denominada Praia do Forte e outro ponto próximo ao seu interior (montante), denominado Praia Avenida (Fig. 1).

**Figura 1.** Localização dos pontos de coleta (FORTE e AVENIDA) na Baía da Babitonga, norte de Santa Catarina, Brasil.



### **Amostragens e Análises de Dados**

Foram aferidas, na Praia do Forte (FOR) e Praia da Avenida (AVE), as temperaturas do sedimento com termômetro de Mercúrio, além de terem sido coletadas amostras de água para determinar em laboratório a salinidade com refratômetro portátil Digit 211 e pH com pHgâmetro de bancada Gehaka PG2000.

Para a análise quantitativa (mg/kg) das concentrações de Cádmiio (Cd), Chumbo (Pb) e Mercúrio (Hg) foi utilizada a técnica de espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES - *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry*), conforme procedimento estabelecido no manual *Standard Methods* 23ª edição (2017).

Quatro amostras de sedimento foram coletadas em cada ponto por estação do ano, acondicionadas em potes plásticos com volume de 300 mL e congeladas. Dessas amostras, três foram encaminhadas para a análise sedimentológica e uma para a análise das concentrações dos metais Cádmio, Chumbo e Mercúrio por ICP-AES (STANDARD METHODS, 2017). As concentrações de matéria orgânica e carbonato de cálcio foram determinadas seguindo o método de Dean (1974) e a análise granulométrica foi realizada por pipetagem (GALEHOUSE, 1971) e peneiramento (SUGUIO, 1973).

Os exemplares de *A. flexuosa* foram coletados na Primavera (PRI) de 2019, Verão (VER), Outono (OUT) e Inverno (INV) de 2020. As coletas foram manuais, com a retirada de três amostras por praia em cada estação compostas por um número variável (entre 6 a 25 indivíduos, a depender do tamanho) de indivíduos, para alcançar aproximadamente 50 gramas de tecido, sendo armazenadas em caixa térmica para posterior congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Em seguida os indivíduos foram dissecados em ambiente estéril com bisturi de aço inoxidável para extrair os tecidos, que foram encaminhados para as análises de metais ( $\geq 10$  gramas) e paralelamente foram separados cerca de oito indivíduos por amostra para seguirem às análises de estresse oxidativo.

Para as análises de estresse oxidativo, as amostras de tecido de *A. flexuosa*, após serem removidas das conchas, foram armazenadas em recipiente contendo gelo e solução tampão salina. O homogeneizado (10%) (p/v) foi preparado em tampão fosfato de sódio 20 mM com KCl 140 mM, pH 7,4 e, então, centrifugado com objetivo de remover os resíduos. A alíquota contendo o sobrenadante foi armazenada em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para, por fim, serem determinados as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) e o conteúdo total de proteínas carboniladas (DELWING-DE LIMA et al., 2017).

Também foram aferidas medidas biométricas de comprimento, largura e altura de 10 indivíduos por ponto de coleta, utilizando-se de um paquímetro universal metálico de 200 mm e precisão de 0,02 mm, da marca MTX.

Foram analisadas, ao todo, 80 espécimes de berbigão para os parâmetros biométricos (comprimento, largura e altura). Para as análises de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), matéria orgânica (M.O.) e parâmetros granulométricos foram utilizadas 12 amostras de sedimento. Já com relação às análises de proteínas carboniladas e peroxidação lipídica, foram utilizadas 12 amostras de tecido de *A. flexuosa*.

As análises de metais pesados (cádmio, chumbo e mercúrio) tanto dos espécimes de bivalves quanto das amostras de sedimento não apresentaram resultados diferentes entre as amostras. Em todos os pontos e estações analisados, os resultados foram inferiores ao limite de detecção do equipamento, não sendo possível, portanto, realizar testes estatísticos que visem a uma comparação adequada.

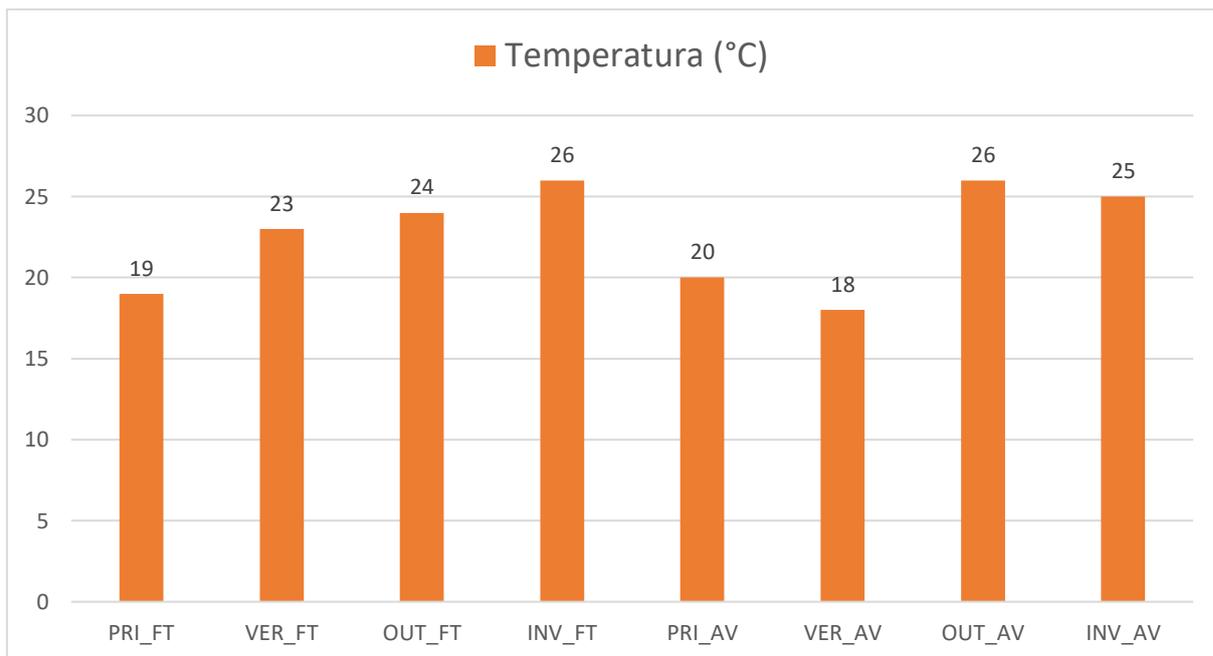
Após a análise laboratorial, os dados do conteúdo total de proteínas carboniladas (REZNICK; PACKER, 1994) e de peroxidação lipídica (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979), salinidade, temperatura, pH, biometria dos indivíduos e os percentuais de matéria orgânica e carbonato de cálcio foram comparados com as características granulométricas dos sedimentos entre as praias e as estações do ano. Inicialmente foram aplicados testes de normalidade e homogeneidade das variâncias às variáveis e posteriormente realizados o Teste t, Análise de Variância (ANOVA) e Análise de Componentes Principais (ACP) (UPTON; COOK, 2014). Para as análises estatísticas, foi utilizado o software *Statistica* versão 13.5. Para Teste t e ANOVA foi utilizada a mesma matriz, sendo que o Teste t objetivou a comparação entre pontos amostrais (Forte e Avenida), enquanto a ANOVA foi aplicada para comparação entre as estações do ano (INV – Inverno; PRI – Primavera; VER – Verão; OUT – Outono).

Os pontos amostrais foram representados por Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

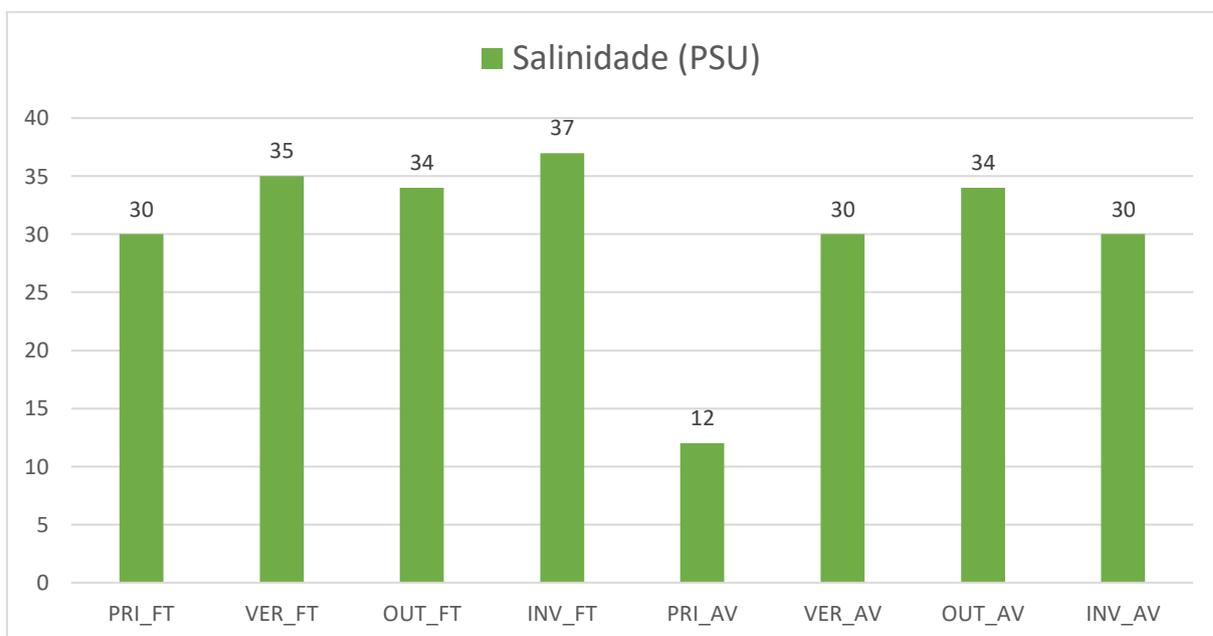
## Resultados

A temperatura na praia do Forte variou de 19 a 26°C e na praia da Avenida foi de 18 a 26°C (Figura 2). Em ambas as praias os valores de salinidade tenderam a diminuir na primavera em comparação às demais estações (Figura 3). Além disso, a praia do Forte apresentou valores de pH que variaram de 7,96 a 8,57, enquanto na praia da Avenida foi de 7,91 a 8,63 (Figura 4).

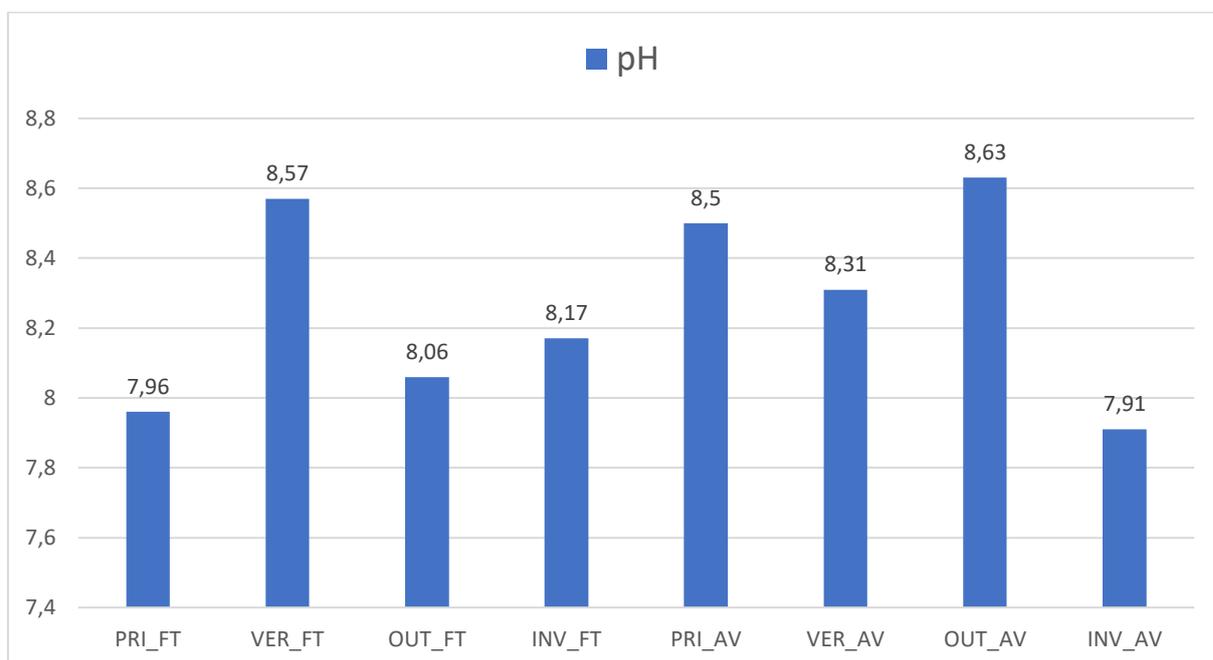
**Figura 2.** Variações dos valores de temperatura (°C) nas praias da Avenida e do Forte durante as estações do ano. Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).



**Figura 3.** Variações dos valores de salinidade (PSU) nas praias da Avenida e do Forte durante as estações do ano. Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).



**Figura 4.** Variações dos valores de pH nas praias da Avenida e do Forte durante as estações do ano. Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).



O sedimento da praia da Avenida apresentou percentuais significativamente maiores de matéria orgânica (1,83%), carbonato de cálcio (6,97%), silte (20,15%) e argila (2,90%), enquanto na praia do Forte foi maior o percentual de areia (89,69%) (Tabela 1). Os percentuais de matéria orgânica, carbonato de cálcio, areia, silte e argila não foram significativamente diferentes entre as estações (Tabela 1).

Os comprimentos médios dos espécimes foram significativamente maiores no inverno (28,05 mm), com os menores valores na primavera (21,6 mm). O conteúdo total de proteínas carboniladas e os níveis de TBA-RS foram significativamente maiores no outono (12,52) e inverno (5,88), respectivamente (Tabela 2). O comprimento total dos indivíduos de *A. flexuosa* na praia do Forte (28,22 mm) foi significativamente maior que a praia da Avenida (21,95 mm). O conteúdo total de proteínas carboniladas e os níveis de TBA-RS nos tecidos dos indivíduos não foram significativamente diferentes entre as praias (Tabela 2).

**Tabela 1.** Comparações referentes às variáveis percentual de matéria orgânica (% M.O.), percentual de carbonato de cálcio (% CaCO<sub>3</sub>) e percentuais de areia, silte e argila entre os pontos amostrais da praia do Forte e praia Avenida. Resultados do teste de t, Análise de Variância (ANOVA) e de Kruskal-Wallis. ns = Não significativo. gl = Grau de liberdade. dp = desvio-padrão

Variável	Avenida	Forte	p-valor	Comparações	Primavera	Verão	Outono	Inverno	F (p-valor)	H (p-valor)	Comparações
	Média (dp)	Média (dp)			Média (dp)	Média (dp)	Média (dp)	Média (dp)			
% M.O. (gl = 11)	1,83 (0,91)	0,63 (0,85)	0,002*	Avenida > Forte	1,72 (1,40)	0,96 (1,09)	1,02 (0,92)	1,21 (0,85)	0,59 (0,62)	-	ns
% CaCO <sub>3</sub> (gl = 11)	6,97 (3,12)	3,37 (2,68)	0,006*	Avenida > Forte	12,58 (3,15)	9,92 (2,50)	13,50 (1,38)	14,00 (5,38)	-	1,19 (0,75)	ns
% Areia	76,95 (8,79)	89,69 (2,59)	0,000*	Forte > Avenida	86,32 (4,77)	82,58 (9,63)	80,39 (10,27)	83,98 (11,82)	1,57 (0,22)	-	ns
% Silte	20,15 (8,27)	8,45 (2,01)	0,000*	Avenida > Forte	11,46 (4,26)	14,98 (9,74)	17,07 (9,14)	13,68 (10,35)	1,51 (0,24)	-	ns
% Argila	2,90 (0,90)	1,86 (0,71)	0,005*	Avenida > Forte	2,22 (0,56)	2,43 (0,51)	2,53 (1,16)	2,33 (1,48)	2,53 (0,08)	-	ns

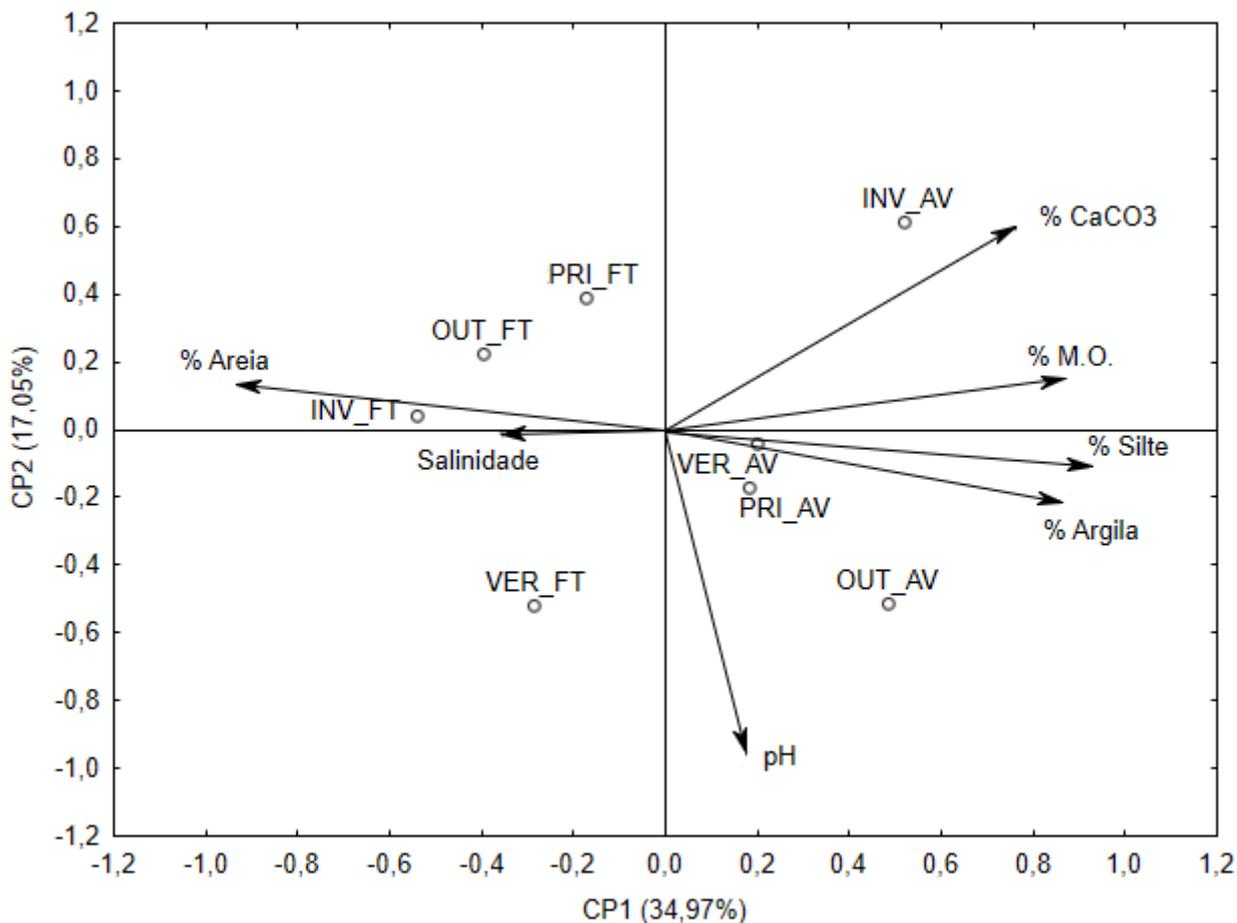
**Tabela 2.** Comparações referentes às variáveis comprimento, Proteínas Carboniladas e TBA-RS entre os pontos amostrais da praia do Forte e praia da Avenida. Resultados do teste de t e Análise de Variância (ANOVA). \**p*-valor < 0,05 = significativo. gl = Grau de liberdade. dp = desvio-padrão.

Variável	Avenida	Forte	<i>p</i> -valor	Comparações	Primavera	Verão	Outono	Inverno	F ( <i>p</i> -valor)	Comparações
	Média (dp)	Média (dp)			Média (dp)	Média (dp)	Média (dp)	Média (dp)		
Comprimento (mm) (gl = 78)	21,95 (3,40)	28,22 (3,91)	0,000*	Forte > Avenida	21,60 (4,55)	26,15 (3,56)	24,55 (4,71)	28,05 (4,20)	8,15 (0,00)*	<u>INV VER OUT PRI</u>
Proteínas Carboniladas (gl = 11)	9,77 (7,77)	8,98 (5,25)	0,770*	ns	11,47 (3,42)	10,93 (4,49)	12,52 (9,34)	2,60 (0,61)	4,19 (0,02)*	<u>OUT PRI VER INV</u>
TBA-RS (gl = 11)	4,12 (1,59)	5,025 (1,06)	0,110*	ns	3,22 (1,03)	4,50 (0,96)	4,68 (1,38)	5,88 (0,93)	6,01 (0,004)*	<u>INV OUT VER PRI</u>

Com relação a ACP, foi utilizada de uma matriz das médias das variáveis. Foram realizadas 5 análises de componentes principais, representadas pelas figuras de 3 a 7. A Fig. 3 apresenta comparações entre as variáveis ambientais; a Fig. 4 relaciona variáveis ambientais com o conteúdo total de proteínas carboniladas; a Fig. 5 compara variáveis ambientais e TBA-RS; a Fig. 6 faz uma relação entre variáveis ambientais e o comprimento da concha dos indivíduos; e, por fim, a Fig. 7 apresenta relações entre variáveis biométricas com TBA-RS e o conteúdo total de proteínas carboniladas.

Na componente 1, com 34,97% de variância, independente da estação do ano, na praia da Avenida aumentaram os percentuais de carbonato de cálcio, matéria orgânica + silte e argila, e tenderam a diminuir a salinidade e o percentual de areia do sedimento. Por outro lado, a salinidade e o percentual de areia tenderam a aumentar na praia do Forte em todas as estações, reduzindo os percentuais de carbonato de cálcio, matéria orgânica + silte e argila. Na componente 2, com 17,05% de variância, o pH tendeu a aumentar na praia da Avenida em outono e primavera, enquanto que na praia do Forte ocorreu na primavera, outono e inverno (Figura 5).

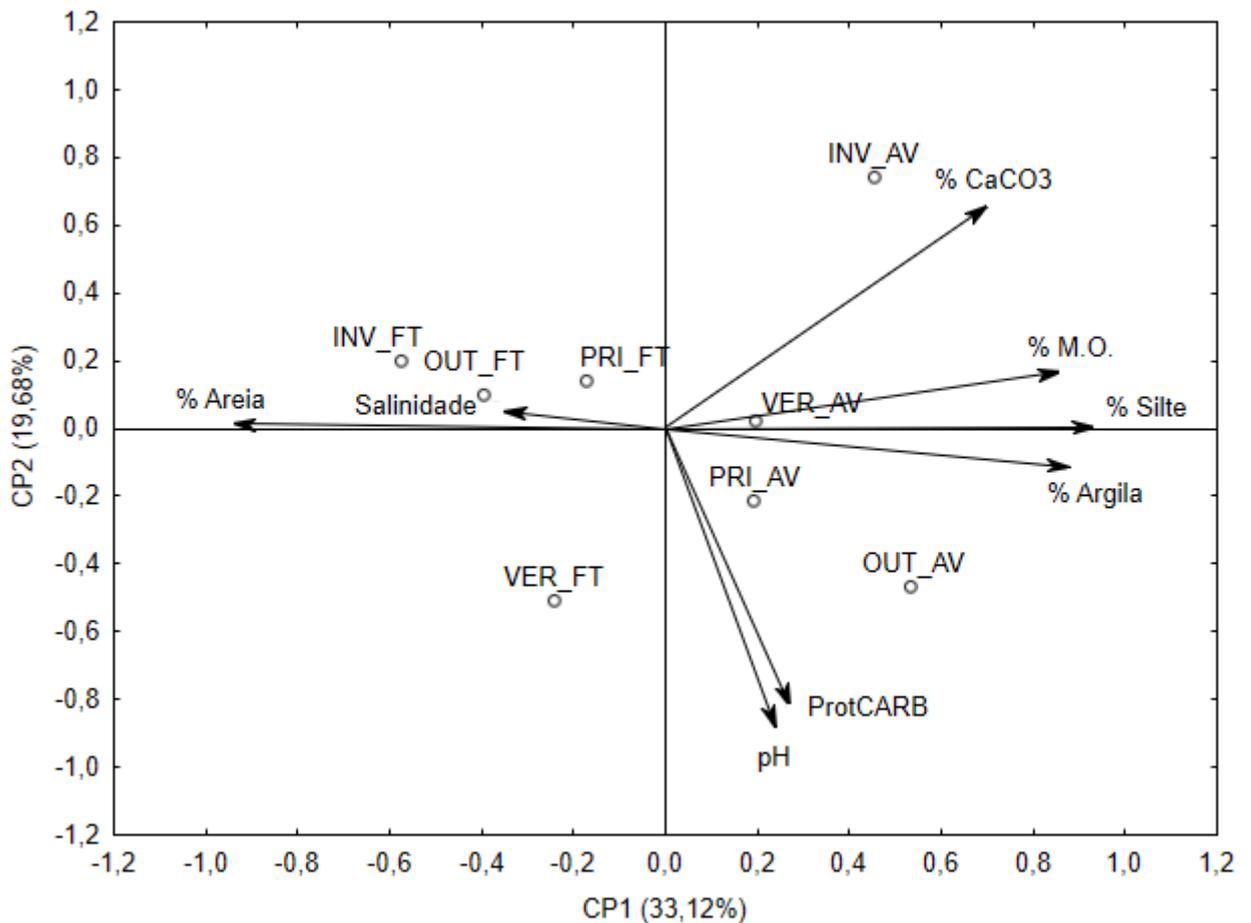
**Figura 5.** Análise de Componentes Principais (ACP) referente às variáveis ambientais: Salinidade, pH, percentual de matéria orgânica (% M.O.), percentual de carbonato de cálcio (% CaCO<sub>3</sub>) e percentuais de silte, areia e argila. CP1 = Componente Principal 1. CP2 = Componente Principal 2.



Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

Na componente 2, com 19,68% de variância, houve relação entre aumento do conteúdo total de proteínas carboniladas em *A. flexuosa* e do pH na praia da Avenida em outono e primavera, e na praia do Forte no verão, com redução dos valores dessas variáveis na praia da Avenida no inverno. O contrário foi observado para salinidade juntamente ao percentual de areia que, na componente 1 (33,12% de variância), tenderam ao aumento na praia do Forte no outono, primavera e inverno (Figura 6).

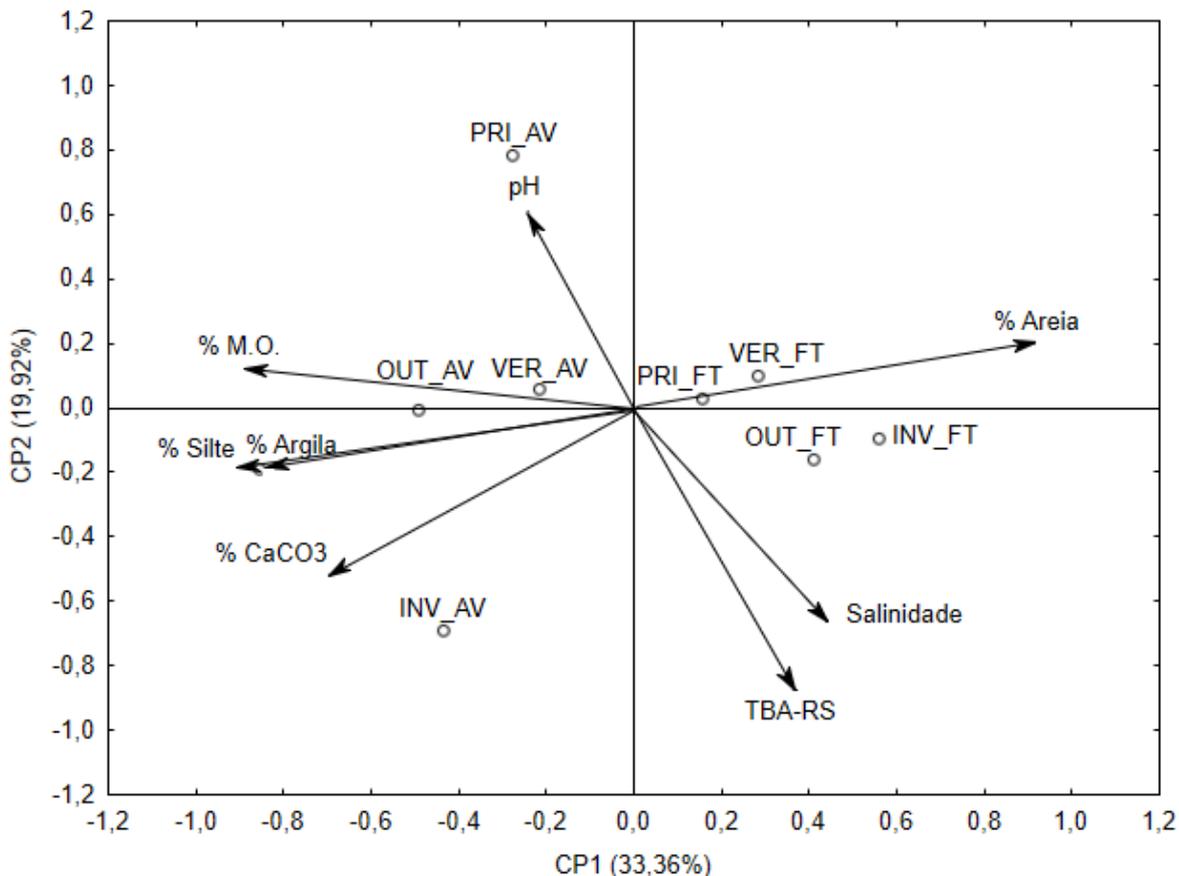
**Figura 6.** Análise de Componentes Principais (ACP) referente às variáveis conteúdo total de Proteínas Carboniladas (ProtCARB), Salinidade, pH, percentual de matéria orgânica (% M.O.), percentual de carbonato de cálcio (% CaCO<sub>3</sub>) e percentuais de silte, areia e argila. CP1 = Componente Principal 1. CP2 = Componente Principal 2.



Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

Na componente 1 (33,36% de variância) aumentaram o percentual de matéria orgânica, carbonato de cálcio, silte e argila, relacionados com a praia Avenida em inverno, outono e verão. Na componente 2 (19,92% de variância) houve aumento da peroxidação lipídica (níveis de TBA-RS) em *A. flexuosa* e salinidade, relacionados ao outono e inverno na praia do Forte, diminuindo o pH na primavera na praia da Avenida (Figura 7).

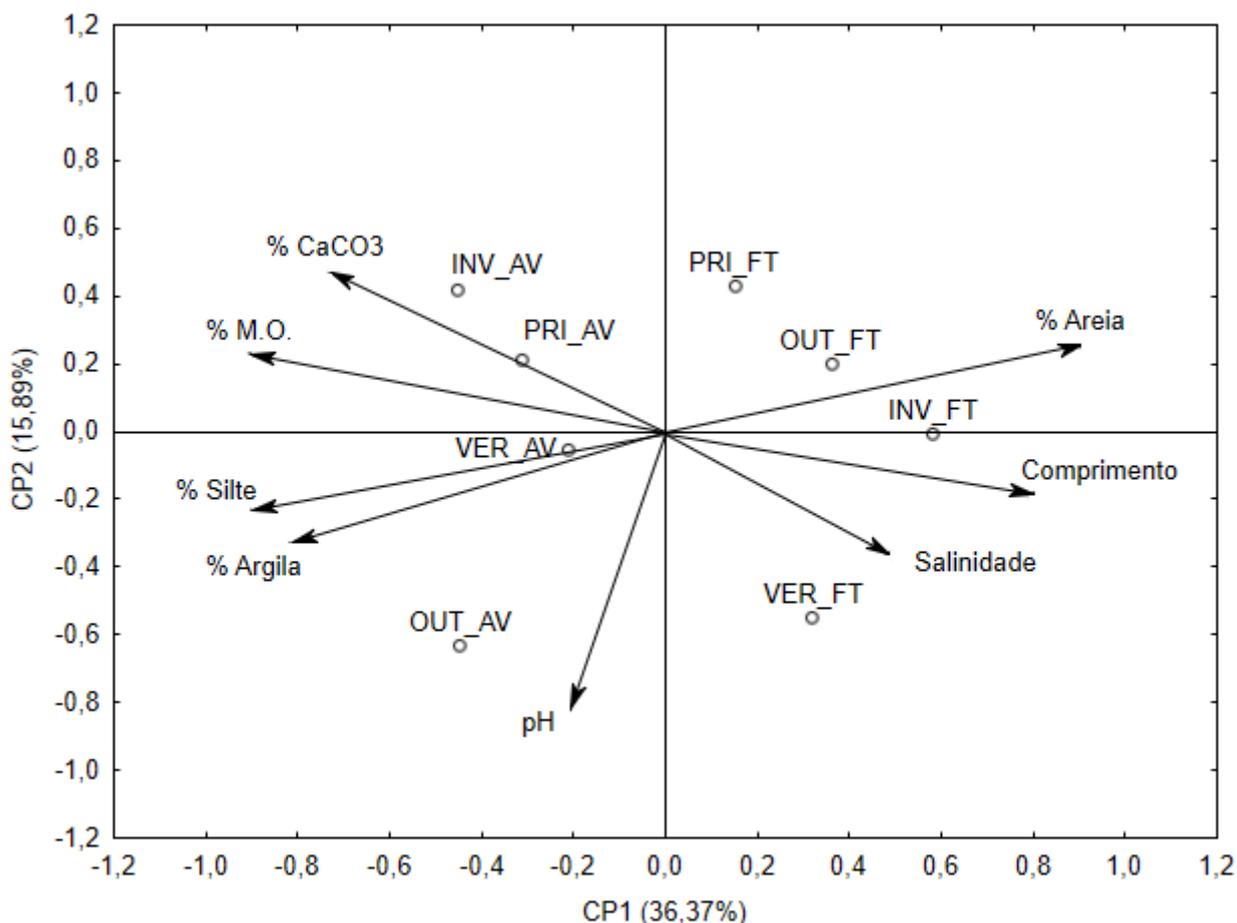
**Figura 7.** Análise de Componentes Principais (ACP) referente às variáveis Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA-RS), Salinidade, pH, percentual de matéria orgânica (% M.O.), percentual de carbonato de cálcio (% CaCO<sub>3</sub>) e percentuais de silte, areia e argila. CP1 = Componente Principal 1. CP2 = Componente Principal 2.



Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

Na componente 1 (36,37% de variância), houve aumento do comprimento da concha de *A. flexuosa*, salinidade e percentual de areia, relacionados com todas as estações da praia do Forte, sendo que o contrário ocorreu com os percentuais de carbonato de cálcio, matéria orgânica, silte e argila na praia da Avenida, onde reduziram o comprimento da concha, salinidade e percentual de areia. A componente 2 (15,89% de variância) explica o aumento do pH na praia da Avenida no outono e praia do Forte no verão, diminuindo na praia do forte na primavera (Figura 8).

**Figura 8.** Análise dos Componentes Principais (ACP) referente ao percentual de matéria orgânica (% M.O.), percentual de carbonato de cálcio (% CaCO<sub>3</sub>), Comprimento, Salinidade, pH e percentuais de silte, areia e argila. CP1 = Componente Principal 1. CP2 = Componente Principal 2.

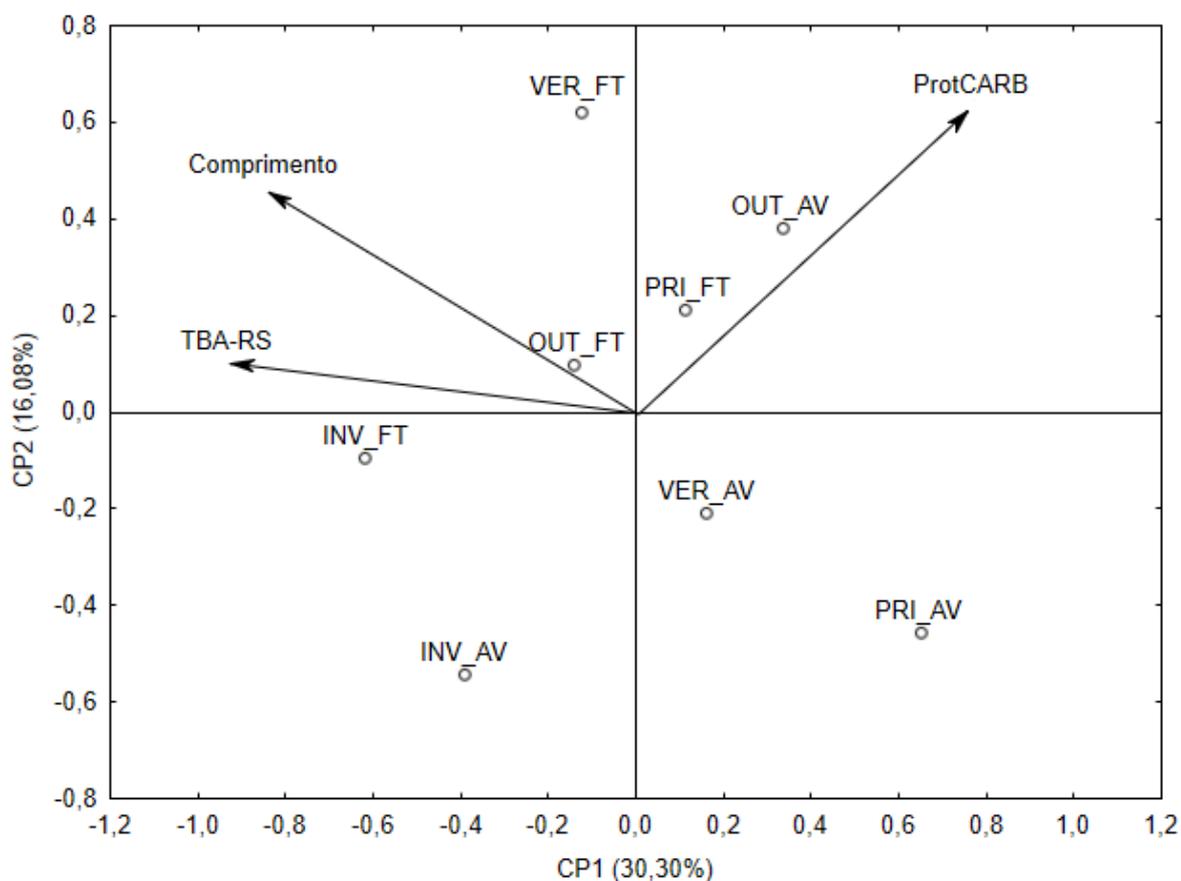


Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

Na componente 2 (16,08% de variância) o conteúdo total de proteínas carboniladas em *A. flexuosa* apresentou tendência de aumento na praia da Avenida no outono e na praia do Forte na primavera, observando-se redução dos comprimentos dos indivíduos e dos níveis de TBA-RS (peroxidação lipídica). Os comprimentos dos indivíduos e os níveis de TBA-RS (peroxidação lipídica) em *A. flexuosa* tenderam a aumentar na praia do Forte em outono,

inverno e verão, tendendo a diminuir na praia da Avenida em outono, primavera e verão e na primavera na praia do Forte (Figura 9).

**Figura 9.** Análise de Componentes Principais (ACP) referente às variáveis Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA-RS), Proteínas Carboniladas (ProtCARB) e Comprimento. CP1 = Componente Principal 1. CP2 = Componente Principal 2.



Forte – Inverno (INV\_FT), Forte – Verão (VER\_FT), Forte – Primavera (PRI\_FT), Forte – Outono (OUT\_FT), Avenida – Inverno (INV\_AV), Avenida – Verão (VER\_AV), Avenida – Primavera (PRI\_AV) e Avenida – Outono (OUT\_AV).

## Discussão

Neste estudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as estações do ano referentes ao percentual de silte, argila e areia, matéria orgânica e carbonato de cálcio no sedimento. Porém, quando comparados os locais de coleta, verificou-se valores

maiores de percentuais de silte, argila, carbonato de cálcio e matéria orgânica na praia da Avenida em relação à praia do Forte. Esta última, por sua vez, apresentou maiores valores de percentual de areia em contraste com a praia da Avenida. Com relação à maior quantidade de sedimentos finos (silte e argila) na praia da Avenida, VIEIRA et al. (2008) afirmam que pontos mais próximos ao porto de São Francisco do Sul, como é o caso da praia da Avenida, tendem a acumular mais sedimentos finos. Isso ocorre, de acordo com os autores, provavelmente devido ao aporte de sedimentos em suspensão pelos canais de marés que deságuam ao redor do porto, pois acabam decantando durante a estofa da maré (período sem oscilações) e, dessa forma, sofrem menos influência das correntes, além de estarem mais próximos ao interior do estuário, fato que também influencia esse acúmulo. No mesmo estudo, os autores relataram maior predomínio de sedimentos arenosos na conexão que a Baía possui com o Oceano Atlântico, ou seja, na desembocadura da Baía, uma vez que nessa região as ondas provenientes do oceano geram maior energia ambiental ao adentrar o estuário. Isso corrobora com os dados obtidos no presente estudo, pois a praia do Forte localiza-se justamente na única conexão com o oceano, e apresentou maior percentual de sedimento arenoso. Já avaliando-se o percentual de  $\text{CaCO}_3$ , os autores relatam que as áreas com menor concentração da substância compreendem regiões na desembocadura da Baía, e a porcentagem de carbonato tende a aumentar de forma inversamente proporcional ao tamanho dos grãos. Essas afirmações também concordam com os dados obtidos no presente trabalho, uma vez que se verificou maiores valores de carbonato na praia da Avenida que, além disso, também possui maior quantidade de sedimentos finos. Por fim, quando se avaliou a concentração de matéria orgânica no sedimento da Baía Babitonga, VIEIRA et al. (2008) relataram que as áreas com menor porcentagem de matéria orgânica situam-se próximas às desembocaduras da Baía, e têm correlação positiva, ou seja, aumentam proporcionalmente à quantidade de sedimentos finos, como é o caso da praia Avenida, por exemplo.

Com relação à salinidade do meio, sob condições extremas de alta e baixa salinidade no ecossistema, é comum ocorrer diferenças na capacidade de osmorregulação das espécies de bivalves (GONZÁLEZ-ORTEGÓN et al., 2006). Conseqüentemente, essas alterações podem exigir adaptações fisiológicas, notadamente envolvendo geração de estresse oxidativo (GONZÁLEZ-ORTEGÓN et al., 2006). Além disso, LIMA et al. (2009) afirmam que *A. flexuosa* possui uma tolerância limitada a níveis de salinidade mais baixos, o que leva a um

fenômeno de alta na mortalidade desses animais durante estações chuvosas. Semelhantemente, BELÉM, MOURA & HENRY-SILVA (2013) relataram diminuição da densidade populacional em praias do Rio Grande do Norte após a ocorrência de chuvas intensas ocasionadas pelo fenômeno *La Niña* em 2010. Assim, sabe-se que a época chuvosa na Baía Babitonga estende-se do verão até meados do outono, aproximadamente (GRACE et al., 2008), e, por isso, nota-se uma diminuição da salinidade na praia do forte em outono e inverno (pontos OUT\_FT e INV\_FT), acompanhada de diminuição dos valores de lipoperoxidação, o que contrasta com os estudos de BELÉM, MOURA & HENRY-SILVA (2013) e LIMA et al. (2009). Do mesmo modo, no estudo de SARDI et al. (2016), foi verificada influência das mudanças nos níveis de salinidade na ocorrência de estresse oxidativo em moluscos na Baía de Paranaguá, no Paraná. Contudo, no presente estudo, apesar de a diminuição da salinidade ter apresentado ter sido observada na praia da Avenida durante as estações do ano, e o fato de os indivíduos, nesse local, apresentarem tamanho reduzido, isso não influenciou diretamente o nível de TBA-RS encontrado nessa região. No estudo de NOERNBERG, RODRIGO & LUERSEN (2020), a salinidade da água não apresentou diferenças significativas entre inverno e verão na Baía Babitonga, mesmo quando houve um período de chuvas intensas no início do inverno. Isso ocorre, segundo os autores, pois, nessa região, a força das marés controla o gradiente de salinidade, sendo que os valores de salinidade costumam variar conforme o nível de água e as correntes marítimas. No entanto, como, no presente estudo, a água de percolação foi coletada unicamente durante a baixa-mar, não foi possível verificar a influência da maré no gradiente de salinidade obtido, além de ter sido coletada apenas uma amostra por estação em cada praia.

Outro fator considerado como possível influência ao estresse oxidativo de bivalves é a variação do pH estuarino. Segundo MARCHI et al. (2020), a exposição a fatores de alteração climática, entre eles a mudança do pH, pode ocasionar efeitos deletérios aos bivalves, como a degradação ou descalcificação das conchas, aumento da produção de amônia, ou, ainda, diminuição da frequência respiratória e, conseqüentemente, aumento da mortalidade. Em vista de que, de acordo com FREITAS et al. (2017), o pH médio dos oceanos baixou cerca de 0,1 unidade desde a Revolução Industrial e, em 2100, deverá baixar até 0,4 unidades, é evidente a importância de atentar-se a como os bivalves, em especial, vêm se adaptando a essas mudanças. No mesmo estudo de FREITAS et al. (2017), verificou-se que a capacidade

metabólica e o estado oxidativo dos bivalves do gênero *Mytillus* foram afetados negativamente pelo baixo pH e alteração na salinidade do meio. Ainda de acordo com os autores, isso pode resultar em problemas reprodutivos, dificuldade de crescimento e até baixa resistência a doenças. Já no presente estudo, foi verificada correlação entre o pH e o conteúdo total de proteínas carboniladas, cujos maiores valores foram encontrados na praia da Avenida em outono e primavera, sendo que nessa praia as conchas apresentaram menores tamanhos.

No estudo de BELÉM, MOURA & HENRY-SILVA (2013), foi observada correlação positiva entre as concentrações de matéria orgânica em sedimentos coletados no estuário do Rio Apodi/Mossoró, no Rio Grande do Norte, e a maior presença de espécimes de *A. flexuosa*. No presente estudo, verificou-se, também, maior abundância de indivíduos na praia da Avenida, onde evidenciou-se maiores teores de matéria orgânica no sedimento. No presente trabalho, o percentual de matéria orgânica não influenciou a ocorrência de lipoperoxidação nos moluscos.

No trabalho de CAMPOS et al. (2019), realizado na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro) e utilizando experimentos de laboratório, foi observado aumento da toxicidade em espécimes de *A. flexuosa* relacionado, entre outros fatores, a uma maior quantidade de matéria orgânica no sedimento. No presente estudo, quanto menor o percentual de matéria orgânica observado nos pontos, maior o comprimento dos espécimes. Também se percebeu correlação entre comprimento e níveis de TBA-RS, portanto, pode-se concluir que o percentual de matéria orgânica contribuiu indiretamente para a ocorrência de estresse oxidativo nos bivalves analisados. Contudo, não é possível afirmar se esse estresse gerou maior toxicidade, fato que também contrasta com o estudo anteriormente citado.

### **Considerações finais**

Neste estudo, objetivou-se relacionar o gradiente estuarino com a ocorrência de estresse oxidativo em espécimes de *A. flexuosa* coletados em dois pontos amostrais na Baía Babitonga. É possível concluir, a partir dos resultados apresentados e comparação com trabalhos anteriores, que o gradiente estuarino influencia no estresse oxidativo dos espécimes de *A. flexuosa* analisados neste estudo. Tal influência tornou-se evidente, principalmente, no

outono e inverno na praia do Forte (relacionado à salinidade) e no outono e primavera na praia da Avenida (relacionado ao pH).

O aumento da pluviosidade no verão e outono, como acontece anualmente na Baía Babitonga segundo a literatura, pode ter contribuído para a diminuição da salinidade na praia do Forte (verificada até o inverno) e ter sido responsável pelo aumento do estresse oxidativo.

Ainda assim, estudos posteriores utilizando amostras maiores são necessários para se avaliar outras implicações em potencial do gradiente estuarino sobre o estresse oxidativo de *A. flexuosa*.

## REFERÊNCIAS

- AVEIRO, M. V. et al. Variação Sazonal na Composição Centesimal e Reprodução do Bivalve de Areia *Anomalocardia brasiliana* da Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé, Florianópolis/SC. **Atlântica**, v. 33, n. 1, p. 5–14, 2010.
- BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; RICE, E. W. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23. ed. Washington: American Public Health Association, 2017.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BELÉM, T. P.; MOURA, R. S. T.; HENRY-SILVA, G. G. Distribuição e densidade do bivalve *Anomalocardia brasiliana* em praias do Rio Grande do Norte durante um período de pluviosidade atípica. **Biotemas**, v. 26, n. 1, p. 109–122, 2013.
- BIANCHINI, A. et al. Biochemical and physiological adaptations in the estuarine crab *Neohelice granulata* during salinity acclimation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 151, n. 3, p. 423–436, 2008.
- BOEHS, G. **Ecologia populacional, reprodução e contribuição em biomassa de *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2000.
- BOEHS, G.; ABSHER, T. M.; DA CRUZ-KALED, A. C. Ecologia populacional de *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791) (Bivalvia, Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 34, n. 2, p. 259–270, 2008.
- BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M. Simbiontes associados com *Anomalocardia brasiliana* na Ilha de Santa Catarina e Brasil região continental adjacente. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 865–869, 2004.
- CAMPOS, B. G. DE et al. Integrating multiple lines of evidence of sediment quality in a tropical bay (Guanabara Bay, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 146, p. 925–934, 2019.
- CANAPA, A. et al. Phylogenetic analysis of veneridae (Bivalvia): Comparison of molecular and palaeontological data. **Journal of Molecular Evolution**, v. 43, n. 5, p. 517–522, 1996.
- COGO, A. J. D. et al. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line**, v. 7, n. 1, p. 37–42, 2009.
- DABWAN, A. H. A.; TAUFUQ, M. Bivalves as bio-indicators for heavy metals detection in Kuala Kemaman, Terengganu, Malaysia. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 9, n. 9, 2016.

DEAN, W. E. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. **Journal of Sedimentary Petrology**, v. 44, p. 242–248, 1974.

DELWING-DE LIMA, D. et al. The effect of d-galactose induced oxidative stress on in vitro redox homeostasis in rat plasma and erythrocytes. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 86, p. 686–693, 2017.

DEMORI, J. **Análise histórica da contaminação por metais pesados na Baía Da Babitonga - SC**. Universidade Vale do Itajaí, 2008.

DENADAI, M. R. et al. Veneridae (Mollusca, Bivalvia) da costa norte do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 3, p. 1–34, 2006.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Brasileira da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 2007.

FREITAS, R. et al. Effects of seawater acidification and salinity alterations on metabolic, osmoregulation and oxidative stress markers in *Mytilus galloprovincialis*. **Ecological Indicators**, v. 79, n. February, p. 54–62, 2017.

FRENCH, P. **Coastal and Estuarine Management**. 1. ed. Londres: Routledge, 1997.

GALEHOUSE, J. S. Sedimentation analysis. In: CARVER, R. E. (Ed.). . **Procedures in sedimentary petrology**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, Inc., 1971.

GERHARDINGER, L. C. et al. Local ecological knowledge of fishermen from Babitonga Bay, Santa Catarina, Brazil: Fishes from the Serranidae family and marine environmental changes. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 28, n. 3, p. 253–261, 2006.

GONZÁLEZ-ORTEGÓN, E. et al. Field distribution and osmoregulatory capacity of shrimps in a temperate European estuary (SW Spain). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 67, n. 1–2, p. 293–302, 2006.

GRACE, V. B. et al. Hydrological mixing and geochemical processes characterization in an estuarine/mangrove system using environmental tracers in Babitonga Bay (Santa Catarina, Brazil). **Continental Shelf Research**, v. 28, n. 4–5, p. 682–695, 2008.

HAUCK, A. K. et al. Adipose oxidative stress and protein carbonylation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 4, p. 1083–1088, 2019.

JESUS, R. S. DE. **Metais traço em sedimentos e no molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791), municípios de Madre de Deus e de Saubara, Bahia**. [s.l.] Universidade Federal da Bahia, 2011.

KEHRIG, H. A. et al. Total and Methyl Mercury in Different Species of Molluscs from

Two Estuaries in Rio de Janeiro State. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 7, p. 1409–1418, 2006.

LIMA, M. DE A. et al. Osmorregulação em moluscos: o caso do bivalve estuarino tropical *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca: Bivalvia). **Conexões - Ciência e Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 79–84, 2009.

MARCHI, L. DE et al. Environmental fate of multistressors on carpet shell clam *ruditapes decussatus*: Carbon nanoparticles and temperature variation. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, p. 1–15, 2020.

MCLUSKY, D. S.; ELLIOTT, M. The Estuarine Environment. In: **The Estuarine Ecosystem**. [s.l.] Oxford University Press, 2004. p. 1–18.

MIRANDA, L. B. DE; CASTRO, B. M. DE; KJERFVE, B. **Princípios de Oceanografia Física de Estuários**. São Paulo: EDUSP, 2002.

MOUËZA, M.; GROS, O.; FRENKIEL, L. Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliana* (Bivalvia, Veneridae). **Journal of Molluscan Studies**, v. 65, n. 1, p. 73–88, 1999.

NARCHI, W. Comparative study of the functional morphology of *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) and *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae). **Bulletin of Marine Science**, v. 22, n. 3, p. 643–670, 1972.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Nova Iorque: W.H. Freeman and Company, 2014.

NEWELL, C. R. et al. The contribution of marine snow to the particle food supply of the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 321, n. 2, p. 109–124, 2005.

NOERNBERG, M. A.; RODRIGO, P. A.; LUERSEN, D. M. Seasonal and fortnightly variability of the hydrodynamic regime at Babitonga Bay, Southern of Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 40, p. 15, 2020.

NORIEGA, C. D. et al. Fluxos de nutrientes inorgânicos dissolvidos em um estuário tropical - Barra das Jangadas - PE, Brasil. **Tropical Oceanography**, v. 33, n. 2, p. 133–145, 2005.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

OLIVEIRA, T. DE S. et al. Processo sedimentar atual e distribuição da matéria orgânica em um complexo estuarino tropical, Recife, PE, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 14, n. 3, p. 399–411, 2014.

PACKER, L. Oxidants, antioxidants nutrients and the athlete. **Journal of Sports Science**, v. 15, n. 3, p. 353–363, 1997.

PEREIRA FILHO, J.; SPILLERE, L. C.; SCHETTINI, C. A. F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do Rio Itajaí-açu, SC. **Revista Atlântica**, v. 25, n. July, p. 11–20, 2003.

POLI, C. R. et al. **Aquicultura: experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications**. Washington: Hemisphere, 1985.

REGOLI, F. et al. Seasonal variations of susceptibility to oxidative stress in *Adamussium colbecki*, a key bioindicator species for the Antarctic marine environment. **Science of the Total Environment**, v. 289, n. 1–3, p. 205–211, 2002.

REGOLI, F.; NIGRO, M.; ORLANDO, E. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. **Aquatic Toxicology**, v. 40, p. 375–392, 1998.

REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 357–363, 1994.

RIBEIRO, J. P. N. et al. Spatial distribution of *Crinum americanum* L. in tropical blind estuary: Hydrologic, edaphic and biotic drivers. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 287–291, 2011.

RIOS, E. **Seashells of Brazil**. 2. ed. Rio Grande: Fundação Universidade do Rio Grande, 1994.

RODRIGUES, A. M. L. **Ecologia populacional do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791) (Bivalvia, Veneridae) em praias da região estuarina do Rio Apodi/Mossoró - RN**. [s.l.] Universidade Federal Rural do Semi-árido, 2009.

RODRIGUES, A. M. L.; BORGES-AZEVEDO, C. M.; HENRY-SILVA, G. G. Aspectos da biologia e ecologia do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 4, p. 377–383, 2010.

SALOMONS, W.; FÖRSTNER, U. **Metals in the Hydrocycle**. 1. ed. Berlin: [s.n.].

SAMPAIO, L. DO S. DE O. **Monitoramento do berbigão *Anomalocardia brasiliana* ( Gmelin 1791 ) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé, Florianópolis/SC**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

SARDI, A. E. et al. Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1–2, p. 496–508, 2016.

SILVA-CAVALCANTI, J. S. DA; COSTA, M. F. DA; KEHRIG, H. DO A. Total mercury (T Hg) in *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca) under different biological and

environmental conditions. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 2, p. 267–274, 2016.

SILVA-CAVALCANTI, J. S.; COSTA, M. F. Fisheries of *Anomalocardia brasiliiana* in tropical estuaries. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 6, n. 2, p. 86–99, 2011.

SILVA, J. B. DA et al. Classificação Geomorfológica dos Estuários do Estado de Pernambuco (Brasil) com Base em Imagens do LANDSAT 5/TM (Geomorphologic Classification of Estuaries of the State of Pernambuco (Brazil) Based on Landsat 5 TM Images). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 1, p. 118, 2011.

SOUZA, D. S. E. **Caracterização da pescaria do berbigão *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791) (Mollusca: Bivalvia) na reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Florianópolis/SC): Subsídios para o manejo**. [s.l.] Universidade do Vale do Itajaí, 2007.

SOUZA, F. M. DE. **Efeitos da contaminação por metais na macrofauna bêntica de ambientes estuarinos**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2016.

SUGUIO, K. Introdução à Sedimentologia. **Editora USP**, 1973.

TORRES, M. A. et al. Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 9, p. 923–932, 2002.

TREVISAN, R. Marcadores de estresse oxidativo e outros parâmetros biológicos em peixes e bivalves como ferramentas de monitoramento ambiental: análise de dois ecossistemas catarinenses. p. 1–52, 2008.

TURECK, C. R. et al. Avaliação da concentração de metais pesados em tecido de ostras *Crassostrea gigas* (Molusca, Bivalve) cultivadas na Baía Babitonga, litoral norte de Santa Catarina. **Pesticidas Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 16, p. 53–62, 2006.

UPTON, G.; COOK, I. **A Dictionary of Statistics**. 3. ed. Oxford: OUP Oxford, 2014.

VELLOSA, J. C. R. et al. Estresse Oxidativo: Uma Introdução Ao Estado Da Arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152–10168, 2021.

VIEIRA, C. V. et al. Caracterização Morfo-sedimentar E Setorização Do Complexo Estuarino Da Baía Da Babitonga/SC. **Boletim Paranaense de Geociências**, v. 62–63, p. 85–105, 2008.

WALLNER-KERSANACH, M.; LOBO, S. E.; SILVA, E. M. DA. Depuration effects on trace metals in *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 52, n. 6, p. 840–847, 1994.

WILHELM FILHO, D. et al. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). **Brazilian Journal of**

**Medical and Biological Research**, v. 34, n. 6, p. 719–726, 2001.

ZHOU, Q. et al. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, n. 2, p. 135–150, 2008.

### Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE) a disponibilizar em ambiente digital institucional, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/IBICT) e/ou outras bases de dados científicas, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o texto integral da obra abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data 27/10/2021.

1. Identificação do material bibliográfico: ( ) Tese ( X ) Dissertação ( ) Trabalho de Conclusão

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Autor: LEONARDO MANGOLD WINTER

Orientador: LUCIANO LORENZI Coorientador: DANIELA DELWING-DE LIMA

Data de Defesa: 27/08/2021

Título: EFEITOS DO GRADIENTE ESTUARINO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO DE *Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767) NA BAÍA DA BABITONGA, SANTA CATARINA

Instituição de Defesa: Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE)

3. Informação de acesso ao documento:

Pode ser liberado para publicação integral (X) Sim ( ) Não

Havendo concordância com a publicação eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese, dissertação ou relatório técnico.



Assinatura do autor

Joinville, 27 de Outubro de 2021

Local/Data