

Biomarcadores

Oral

286 - O EFEITO SAZONAL SOBRE A CITOGENOTOXICIDADE DO CARANGUEJO-UÇÁ (*Ucides cordatus*), VISANDO CATEGORIZAR O ESTADO DE CONSERVAÇÃO DE MANGUEZAIS BRASILEIROS

SOUZA, C. A., PINHEIRO, M. A. A.

carol.souza.bio@gmail.com, pinheiro.crab@gmail.com

Palavras-chave: micronúcleo; vermelho neutro; poluição; conservação

INTRODUÇÃO

Ucides cordatus é uma espécie endêmica de manguezais, com ampla distribuição e elevada relevância ecológico-econômica. No mundo todo, os manguezais têm sido alvo de deterioração, seja pela ocupação indevida, como pelo descarte de substâncias xenobióticas, provenientes da indústria, agricultura e efluentes. O monitoramento de animais expostos à contaminantes ambientais in situ, empregando parâmetros populacionais ou biomarcadores, têm sido eficaz na avaliação da contaminação dos sistemas estuarinos. Com este fim, empregaram-se testes cito e genotóxicos (teste micronúcleo e ensaio vermelho neutro, respectivamente), para avaliar o status de conservação de manguezais paulistas, além de detectar seu possível efeito sazonal (verão vs. inverno).

METODOLOGIA

Foram selecionadas seis áreas de manguezal paulistas (Juréia, Cananéia, Iguape, Bertioxa, São Vicente e Cubatão), com diferentes níveis de contaminação, cada uma com três subáreas amostrais. Foram coletados machos ($n=10$ /subárea), em intermuda, com largura ≥ 60 mm (conforme legislação vigente), compreendendo duas expedições, uma no verão (janeiro a março) e outra no inverno (julho a agosto). Cada animal foi submetido à punção de hemolinfa para realização dos biomarcadores de genotoxicidade (MN‰, teste micronúcleo) e citotoxicidade (VN, teste vermelho neutro).

O número de células micronucleadas por 1,000 analisadas (MN‰) foi quantificado para cada animal, com base no esfregaço de hemolinfa em lâmina, após fixação (Carnoy) e coloração (Giemsa), segundo Pinheiro et al. (2013). As lâminas foram observadas em microscópio óptico (1,000x), com anotação das formações nucleares estabelecidas por Countryman and Heddle (1976). Amostras de hemolinfa de cada indivíduo também serviram ao ensaio vermelho neutro, onde se observou o tempo de retenção deste corante, pela proporção de células com extravasamento lisossomal para o citosol, e demais anormalidades quanto ao tamanho e coloração, indicativas do estresse celular (LOWE et al., 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve confirmação de diferença sazonal significativa entre os postos medianos de genotoxicidade (Mann-Whitney= 16232,5; $P=0,974$), ocorrendo uma hierarquia decrescente entre os manguezais [SAV>CUB>(IGU=BET)>CAN>JUR], com São Vicente apresentando média cerca de cinco vezes superior à da Juréia ($6,8\pm 1,6$ MN‰ e $1,3\pm 0,9$ MN‰, respectivamente). Como a citotoxicidade é uma variável antagônica à genotoxicidade, foi confirmada inversão desta hierarquia, com as subáreas da Juréia ($130\pm 50,9$ min.) e São Vicente ($34,0\pm 19,5$ min.) posicionadas em extremos opostos. No entanto, para a citotoxicidade foi maior durante o verão (Mann-Whitney=19223,5; $P=0,002$), independente da área de manguezal avaliada, diferindo do ocorrido com a genotoxicidade, que não apresentou tal sensibilidade no confronto sazonal.

Células com micronúcleos sinalizam danos genéticos e, dependendo de sua frequência, quantificam o efeito genotóxico em manguezais. Assim, os resultados deste biomarcador indicaram áreas de manguezal com menor incidência clastogênica (p. ex., Juréia e Cananéia), em média $<1,5$ MN‰, contrastando aos outros manguezais historicamente contaminados (p. ex., Cubatão e São Vicente), com média $>6,1$ MN‰. A maior genotoxicidade ocorreu nos manguezais do Litoral Centro do Estado de São Paulo (Cubatão, São Vicente e Bertioga: $5,5 \pm 1,7$ MN‰), caracterizados pelos maiores adensamentos populacionais humanos e por seu complexo industrial e portuário, enquanto menores frequências ocorreram no litoral sul deste estado (Cananéia, Iguape e Juréia: $2,7 \pm 1,8$ MN‰), que estão dentro de diversas unidades de conservação estaduais e federais.

Os valores sazonais obtidos demonstram alterações na capacidade de retenção das membranas lisossomais entre os períodos analisados, perdurando por maior tempo durante o verão do que no inverno, independente da área de manguezal avaliada. Esta maior sensibilidade do teste vermelho neutro às alterações sazonais pode ser decorrente da potencialização dos efeitos dos estressores ambientais, e não apenas de contaminantes, devido à redução do volume hídrico durante a estiagem (inverno).

Quanto menor o tempo de retenção do vermelho neutro pelos hemócitos, maior é o estresse (e dano fisiológico) ao qual o organismo foi submetido, ocorrendo o inverso com a elevação desse tempo até a apoptose, indicando menor estresse ambiental e dano orgânico. Novamente, os manguezais influenciados por efeitos industriais e portuários (Cubatão: $39,8 \pm 13,8$ min.; e São Vicente: $34,0 \pm 19,5$ min.) corresponderam aos de maiores danos xenobióticos quando confrontados àqueles de áreas prístinas (Juréia: $130,6 \pm 50,9$ min.; e Cananéia: $111,0 \pm 40,7$ min.).

CONCLUSÃO

Foi possível determinar o estado de conservação dos manguezais através da aplicação de biomarcadores em *Ucides cordatus*, já que os resultados foram eficazes em confirmarem o histórico de contaminação de cada área. A melhor compreensão dos efeitos dos xenobióticos sobre a fauna é imprescindível ao refinamento de protocolos que possam ser utilizados em diferentes épocas do ano. O ensaio do vermelho neutro demonstrou sua eficiência como resposta ao impacto oriundo da sinergia entre diferentes fontes de contaminação e alterações abióticas sazonais, enquanto os micronúcleos são lesões mais persistentes no DNA, difíceis de serem alteradas em curto espaço de tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COUNTRYMAN, P. I.; HEDDLE, J. A. (1976) The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research* 41: 321-332.
- LOWE, D. M.; FOSSATO, V. U.; DEPLEDGE, M. H. (1995) Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study. *Mar Ecol Prog Ser* 129:189-196
- PINHEIRO, M. A. A.; DUARTE, L. F. A.; TOLEDO, T. R.; ADAM, M. L.; TORRES, R. A. (2013) Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environ Monit Assess* 185:8273-8285

FONTE FINANCIADORA

Bolsa de doutorado CNPq #141627/2014-0, Comissão Técnico Científica do Instituto Florestal (COTEC/FF) #005.183/2015, SISBIO #47.192-2