

**EULER DOLORES SALINAS**

**Respostas moleculares em ostras, *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757), expostas a água coletada na enseada e em áreas de cultivo de moluscos em Balneário Camboriú, SC**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Maria Risoleta Freire Marques.

Florianópolis  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dolores Salinas, Euler

Respostas moleculares em ostras, *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757), expostas a água coletada na enseada e em áreas de cultivo de moluscos em Balneário Camboriú, SC / Euler Dolores Salinas ; orientadora, Maria Risoleta Freire Marques - Florianópolis, SC, 2014.

166 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. *Crassostrea gasar*. 3. Biomarcadores. 4. Esgoto sanitário. 5. Maricultura. I. Marques, Maria Risoleta Freire. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Respostas moleculares em ostras, *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757), expostas a água coletada na enseada e em áreas de cultivo de moluscos em Balneário Camboriú, SC**

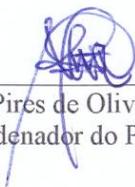
Por

EULER DOLORES SALINAS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.



---

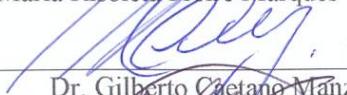
Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:



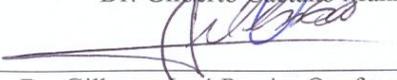
---

Drs. Maria Risoleta Freire Marques – *Orientadora*



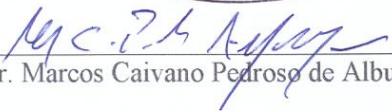
---

Dr. Gilberto Cactano Manzoni



---

Dr. Gilberto José Pereira Onofre de Andrade



---

Dr. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque



Dedicado aos empreendedores  
pesqueiros que fazem uma real  
integração multidisciplinar.



## AGRADECIMENTOS

Meu respeito e agradecimento fraterno à professora Dra. Maria Risoleta F. Marques pela orientação e pelo importante apoio no desenvolvimento da pesquisa.

Ao Dr. Afonso C. Dias Bainy pela colaboração e as valiosas sugestões em todo o decorrer do trabalho.

Ao Dr. Adalto Bianchini, coordenador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Toxicologia Aquática (INCT-TA) pelo apoio institucional.

Aos professores e funcionários administrativos do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Ao Dr. Claudio M. Rodrigues de Melo e a toda a equipe do Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Ao Dr. Fabricio Flores Nunes, M.Sc. Jacó Joaquim Mattos, M. Sc. Clei Endrigo Piazza e M.Sc. Flavia Zacchi pelo importante apoio no delineamento experimental e na análise de dados.

À equipe do Laboratório de Química Orgânica do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (USP) pelo importante apoio na realização das análises químicas dos contaminantes orgânicos.

À Rômi, Bárbara, Juliana Moser, Isis, Míriam, Daína, Juliana Tiska, Ana Paula, Cecília, Gabrielle, Rafael, Álvaro, Diego, Camila, Guilherme e toda a equipe do Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica (LABCAI) da UFSC.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) / MEC por ter outorgado a bolsa na etapa final dos estudos.

Aos professores Dr. Gilberto Manzoni, Dr. Marco Albuquerque e Dr. Gilberto Andrade pela participação e os seus importantes aportes como membros da banca.

Ao Artur e Benjamin que aportaram seus conhecimentos, experiências e colaboração direta e indireta na execução do trabalho de campo e no decorrer do mestrado.

Ao grande amigo e empresário Raphael Ribeiro da Fonseca (USP) pela amizade, fraternidade e sabedoria em todos estes anos.

Ao Jaimir Galiski, Presidente da Associação dos Maricultores de Balneário Camboriú, pela amizade, confiança e por todo o apoio logístico no trabalho de campo.

Aos companheiros do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina pela amizade, aprendizado e valioso intercâmbio de conhecimentos acadêmicos e profissionais.

Ao Dr. Luis Vinatea Arana, científico líder e propulsor do desenvolvimento sustentável da aquicultura.

Ao amigo, mentor e ilustre mestre, Prof. Dr. Juan Enrique Vinatea Jaramillo (QEPD), cientista pioneiro do desenvolvimento da Aquicultura na América Latina, o qual deixou importantes conhecimentos e iniciativas para seguir crescendo profissionalmente no âmbito pesqueiro e aquícola.

“Si has construido castillos en el aire,  
tu trabajo no se pierde, ahora coloca  
las bases debajo de ellos”.

(George Bernard Shaw)



## RESUMO

O cultivo de moluscos bivalves marinhos acaba comumente dividindo o mesmo espaço geográfico com outros setores econômicos, tais como o turismo e a indústria imobiliária, os quais estão associados ao impacto de origem antrópica registrado em muitas áreas costeiras. Apesar da procura pelo ordenamento e definição de parques aquícolas, esta situação ainda ocorre com frequência. O Município de Balneário Camboriú (SC- Brasil) (BC), cuja economia dependente do turismo, apresenta altos índices de desenvolvimento humano e uma reconhecida cadeia logística comercial, urbana e imobiliária. Nos meses de verão, a população do município aumenta de forma significativa e supera em quase nove vezes a população local fixa, a qual por si só já representa a maior densidade populacional de Santa Catarina. Nesse contexto, o presente estudo avaliou os níveis de transcritos de genes alvo em brânquias da ostra *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (= *C. brasiliana*) expostas em laboratório por 24 horas a água do mar da Praia Taquarinhas, como área referencia (TAQ), das áreas de cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), da Foz do Rio Camboriú (CAM) e do Canal de Marambaia (MAR) de BC. Análises de qualidade de água e a determinação de contaminantes orgânicos nas ostras e em sedimentos foram também realizadas. Os resultados evidenciaram valores altos de coliformes totais e termotolerantes (fecais) em MAR e CAM respectivamente. As concentrações de fosforo em CAM superaram os limites da legislação vigente. Nos tecidos das ostras, os  $\Sigma$ LABs e  $\Sigma$ DDTs totais foram maiores em LAR, enquanto as maiores concentrações de esteroides totais registraram-se em CAM. No sistema antioxidante de proteção celular, destacam-se os níveis mais elevados de *GPx* e *SOD* em MAR e *ALAd* em CAM. Os genes envolvidos na biotransformação de xenobióticos selecionados (*CYP450-2AUI*, *GST*  $\omega$  e *SULT1C1*) não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos. *FABP* teve maior transcrição em MAR e *HSP70* registrou maior transcrição em CAM. Os resultados evidenciam o maior impacto por contaminantes em CAM e MAR e alertam para a consequente vulnerabilidade de BAR e LAR, recomendando ainda o biomonitoramento ambiental na região.

**Palavras-chave:** Aquicultura, *Crassostrea gasar*, Biomarcadores, Esgoto sanitário, Maricultura.



## ABSTRACT

Mollusk aquaculture quite often shares the same geographic space with other economic activities, such as tourism and real estate construction, which can bring along anthropogenic impact upon several coastal areas. In spite of the definition and establishment of aquacultures specific areas, this situation can still be frequently found. Balneário Camboriú (SC- Brazil) (BC), which economy relies on tourism, displays a high human development index and a well-established commercial, urban, and construction logistic chain. During summer, the city population increases dramatically up to almost nine fold the local population, which per se represents the higher population density among the cities of Santa Catarina. In this context, this study evaluated transcript levels of target genes in gill tissue of oyster *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (= *C. brasiliiana*) exposed for 24 hours under laboratory conditions to sea water from Taquarinhas Beach, reference area (TAQ), from two mollusk growing areas, Laranjeiras (LAR) and Barra (BAR), from the mouth of Camboriú River (CAM) e from Marambaia Channel (MAR) in BC. Water quality analyses and determinations of organic compounds in both oysters and sediment samples were also performed. Our results elicited high levels of total and thermotolerant coliforms in MAR and CAM, respectively. Concentrations of phosphorus in CAM were shown to be above the limits recommended by the current legislation. Total  $\Sigma$ LABs and  $\Sigma$ DDTs in oyster tissues were higher in LAR, whereas higher concentrations of steroids were seen in CAM. As far as the antioxidant system is concerned, transcript levels were higher for *GPx* and *SOD* in MAR and for *ALAd* in CAM. The target genes related to the biotransformation of xenobiotics (*CYP450-2A1*, *GST omega* and *SULT1C1*) showed no significant differences among groups. FABP transcripts were higher in MAR, whereas HSP70 transcripts were more elevated in CAM. Overall our results indicate that CAM and MAR experience a higher impact of contaminants and alert about the vulnerability of both BAR and LAR, yet recommending the environmental biomonitoring in the area.

**Keywords:** Aquaculture, *Crassostrea gasar*, Biomarker, Sanitary Sewage, Mariculture.



## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1-** Evolução da produção de moluscos comercializados em Santa Catarina (1990 - 2014) (toneladas)..... 29
- FIGURA 2-** Recorte da imagem gerada pelo Google Earth de Balneário Camboriú, com a distribuição espacial dos pontos selecionados para a coleta de água visando a exposição das ostras em laboratório. 1.TAQ: Área referência - Praia Taquarinhas; 2.LAR: Área aquícola de cultivo de moluscos bivalves (Laranjeiras); 3.BAR: Área aquícola de cultivo de moluscos bivalves (Barra); 4. CAM: Foz do Rio Camboriú; 5. MAR: Canal de Marambaia..... 66
- FIGURA 3-** Em: A - Visão geral das ostras *Crassostrea gasar* (sin. *Crassostrea brasiliiana*, Lazoski et al., 2011) nos aquários durante o experimento de exposição em laboratório; B - Aspecto externo de um exemplar de ostra *Crassostrea gasar* durante o referido experimento..... 67
- FIGURA 4-** Resultados das análises de qualidade de água: (A) coliformes totais e termotolerantes, (B) DQO, (C) DBO, (D) Detergente, (E) Fenóis totais, (F) Fósforo, (G) Nitrogênio e (H) Sólidos Suspensos Totais das amostras de água de controle (C) e as águas coletadas da Praia de Taquarinhas (TAQ), cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR) e cultivo de moluscos da Barra (BAR), Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR) do município de Balneário Camboriú..... 76
- FIGURA 5-** Concentração de contaminantes orgânicos detectados em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* coletadas na estação experimental do cultivo de moluscos da Praia Sambaqui do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero; T0) e daquelas expostas por um período de 24 horas (T24) à água do mar coletada no LCM/UFSC (controle; C) e em campo na Praia Taquarinhas (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no Município Balneário Camboriú, SC ..... 80
- FIGURA 6-** Concentração de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), Bifenilas Policlorados (PCBs), Pesticidas Organoclorados (POCs - DDTs), Alquilbenzenos lineares (LABs)

(ngg<sup>-1</sup>) e Esteroides totais e copostranol (ugg<sup>-1</sup>) em amostras de sedimentos da Praia Taquarinhas (TAQ), dos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), da Foz do Rio Camboriú (CAM) e do Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.....82

**FIGURA 7-** Níveis de transcritos de genes alvo associados às defesas celulares antioxidantes em brânquias de ostras *Crassostrea gasar* expostas à água do mar coletada nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), no Canal de Marambaia (MAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM), na Praia Taquarinhas (TAQ) e no LCM/UFSC (controle; C). Em: (A) *Catalase-like* (CAT-like); (B) *Glutathione peroxidase-like* (GPx-like); (C) *Superoxide dismutase-like* (SOD-like); (D) *Delta-Aminolevulinato desidratase-like* (ALAd-like). Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão. As letras minúsculas referem-se a diferenças estatísticas significativas (p<0,05) entre os grupos .....85

**FIGURA 8-** Níveis de transcritos de genes alvo associados ao processo de biotransformação em brânquias de ostras *Crassostrea gasar* expostas à água do mar coletada nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), no Canal de Marambaia (MAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM), na Praia Taquarinhas (TAQ) e no LCM/UFSC (controle; C). Em: (A) *Citocromo P450 2A1* (CYP450 2A1); (B) *Glutathione-S-transferase ômega-like* (GST ômega-like); (C) *Sulfotransferase 1C1-like* (SULT 1C1-like); (D) *Proteína ligante de ácidos graxos-like* (FABP-like) e (E) *Proteína de Choque Térmico-like* (HSP70-like). Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão. As letras minúsculas referem-se a diferenças estatísticas significativas (p<0,05) entre os grupos.....86

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1-** Produção mundial da aquicultura em águas continentais e cultivos marinhos por grupo de espécies em 2012 (milhões de toneladas). ..... 24
- TABELA 2-** Dados do Parque Aquícola no Município de Balneário Camboriú..... 40
- TABELA 3-** Evolução da produção de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em toneladas - Balneário Camboriú (2011-2014) ..... 40
- TABELA 4-** Sequências dos iniciadores utilizados na qPCR para amplificação dos genes alvo deste estudo em brânquias de *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) e tamanho dos fragmentos esperados (pb = pares de base)..... 73
- TABELA 5-** Concentrações de Bifenilas Policlorados (PCBs), Alquilbenzenos Lineares (LABs) e Pesticidas Organoclorados (POCs), representado pelo grupo de DDTs, em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* ( $\text{ngg}^{-1}$ -peso seco), coletadas na estação de cultivo experimental de moluscos da Praia Sambaqui do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero) e expostas por 24 horas às águas do mar coletadas no LCM/UFSC (controle; C) e em campo: Praia Taquarinhas (TAQ), cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR), cultivo de moluscos da Barra (BAR), Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC..... 77
- TABELA 6-** Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* ( $\text{ngg}^{-1}$ -peso seco) da estação de cultivo experimental de moluscos da Praia Sambaqui do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero) e aquelas expostas por 24 horas às águas coletadas no LCM/UFSC (controle; C) e em campo: Praia Taquarinhas (TAQ), cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR), cultivo de moluscos da Barra (BAR), Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC ..... 79
- TABELA 7-** Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) ( $\text{ngg}^{-1}$ ) em amostras de sedimentos coletados na Praia Taquarinhas (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras

(LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.....83

**TABELA 8-** Concentrações dos Esteroides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em amostras de sedimentos coletados na Praia Taquarinhas (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.....83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT–Associação Brasileira de Normas Técnicas  
ALAd – ácido  $\delta$ -aminolevulínico desidratase  
ANOVA – análise de variância (teste estatístico).  
BAR – área de cultivo de moluscos no bairro da Barra no Município de Balneário Camboriú, SC.  
CAM – Foz do Rio Camboriú na enseada do Município de Balneário Camboriú, SC.  
CAT – catalase  
cDNA – sequência nucleotídica complementar de DNA  
cm – centímetros  
CONAMA – Comissão Nacional do Meio Ambiente  
CYP – Citocromo P450  
DBO – demanda bioquímica de oxigênio  
DNA – ácido desoxirribonucleico  
DQO – Demanda Química de Oxigênio  
EDC, do inglês – *Endocrine Disrupters Chemicals* (Desreguladores Endócrinos).  
ERO – espécie reativa de oxigênio  
FABP, do inglês – *Fatty Acid Binding Protein* (Proteína de ligação a ácidos graxos).  
g – gramas  
GPx – Glutathione Peroxidase  
GST – Glutathione S-transferase  
HPA – hidrocarboneto policíclico aromático  
HSP – do inglês: Heat Shock Protein (Proteína de choque térmico)  
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
INCT-TA – Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia - Toxicologia Aquática  
LABCAI – Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica da Universidade Federal de Santa Catarina.  
LAR– área de cultivo de moluscos de Laranjeiras no Município de Balneário Camboriú, SC.  
LCM – Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina.  
LMM – Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina.  
MAR– Canal de Marambaia no Município de Balneário Camboriú, SC.  
mg – miligrama/L – miligrama por litro

mg/mL – miligrama por mililitro.  
ng.g-1 – nanograma por grama  
nm – nanômetro  
NMP/100 mL – número mais provável por cem mililitros  
NR – do inglês: *Nuclear Receptors* (Receptores nucleares)  
PCBs – Bifenilas policloradas  
PCP – do inglês: *Personal Care Products* (Produtos de cuidado pessoal)  
PCR – do inglês: Polimerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)  
ppt – do inglês: *parts per thousand* (partes por mil)  
RNA – ácido ribonucléico  
OD – Oxigênio dissolvido  
s – segundos  
SOD – Superóxido Dismutase  
SULT – Sulfotransferase  
TAQ – área de referência da Praia Taquarinhas em Balneário Camboriú, SC.  
TRIR, do inglês – *Total RNA Isolation Reagent* (reagente para o isolamento do RNA total).  
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina  
°C – graus centígrados  
µg – micrograma  
µl – microlitro

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL .....	23
1.1	Situação geral da produção da aquicultura mundial e no Brasil. 23	
1.2	Cultivo de moluscos no Brasil.....	26
1.2.1	Produção de moluscos bivalves no Estado de Santa Catarina ....	27
1.3	Ecossistemas Costeiros: Turismo, Crescimento Demográfico e Saneamento .....	30
1.3.1	Saneamento no Brasil .....	35
1.3.2	Situação do Saneamento no Estado de Santa Catarina.....	36
1.3.3	Município de Balneário Camboriú .....	36
1.3.4	Cultivo de moluscos no Município de Balneário Camboriú.....	39
1.3.5	Importância do monitoramento sanitário no cultivo de moluscos marinhos .....	40
1.4	Moluscos bivalves: organismos bioindicadores de contaminação aquática.....	42
1.4.1	Organismo bioindicador <i>Crassostrea gasar</i> (Adanson 1757).....	44
1.4.2	Biomarcadores de contaminação aquática.....	45
1.4.3	Defesas celulares: sistema de defesa antioxidante e de biotransformação de xenobióticos .....	47
1.4.4	Proteínas associadas a outros sistemas de defesas celulares.....	51
2.	JUSTIFICATIVA .....	53
3.	OBJETIVOS.....	55
3.1	Objetivo Geral .....	55
3.2	Objetivos Específicos .....	55
4.	RESPOSTAS MOLECULARES EM OSTRAS <i>Crassostrea gasar</i> (Adanson, 1757) EXPOSTAS A ÁGUA COLETADA NA ENSEADA E EM ÁREAS DE CULTIVO DE MOLUSCOS EM BALNEÁRIO CAMBORIÚ, SC .....	57
4.1	RESUMO .....	58
4.2.	INTRODUÇÃO.....	59
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	64
5.1	Área de estudo e pontos de coleta de água do mar .....	64

5.2	Material Biológico.....	67
5.3	Delineamento Experimental.....	68
5.3.1	Acondicionamento e aclimatação das ostras <i>Crassostrea gasar</i> .....	68
5.3.2	Acondicionamento das amostras de água do mar e exposição de ostras em laboratório .....	68
5.4	Análise de qualidade de água .....	69
5.5	Análise de contaminantes orgânicos nos tecidos de ostras e em amostras de sedimentos.....	69
5.6	Análise moleculares .....	70
5.6.1	Obtenção das amostras de brânquias das ostras expostas em laboratório .....	70
5.6.2	Extração de RNA total .....	70
5.6.3	Síntese do cDNA.....	71
5.6.4	Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR).....	71
5.7	Análise Estatística .....	73
6.	RESULTADOS.....	74
6.1	Análise de qualidade de água .....	74
6.2	Contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras .....	77
6.3	Contaminantes orgânicos nos sedimentos.....	81
6.4	Análise de transcritos gênicos .....	84
7.	DISCUSSÃO.....	87
7.1	Qualidades de água.....	88
7.2	Contaminantes orgânicos nos tecidos de ostras e nos sedimentos.....	90
7.3	Níveis de transcritos dos genes .....	100
8.	CONCLUSÕES.....	115
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	117
10.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	119
11.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS INTRODUÇÃO GERAL .....	143

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Situação da produção aquícola mundial e no Brasil

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), no estudo intitulado “O Estado Mundial da Pesca e da Aquicultura” (FAO, 2014), a produção pesqueira mundial atingiu 158 milhões de toneladas no ano 2012. Deste total, a pesca teve uma produção de 91,3 milhões de toneladas, distribuída na pesca marinha e continental, com 80,7 e 10,1 milhões de toneladas respectivamente. Por outro lado, a produção aquícola de pescados comestíveis registrou 66,6 milhões de toneladas, sendo 41,9 milhões de toneladas oriundas da aquicultura continental e 24,7 milhões de toneladas da aquicultura marinha.

No mesmo estudo, a FAO (2014) destaca que a produção aquícola mundial atingiu nova alta histórica, ou seja, 90,4 milhões de toneladas (equivalente em peso vivo) em 2012 (US\$ 144 bilhões), das quais, 66,6 milhões de toneladas corresponderam a pescados comestíveis e 23,8 milhões de toneladas a algas. A FAO considera como pescados comestíveis além de peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, tartarugas de água doce e outros animais aquáticos (como pepinos do mar, ouriços do mar, ascídias e medusas comestíveis), produzidos com a finalidade de utilização como alimento para o consumo humano.

Na produção aquícola mundial no ano de 2012, por grupo de espécies, a produção de peixes representou 66,3%, seguida pela produção de moluscos com 22,8% e de crustáceos com 9,7 % (Tabela 1).

Segundo os dados da FAO (2014), entre os quinze principais países produtores aquícolas no ano 2012, destaca-se a predominância de cinco países asiáticos, os quais, em conjunto, somaram 79,8% da produção mundial, liderados pela China com o 61,7%, seguida pela Índia com 6,3%, o Vietnã e a Indonésia com 4,6% e Bangladesh com 2,6 %. Entre os países da América, o Chile ocupa o oitavo lugar com 1,6% da produção mundial, enquanto o Brasil ocupa o décimo segundo lugar com 1,1% e, os Estados Unidos o décimo quinto lugar com 0,6%; somando todos juntos somente 3,3% da produção global. Por outro lado, no ano 2013, a produção pesqueira mundial (pesca mais aquicultura) alcançou um novo recorde de mais de 160 milhões de toneladas, impulsionada pelo contínuo crescimento da produção aquícola (OECD-FAO, 2014).

**TABELA 1:** Produção mundial da aquicultura em águas continentais e cultivos marinhos por grupo de espécies em 2012 (milhões de toneladas).

Grupo de espécies	Aquicultura continental	Cultivos Marinhos	Subtotal	Total (%)
Peixes	38,6	5,5	44,1	66,3
Crustáceos	2,5	3,9	6,4	9,7
Moluscos	0,3	14,9	15,2	22,8
Outras espécies	0,5	0,4	0,9	1,2
Total	41,9	24,7	66,6	100

Fonte: FAO (2014).

A expansão da produção aquícola deve ainda impulsionar o crescimento da produção pesqueira mundial nos próximos anos. É esperado que a produção aquícola alcance cerca de 92 milhões de toneladas em 2023, podendo vir a registrar, assim, o aumento de 38% na próxima década. Isso seria equivalente a uma taxa de crescimento anual de 2,5%, significativamente inferior à taxa de crescimento de 5,6% ao ano, registrada na década anterior (2004-2013). Considera-se que esta desaceleração prevista para a expansão do setor deva estar relacionada a restrições causadas pelos impactos ambientais da produção, bem como pela competição por água e pelas zonas costeiras por outros usuários. Por exemplo, os cultivos aquícolas ao longo da costa, lagos ou rios podem entrar em conflito com o desenvolvimento urbano ou turístico (OECD-FAO, 2014).

O Banco Mundial (2013) no informe *Fish to 2030* considera que a produção pesqueira total ascenderá a 187 milhões de toneladas no ano 2030. Assim, para 2030 a pesca e a aquicultura contribuirão da mesma maneira para a produção pesqueira mundial, sendo provável que, após esse ano, venha a ser registrado um predomínio da aquicultura, tomando-se como base projeções, segundo as quais, a aquicultura virá a fornecer mais de 60 % do pescado para consumo humano direto. Nesse contexto, o estudo ressalta que se deva prestar especial atenção ao setor aquícola, em se pretendendo que a maior parte da produção pesqueira proceda dele. Consequentemente, o crescimento constante do setor deve estar dirigido de forma ambientalmente sustentável, com a inclusão dos insumos necessários, tendo como objetivo cuidar para que o aumento da oferta de pescado também favoreça aqueles que mais dependem do pescado, seja como fonte de alimentação direta ou como meio de vida e sustento.

A aquicultura fornece quantidades significativas de pescado e outras fontes alimentares aquáticas para consumo humano, constituindo seus produtos uma das principais fontes de proteína alimentar. A indústria associada à atividade aquícola também cria milhões de empregos, dentro e fora das áreas de cultivo. Com uma gestão adequada, a aquicultura pode ser ambiental e socialmente sustentável, atender a crescente necessidade de alimentos e contribuir para a segurança alimentar, redução da pobreza e para o desenvolvimento econômico sustentável (WWF, 2010).

Os bivalves são uma fonte de proteína animal saudável, apresentando alta eficiência na conversão de nutrientes e matéria orgânica em proteína animal, e apresentam altos níveis de ácidos graxos essenciais (FAO, 1990). O crescente aumento do consumo de bivalves, particularmente ostras, nas últimas décadas permite projetar a continuidade da expansão significativa desse setor da aquicultura nos próximos anos (LOVATELLI; FARÍAS; URIARTE, 2007). Por outro lado, dado que a produção aquícola do setor é relativamente nova e, sobretudo, tem experimentado rápida expansão, tem se chamado a atenção para a possibilidade de eventuais conflitos com outros setores mais estabelecidos (FAO, 2011).

Assim, o interesse em cultivar bivalves de importância comercial está aumentando entre os industriais do setor. Uma das vantagens deste tipo de cultivo está relacionada com sua sustentabilidade ecológica, dada à posição dos moluscos bivalves como animais de base da cadeia trófica. A alimentação baseada no fitoplâncton natural, não só reduz o montante de investimento necessário, por tratar-se de cultivos extensivos, como reduz também o impacto ambiental em comparação com os cultivos de peixes e crustáceos. (LOVATELLI; FARÍAS; URIARTE, 2007).

Oceanos, mares, zonas costeiras e a economia azul que lhes está associada são essenciais para o desenvolvimento socioeconômico, para fornecer uma boa fonte de alimento, para a segurança alimentar e para contribuir com a luta contra a fome e a pobreza em nível nacional e mundial. Estes são fatores que contribuem como um todo e podem colaborar para impulsionar o crescimento econômico de forma responsável. No entanto, a pesca excessiva, bem como a contaminação e o desenvolvimento não-sustentável estão causando danos irreversíveis aos ambientes costeiros, com reflexos nas suas características e funções ecológicas, bem como na biodiversidade (FAO, 2014).

Assim sendo, do ponto de vista da economia ecológica, o desenvolvimento sustentável seria entendido como um processo que visa o bem-estar humano, com base numa produção material/energética que

garanta o conforto, além de ser considerada adequada e que esteja estabilizada num nível compatível com os limites termodinâmicos do planeta (RIBEIRO, 2011).

O Brasil tem grande potencial para a aquicultura, devido a suas condições naturais, seu clima favorável e sua matriz energética. Esse potencial está relacionado ainda à sua extensão costeira de mais de oito mil quilômetros, à sua zona econômica exclusiva (ZEE) de 3,5 milhões de km<sup>2</sup> e à sua dimensão territorial, que concentra, aproximadamente, quase 13% da água doce renovável do planeta. Ademais, apresenta um mercado cobiçado no mundo por seu potencial de consumo interno: mais de 200 milhões de habitantes (MPA, 2014).

De acordo com a FAO (2014), a produção aquícola do Brasil em 2012 englobou 611.343 mil toneladas relativas à produção de peixes, 74.415 mil toneladas de crustáceos, 20.699 mil toneladas de moluscos e 1.005 mil toneladas relativas a outras espécies aquáticas, totalizando 707.461 mil toneladas; valor que representou 1,1% na produção da aquicultura mundial.

Na pesquisa da Produção Pecuária Municipal de 2013 realizada pelo IBGE (2013), o valor monetário total da produção aquícola brasileira foi de R\$ 3,055 bilhões, englobando a produção de peixes de 392.493 mil toneladas, camarões com 64.669 mil toneladas e moluscos (ostras, mexilhões e vieiras) com 19.369 mil toneladas. Desse total a produção de camarões representou o 66,1%, peixes o 25% e moluscos o 1,9%, os demais produtos o 7% (alevinos, larvas e pós-larvas de camarões, sementes de ostras, vieiras e mexilhões, e outros animais).

## **1.2 Cultivo de moluscos no Brasil**

O Brasil tem um litoral superior a 8.400 km, voltado para o Oceano Atlântico, incluindo região equatorial, região tropical e regiões subtropicais e, apresentando uma grande variedade de ambientes, tais como estuários, mangues, baías, enseadas, praias de areia, costões, ilhas costeiras rochosas e recifes de coral. Esses recursos naturais, além de inúmeras áreas adequadas para a maricultura, estão relacionados com a existência de uma rica biodiversidade de moluscos bivalves, muitos destes comestíveis e de interesse econômico. Por outro lado, as regiões costeiras estão sobre crescentes pressões antrópicas, devido ao crescimento populacional e à litoralização da população, que está concentrada nos grandes centros urbanos (RUPP *et al.* 2008).

Um dos setores da produção aquícola que representa um importante crescimento e desenvolvimento no mundo é o cultivo de moluscos bivalves marinhos (malacocultura).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura, o Estado de Santa Catarina concentra os cultivos de moluscos do Brasil, respondendo por cerca de 95% da produção nacional da malacocultura no país (MPA, 2013). Tanto a mitilicultura, como a ostreicultura, encontram em Santa Catarina o seu destaque em nível nacional (EPAGRI, 2014).

A malacocultura no Brasil está concentrada principalmente em três espécies cultivadas, a saber: o mexilhão *Perna perna* (Linnaeus 1758), a ostra do Pacífico, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) e a vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (MPA, 2013).

Os cultivos de ostras, vieiras e mexilhões vêm se tornando um importante segmento da indústria aquícola brasileira, por serem considerados atividades ambientalmente responsáveis e proporcionarem uma rápida melhoria da condição de vida de várias comunidades envolvidas (WASSERMAN, 2007).

Uma das principais preocupações para o desenvolvimento da atividade é a qualidade sanitária das águas, onde o cultivo de moluscos é realizado. As regiões costeiras têm experimentado um crescimento rápido da população e muitas localidades não possuem estruturas adequadas para o tratamento dos efluentes domésticos, o que pode afetar a qualidade da água e a segurança alimentar do produto (RUPP *et al.*, 2008).

### **1.2.1 Produção de moluscos bivalves no Estado de Santa Catarina.**

A costa litorânea de Santa Catarina, associada a uma elevada e diversificada produtividade do mar, favorece e muito o desenvolvimento e o cultivo de moluscos bivalves (mexilhões, ostras e vieiras) (ROZANSKI *et al.*, 2000).

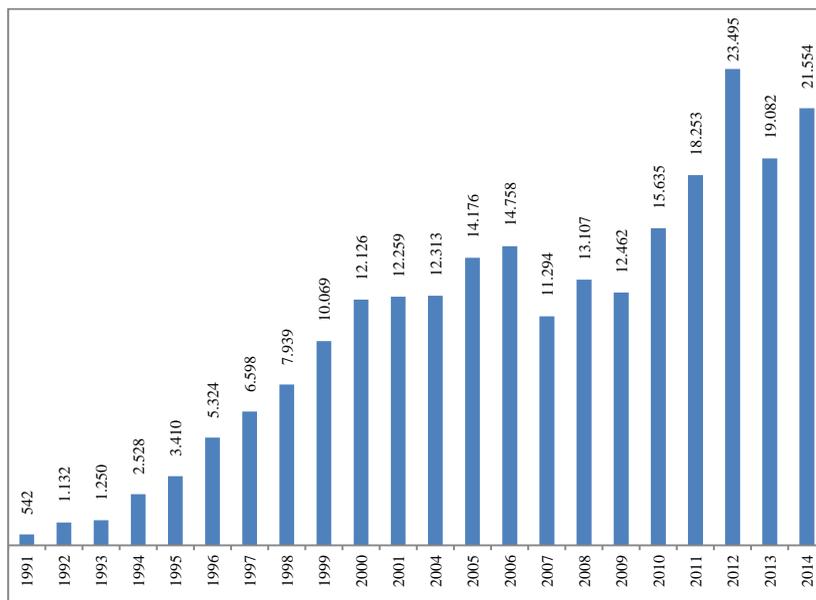
Em relação ao cultivo de ostras, o marco do início da sua expansão em Santa Catarina data de 1991, a partir do trabalho desenvolvido pelo Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em conjunto com a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) (MONTIBELLER, 2002; CAVALLI; FERREIRA, 2010).

O desenvolvimento do setor teve como plataforma os avanços nas investigações e na produção de sementes da ostra do Pacífico *Crassostrea gigas*. De acordo com Costa e colaboradores (1998), a introdução desta espécie impulsionou a expansão da ostreicultura,

favorecida por suas características, o rápido crescimento, a facilidade de adaptação, o bom rendimento de carne, o amplo conhecimento sobre a biologia e tecnologia de cultivo disponível e economicamente viável.

Segundo dados da EPAGRI (2015), a produção total de moluscos comercializados em 2014 no Estado de Santa Catarina (mexilhões, ostras e vieiras) foi de 21.553,6 toneladas (Figura 1). A comercialização de mexilhões (*Perna perna*) foi de 17.853,1 toneladas, enquanto de ostras (*Crassostrea gigas*) foi de 3.630,36 toneladas e de vieiras (*Nodipecten nodosus*) foi de 30,2 toneladas. Com os dados registrados nos últimos oito anos, o estado de Santa Catarina mantém a tendência crescente na produção, bem como a liderança na produção total de moluscos bivalves no Brasil.

**Figura 1:** Evolução da produção de moluscos comercializados em Santa Catarina (1990 - 2014) (toneladas).



Fonte: EPAGRI (2015).

Atualmente, o LMM/UFSC é o principal fornecedor de sementes de *C. gigas* no Brasil. Consequentemente, Santa Catarina destaca-se como o único estado com um sistema integrado para o cultivo de ostras, desde a produção de sementes em laboratório até a comercialização (FERREIRA *et al.*, 2011). Registra-se ainda no estado outro laboratório produtor de sementes de *C. gigas*, o Blue Water Aquaculture, de caráter privado.

No contexto de diversificar a produção de ostras em Santa Catarina, a mesma que está ligada ao fomento da produção de espécies nativas, principalmente do gênero *Crassostrea*. Nesse sentido, atualmente, a produção regular de sementes de ostras nativas não está ainda totalmente estabelecida, mas o LMM/UFSC tem buscado consolidar um sistema de produção adaptado às espécies nativas, principalmente da espécie *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (LEGAT, 2015).

Nesse contexto, as pesquisas científicas no Brasil tiveram uma importância vital e fundamental para o estabelecimento de uma política

governamental de desenvolvimento da criação de moluscos no Brasil (MANZONI, 2005).

### **1.3 Ecossistemas Costeiros: Turismo, Crescimento Demográfico e Saneamento.**

Na medida em que aumenta a população residente em áreas litorâneas, os ecossistemas costeiros são mais pressionados, pela conversão de habitats naturais, crescimento da poluição e aumento da demanda sobre recursos locais (BURSZTYN; BURSZTYN, 2012).

As zonas costeiras são os ecossistemas mais urbanizados. Europa, América do Norte, Oceania e América Latina têm as maiores áreas costeiras urbanizadas, com mais de 80% da população vivendo em cidades ao longo da linha da costa (UN-HABITAT, 2008).

Fatores como crescimento populacional, localização geográfica, êxodo rural, políticas nacionais e outras políticas sociais e econômicas provocam o aumento da urbanização, com a consequente demanda por infraestruturas. Comunidades e indústrias estão investindo cada vez mais no potencial de exploração da zona costeira, em atividades relacionadas a pescado, óleo, gás natural, areia, minerais, aquicultura, habitação, turismo e lazer (PIATTO; POLETTE, 2012).

A contaminação marinha é geralmente referida como a presença no meio marinho (água, sedimentos e organismos) de compostos orgânicos e inorgânicos (muitas vezes de origem antropogênica) que ocorrem em excesso, provocando alterações nas características do ecossistema (VIARENGO et al., 1991). Esses poluentes são eventualmente dispersos no ambiente aquático, através de várias vias, como a deposição atmosférica, a descarga direta, o escoamento superficial de águas, e a transferência de cadeia alimentar (UNO; ISHIZUKA; ITAKURA, 2012).

No caso da zona costeira brasileira, em particular, pode-se observar uma grande diversidade de situações, coexistindo áreas densamente povoadas, de intensa urbanização, industrialização e exploração turística de larga escala, com espaços de baixa densidade populacional e ocorrência de ecossistemas naturais de grande significado ambiental, como áreas estuarinas, manguezais, lagunas e restingas (IBGE, 2010). Este quadro merece especial atenção, tendo em vista a tendência atual de crescimento econômico, associado ao aumento da exploração de novas áreas petrolíferas, impondo um risco maior de exposição dos organismos marinhos (LÜCHMANN, 2012).

A ocupação humana do litoral estimulada pelo turismo e o segmento de imóveis, representa mais uma forma de impacto para o ambiente marinho, principalmente costeiro (IBUSP, 2011). O novo cenário turístico implica riscos para os destinos costeiros consolidados que têm tido um desenvolvimento centrado no aumento da demanda, muitas vezes associado a uma excessiva urbanização, levando a uma situação que pode superar a capacidade de carga dos espaços receptores, gerando impactos ambientais e sociais (SOARES, 2014).

O turismo desordenado vem descaracterizando a faixa litorânea, com o bloqueio do acesso público ao litoral, quer pela implantação de condomínios e de grandes empreendimentos hoteleiros, quer pelas praias particulares e loteamentos mal planejados. Além do fato de essa expansão vir ocorrendo de forma desordenada e às expensas da incorporação de áreas de grande relevância ambiental (dunas, mangues, etc.), ela também transfere para espaços novos, parte dos vetores de comprometimento ambiental típicos das grandes aglomerações, tais como: contaminação das águas subterrâneas, superficiais e das praias, remoção da cobertura vegetal e de solos, interferência na dinâmica de carreamento de sedimentos marinhos (IBAMA, 2002).

De acordo com Serafim e Hazin (2005), o Brasil possui aproximadamente 8,5 mil km de costa, onde se concentram cerca de 75% dos principais centros urbanos, dispostos ao longo do litoral, sendo que cerca de 80% de sua população vivem a não mais de 200 km do mar.

O IBGE (2010) destaca que no Brasil o grande contingente de população na zona costeira e sua concentração em alguns pontos da costa, associados à carência de saneamento ambiental, especialmente de coleta e tratamento de esgotos sanitário e industrial, causam grandes impactos sobre o meio ambiente, com implicações sobre a qualidade da água no litoral, afetando a pesca e a atividade turística. A ocupação desordenada do litoral, intensificada tanto pela especulação imobiliária como pela expansão da atividade turística, tem causado a redução das áreas de restinga e manguezal. A ampliação da rede de coleta de esgoto e, principalmente, o aumento do percentual de esgotos tratados são as medidas mais importantes para reduzir o impacto da ocupação humana sobre a zona costeira. Um maior controle do uso e ocupação do solo na zona litorânea também reduziria a pressão ambiental nessas áreas.

Mesmo apresentando mais de 2/3 da sua população vivendo ao longo da costa, o Brasil não dispõe na região costeira de sistemas apropriados de captação, tratamento e lançamento de esgoto (ABESSA et al., 2005). Entretanto, dentre os atrativos exibidos pela zona costeira

que contribuíram para o quadro hoje estabelecido, estão: a maior facilidade para o escoamento de produtos industrializados e agrícolas, através dos portos, facilidade para disposição de efluentes residuais nos corpos da água, clima ameno, beleza cênica e lazer. Como consequências imediatas, observa-se: a destruição da Mata Atlântica e seus ecossistemas associados, expulsão da população "caiçara", emigração rural, adensamento da população urbana, poluição e declínio da produtividade biológica (RODRIGUES, 2003).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), segundo a NBR (7229-1993), define o seguinte:

- Esgoto doméstico: água residuária de atividade higiênica e/ou de limpeza.

- Esgoto industrial: despejo líquido resultante dos processos industriais, respeitados os padrões de lançamentos estabelecidos.

- Esgoto sanitário: água residuária composta de esgoto doméstico, despejo industrial admissível a tratamento conjunto com esgoto doméstico e água de infiltração.

O esgoto sanitário é outro problema diretamente relacionado à presença de centros urbanos nas proximidades de estuários. Além de grande quantidade de água, o esgoto sanitário pode ser considerado uma mistura, carregando uma série de componentes poluentes, onde se destacam a matéria orgânica, os nutrientes, organismos patogênicos e materiais em suspensão, entre outros (BISHOP, 1983).

É impossível determinar a composição exata do esgoto, mas seus efluentes podem conter, de modo geral, grandes quantidades de matéria orgânica e contaminantes diversos, como fármacos, produtos de higiene pessoal, produtos de limpeza doméstica, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, metais traço, entre outros (PETROVIC, 2003), sendo assim considerado como uma das principais fontes de contaminantes em ambientes costeiros (KENNISH, 1991).

Scherer (2003) destaca que as águas do esgoto doméstico são compostas basicamente por proteínas (40-60%), carboidratos (25-50%), gorduras e óleos (10%), ureia derivada da urina, e um grande número de traços orgânicos, no qual se incluem pesticidas, surfactantes, fenol e outros poluentes. Os poluentes não só afetam a sobrevivência e o desempenho dos organismos como também causam o estresse do ecossistema como um todo, modificando sua estrutura, funções e diversidade em vários níveis de organização, incluindo o número de espécies e sua estrutura genética (LOPEZ-BAREA; PUEYO, 1998). Muitos são cancerígenos e causadores de mutações genéticas, e podem

afetar o metabolismo dos animais de tal maneira que podem vir a provocar a morte dos mesmos (OHE et al., 2004).

De acordo com Martins (2005), os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e Alifáticos (HPA) são os principais contaminantes orgânicos encontrados no ambiente. Nakata e colaboradores (2014) evidenciam que os mesmos estão presentes em uma grande variedade de matrizes ambientais, incluindo ar, água, sedimentos e organismos. Os HPAs são poluentes orgânicos de grande persistência no ambiente, podendo ser classificados como petrogênicos (presentes no petróleo e seus derivados), pirogênicos (formados durante os processos de combustão) e biológicos (sintetizados por organismos vivos). Nos organismos marinhos sua toxicidade depende de sua persistência e biodisponibilidade, habilidade de acumulação ou metabolização e capacidade dos contaminantes interferirem no metabolismo normal desses organismos (BÍCEGO, 1996). Apesar da pouca solubilidade em água, esses contaminantes; podem ser transportados no meio aquático, adsorvidos em partículas em suspensão, e, posteriormente, depositados no sedimento (GODOI et al., 2004) e dado que suas propriedades os classificam como substâncias tóxicas (GRIMMER et al., 1983), apresentam especialmente carcinogenicidade e mutagenicidade para os seres humanos (NAKATA et al., 2014).

A composição do esgoto pode incluir ainda outros compostos clorados como os inseticidas dicloro-difenil-tricloroetanos (DDTs), compostos derivados de óleos e graxas como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e derivados de detergentes como os alquilbenzenos lineares (ABLs) (MEDEIROS, 2008). Uma classe de compostos lipofílicos, e desse modo sujeitos à biomagnificação e que estão associados a uma série de desordens crônicas, principalmente reprodutivas, são as bifenilas policloradas (PCBs) (CANESI et al., 2003). No Brasil a produção de detergentes sintéticos tem crescido expressivamente, chegando a lançar no mercado cerca de 220 mil ton/ano de LAB e 80 mil t/ano de LAS, sendo a Deten Química S.A, a maior fabricante de LAB no país. Essa produção representa cerca de 10% da produção mundial e coloca o Brasil entre os principais produtores mundiais (PENTEADO et al., 2006). Os LABs apresentam massa molecular variando entre 218 a 274g /mol<sup>-1</sup>, são líquidos sem coloração (TAKADA; EGANHOUSE, 1998) e estão presentes nos detergentes comerciais e industriais, podendo permanecer por vários anos no sedimento marinho (EGANHOUSE et al., 1983), podendo, ainda, acumular-se em tecidos biológicos (SHERBLOM et al., 1992). Sendo um

dos motivos que os LABs junto com os esteroides fecais são utilizados como indicadores de contaminação por esgoto (MARTINS et al., 2010; MARTINS et al., 2014).

De acordo com Roberts e colaboradores (1978), os PCBs são um grupo de hidrocarbonetos aromáticos halogenados sintéticos e são usados em produtos que incluem agentes de transferência de calor, lubrificantes, agentes dielétricos, retardadores de chama, plastificantes e materiais de impermeabilização. Os PCBs provocam uma variedade de efeitos biológicos e tóxicos, como defeitos de nascimento, insuficiência reprodutiva, danos no fígado, tumores e até morte (EISLER, 1986). As principais fontes de PCBs para o ambiente marinho são representadas pelos efluentes industriais ou urbanos despejados nos rios e lagos, além de fumaças decorrentes da incineração de produtos contendo PCBs (MONTONE, 1995).

O esgoto doméstico ainda pode apresentar substâncias que vêm sendo consideradas como “contaminantes emergentes”, cuja presença é característica de efluentes municipais. Dentre estas, estão fármacos, produtos de uso pessoal (PPCPs) e desreguladores endócrinos (EDCs), os quais apenas recentemente vêm recebendo atenção quanto aos efeitos para a biota e quanto a necessidade de regulamentação para o descarte no ambiente (BOLONG et al., 2009). De acordo com Wan e colaboradores (2009), os produtos químicos de desregulação endócrina (EDC), também chamados de hormônios ambientais, são um grupo de substâncias químicas com a capacidade de perturbar o funcionamento fisiológico normal dos sistemas hormonais dos seres humanos e animais. A exposição aos EDCs causa uma variedade de efeitos deletérios, tendo sido associados à diminuição da contagem de espermatozoides, ao aumento da ocorrência de câncer testicular em seres humanos, bem como a feminização de peixes e intersex de moluscos.

O descarte indiscriminado de esgoto sanitário nas águas costeiras pode comprometer a qualidade dos compartimentos marinhos. Apesar de 99% da composição dos esgotos sanitários corresponderem à água de abastecimento, a fração de 1% contém substâncias sólidas, semissólidas e líquidas, sendo que muitas são consideradas poluentes (GONÇALVES; SOUZA, 1997). Ademais, pesquisas mostram que a produção de esgoto doméstico em áreas costeiras aumenta consideravelmente nos períodos de férias e finais de semana (BRAGA et al., 2000).

Estabelecer limites às atividades desenvolvidas na zona costeira não é uma tarefa simples. Os eventos que ocorrem em qualquer um de seus compartimentos refletem sobre os demais, gerando impactos de

diferentes magnitudes. As mudanças no ambiente costeiro estão relacionadas com uma complexa hierarquia de interações dentro e fora do sistema (RODRIGUES, 2007). Ademais, a contaminação dos ecossistemas costeiros por esgoto sanitário é uma preocupação mundial, uma vez que cidades que não possuem coleta, tratamento e despejos adequados para o mesmo, apresentam um maior risco de contaminação microbiológica e química (MEDEIROS, 2008).

### **1.3.1 Saneamento no Brasil**

É importante ressaltar que o saneamento básico é o conjunto dos serviços e instalações de abastecimento de água, esgotamento sanitário, limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo das águas pluviais urbanas. As ações de saneamento são consideradas preventivas para a saúde, quando garantem a qualidade da água de abastecimento, a coleta, o tratamento e a disposição adequada de dejetos humanos e resíduos sólidos. Elas também são necessárias para prevenir a poluição dos corpos de água e a ocorrência de enchentes e inundações (MINISTERIOS DAS CIDADES, 2014).

No Brasil, segundo dados do Sistema Nacional de Informação de Saneamento (SNIS) no ano 2013, o índice de atendimento total de água à população é de 82,5% (MINISTERIO DAS CIDADES, 2014). Por outro lado, em relação à coleta de esgoto, a média brasileira é de 48,6%, e a média de tratamento do esgoto dos municípios representa o 40,93% e sendo a média nacional de 39% (TRATA BRASIL, 2015). O tratamento do esgoto coletado é condição essencial para a preservação da qualidade da água dos corpos d'água receptores, para a proteção da população e das atividades que envolvem outros usos dessas águas, como, por exemplo, abastecimento humano, dessedentação de animais, irrigação, aquicultura e recreação (IBGE, 2015).

Sobre o volume de esgotos sanitários coletados e tratados pelos serviços públicos, conforme já mencionado, dados do SNIS em 2013 permitem inferir que o índice médio de tratamento dos esgotos coletados no Brasil é de 69,4%. É interessante observar que essa proporção é menor no Sudeste (64,3%), seguida pelo Nordeste, Sul e Norte (respectivamente, 78,1%, 78,9% e 85,3%). O melhor desempenho está no Centro-Oeste, com 91,6% dos esgotos coletados recebendo tratamento (MINISTERIO DAS CIDADES, 2014).

### **1.3.2 Situação do Saneamento do Estado de Santa Catarina**

O Estado de Santa Catarina tem a maioria da sua população e grande parte das atividades econômicas concentradas na região costeira, o que torna esta região bastante suscetível a eventuais impactos ambientais gerados pela disposição excessiva de contaminantes oriundos de todas estas atividades. (MACEDO et al., 2005).

Segundo o relatório de saneamento da Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental de Santa Catarina (ABES-SC) (2008), uma das principais causas da poluição do solo, de águas subterrâneas, de mananciais superficiais e cursos de água em Santa Catarina é a destinação inadequada de esgotos sanitários domésticos e industriais.

Nesse contexto, o Estado de Santa Catarina tem o índice de atendimento total de água de 86,02%, a rede de coleta de esgotos de 16,03%, e com tratamento de esgoto de 19,58% o que posiciona o Estado em décimo oitavo lugar entre as vinte e sete unidades da federação (MINISTERIO DAS CIDADES, 2014). Esses resultados evidenciam a urgência em investimentos sistemáticos em coleta e tratamento de efluentes urbanos no Estado (SOUZA et al., 2014).

### **1.3.3 Município de Balneário Camboriú**

O Município de Balneário Camboriú está localizado no litoral centro-norte do Estado de Santa Catarina na latitude 26° 59'26"S e longitude 48° 38'30"O. Tem limites pelo Norte com o município de Itajaí, pelo Sul com o município de Itapema, a oeste com o município de Camboriú e a leste com o Oceano Atlântico. Possui 46,244 Km<sup>2</sup> (IBGE, 2010) de extensão territorial e encontra-se a 80 km ao norte de Florianópolis, capital do Estado de Santa Catarina.

Balneário Camboriú é um excelente exemplo do desenvolvimento do turismo como atividade principal na economia municipal. Assim, com base no Censo Demográfico do ano 2010 Balneário Camboriú tinha uma população de 108 mil habitantes (IBGE, 2010) e estimativas para o ano 2015 de mais de 128 mil habitantes (IBGE, 2015). Ademais, possui a mais alta densidade populacional no estado de Santa Catarina com 2.337,67 hab/km<sup>2</sup> (IBGE, 2015).

Segundo a Secretaria Municipal de Turismo do município, Balneário Camboriú se caracteriza por três polos econômicos que são a construção civil, o turismo e o setor terciário. O polo que se destaca mais é o turismo. Atualmente, Balneário Camboriú é um dos principais e melhores destinos turísticos do Brasil, sendo registrados, na alta

temporada, com a chegada do verão, aproximadamente dois milhões de visitantes (FLORES et al., 2012; SECTURBC, 2015).

Balneário Camboriú está dividido politicamente em 14 áreas, sendo 12 bairros, a região das Praias Agrestes (Laranjeiras; Taquarinhas, Taquaras, Estaleiro, Estaleirinho) e o Centro da cidade. A região central da cidade localiza-se entre o Canal Marambaia, localizado ao norte, seguindo ao Sul tangenciando o Oceano Atlântico até a Foz do Rio Camboriú (HIDRO K ENGENHARIA, 2007).

No município a rota das praias agrestes tem alto potencial turístico por seus atrativos naturais e urbanos, sendo a praia de Laranjeiras a que representa um dos importantes destinos turísticos do município e que no seu entorno alberga espaços gastronômicos, imobiliários, comerciais, com grande movimentação de pessoas, especialmente no verão e ao longo do ano todo, também conta com setores produtivos, como a pesca e maricultura de moluscos. Em situação contígua, a praia de Taquarinhas representa uma das poucas praias que tem pouca afluência de pessoas e ainda mantém espaços naturais sem impacto antropogênico, em comparação com as praias, Taquaras, Estaleiro, Estaleirinho, do Pinho, entre outras.

No centro da Enseada de Balneário Camboriú está localizada a praia central, que tem 7 km de orla, é a praia mais urbanizada do município e onde ficam a maioria dos estabelecimentos comerciais, hotéis, bares e restaurantes (SOARES, 2012; SANTUR, 2015). Representa a área de maior atividade e fluxo turístico do município, principalmente no verão, nos meses da temporada alta.

A praia de Laranjeiras está localizada a uma distância de 6 km do centro da cidade e tem uma extensão de 750 metros. Localizada em uma pequena baía, é uma praia com águas calmas. Apresenta acesso através da rodovia BR101 e pela estrada Interpraias; ou através do teleférico que liga a praia Central com a praia de Laranjeiras (CAMACHO, 2010; SOARES, 2012; SANTUR, 2015; SECTURBC, 2015). No caso da praia de Taquarinhas, esta possui 600 metros de extensão e está localizada a 8 km do centro da cidade, onde a natureza está totalmente preservada, apresenta areias mais grossas, com águas límpidas e cristalinas, porém agitadas e profundas, onde não existem construções e nenhum tipo de infraestrutura (CAMACHO, 2010; SOARES, 2012; SANTUR, 2015; SECTURBC, 2015).

A Enseada de Balneário Camboriú, por sua vez, apresenta uma orla densamente urbanizada, sendo sua praia muito utilizada para recreação de contato primário. (KUROSHIMA et al., 2000). Atualmente, a cidade possui uma ampla infraestrutura para receber

turistas dos mais diversificados locais, o que transforma o município no quinto centro turístico nacional. Possui mais de 6.000 estabelecimentos comerciais, dentre eles bares, restaurantes, casas noturnas e lojas, que oferecem aos turistas as mais variadas opções de entretenimento, lazer e compras, e uma infraestrutura hoteleira com cerca de 20 mil leitos. Da mesma forma, como vários outros municípios litorâneos de Santa Catarina, Balneário Camboriú apresenta altos índices de crescimento populacional. Ainda, mais recentemente, o município está na quinta posição nacional no Índice de Desenvolvimento Humano - IDH – Brasil, fato este que somente potencializa os atrativos da cidade (BALNEÁRIO CAMBORIÚ, 2014).

O Município de Balneário Camboriú possui dois corpos hídricos principais: o rio Marambaia e o rio Camboriú. Ambos pertencem à Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú - BHRC e são considerados como principais responsáveis pelo aporte de água doce para a enseada, assim como potenciais fontes de nutrientes, contaminante e sedimentos. A BHRC possui uma área de 199,8 km<sup>2</sup>, na qual estão incluídos os municípios de Camboriú e Balneário Camboriú. As áreas urbanas de Camboriú e de Balneário Camboriú atingem as margens do rio Camboriú, o que aumenta a sua vulnerabilidade à contaminação por águas residuárias urbanas, doméstica e industrial, muitas vezes clandestinas e *in natura* (BALNEÁRIO CAMBORIÚ, 2014), sendo o mesmo ainda utilizado de via de acesso, a atracadouros e marinas (INPH, 2000).

De menor porte que o rio Camboriú, e também pertencente à mesma bacia, porém, sem uma conexão direta com o mesmo, o canal do rio Marambaia possui pequeno porte e deságua no extremo norte da Praia Central, drenando principalmente a área urbana norte do município. Após o intenso processo de urbanização, com o avanço das construções, impermeabilização do solo e verticalização, o rio Marambaia acabou por ser pressionado a partir do seu entorno devido a aterros e trechos de canalização das suas águas (BALNEARIO CAMBORIU, 2014), sendo utilizado muitas vezes como local de despejo de dejetos orgânicos (SCHETTINI et al., 1996). O Canal do Marambaia é o principal coletor hidráulico (natural), que cruza a parte mais urbanizada do município e que percorre aproximadamente 3.200 metros até a sua foz na região norte da cidade. É a responsável por destinar as águas pluviais do Centro e de localidades mais adensadas (EMASA, 2012).

As atividades ligadas à agricultura e os esgotos domésticos e de estabelecimentos comerciais, que em muitos locais não recebem

tratamento suficiente e/ou adequado, são as maiores fontes da contaminação das águas do estuário e da enseada de Balneário Camboriú (KUROSHIMA et al., 1996). Segundo Tischer e colaboradores (2015), Balneário Camboriú está entre as zonas mais afetadas pelo processo de urbanização e atividade turística e, conseqüentemente, sofre pressão sobre seus recursos naturais.

Além disso, a população de Balneário Camboriú cresce em média 3% ao ano, aumentando nesta mesma proporção a quantidade de esgoto gerado (TCE, 2010). No entanto, com base nos dados do Plano Municipal de Saneamento Básico de Balneário Camboriú, deve-se considerar nas projeções futuras a população flutuante, que nas temporadas de veraneio chega a somar à população atual cerca de 800.000 mil pessoas (BALNEÁRIO CAMBORIÚ, 2012).

De acordo com o Instituto Trata Brasil (2015), Balneário Camboriú foi uma das primeiras cidades do Estado de Santa Catarina a tratar o esgoto gerado e atualmente atende a 95% da população. Apesar disso, a cidade continua sofrendo com problemas de balneabilidade. A situação ocorre porque o esgoto não tratado do município vizinho, Camboriú, chega ao município de Balneário Camboriú, através do rio Camboriú. Segundo as informações divulgadas pela Prefeitura de Balneário Camboriú, o município no ano 2014 teve o 98% de cobertura domiciliar de abastecimento de água e 91% dos domicílios tiveram cobertura de esgoto.

### **1.3.4 Cultivo de Moluscos no Município de Balneário Camboriú**

Atualmente, no município de Balneário Camboriú existe um Parque Aquícola com três áreas aquícolas, duas delas localizadas no bairro da Barra e a terceira em Laranjeiras, nas quais se realiza o cultivo de moluscos marinhos, mexilhões, ostras e vieiras (Tabela 2).

Nesse contexto, uma área aquícola é um espaço físico contínuo em meio aquático, delimitado e destinado a projetos de aquicultura, individuais ou coletivos. Assim sendo, parque aquícola é entendido como espaço físico contínuo em meio aquático, delimitado, que compreende um conjunto de áreas aquícolas afins, em cujos espaços físicos intermediários podem ser desenvolvidos outras atividades compatíveis com a prática da aquicultura (BRASIL, 2003).

Segundo a EPAGRI (2015), a produção e comercialização de moluscos no Município de Balneário Camboriú no ano 2014, envolveram, principalmente, o mexilhão (*Perna perna*) com 80

toneladas (Tabela 3). Já a produção da vieira foi representativa no ano 2013 com 1,6 toneladas.

TABELA 2: Dados do Parque Aquícola no Município de Balneário Camboriú.

Parque	Número de Área Aquícola	Localização no Município	Dimensão Área Aquícola (ha)	Vértices	Coordenadas Geográficas	
					Longitude	Latitude
Parque Aquícola Balneário Camboriú	128	Barra	1,05	1	48° 35' 58,04" W	26° 59' 33,48" S
				2	48° 36' 1,31" W	26° 59' 35,27" S
				3	48° 36' 3,18" W	26° 59' 32,50" S
				4	48° 36' 59,90" W	26° 59' 30,74" S
Parque Aquícola Balneário Camboriú	129	Barra	1,05	1	48° 36' 1,91" W	26° 59' 35,59" S
				2	48° 36' 5,16" W	26° 59' 37,37" S
				3	48° 36' 7,04" W	26° 59' 34,59" S
				4	48° 36' 3,78" W	26° 59' 32,83" S
Parque Aquícola Balneário Camboriú	130	Laranjeiras	1,65	1	48° 35' 23,08" W	26° 59' 33,93" S
				2	48° 35' 23,10" W	26° 59' 38,80" S
				3	48° 35' 27,09" W	26° 59' 38,80" S
				4	48° 35' 27,08" W	26° 59' 33,95" S

Fonte: MPA (2011).

TABELA 3: Evolução da produção de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em toneladas - Balneário Camboriú (2011 - 2014).

Anos	2011	2012	2013	2014	Total
Produção (ton)	53	98	65	80	296

Fonte: EPAGRI (2011:2014)

A produção aquícola anual do Município de Balneário Camboriú é pequena em relação ao resultado global e quando comparada com outros parques aquícolas no estado de Santa Catarina, mas representa o dinamismo do setor aquícola numa região onde encontram predominância outros setores produtivos e de serviços.

### 1.3.5 Importância do monitoramento sanitário no cultivo de moluscos marinhos.

No Brasil, o Conselho Nacional de Meio ambiente (CONAMA) do Ministério do Meio Ambiente (MMA) é a instituição encarregada de estabelecer as condições e padrões de qualidade de água para os cultivos aquícolas com destino à alimentação humana, incluindo os valores máximos de coliformes termotolerantes e parâmetros máximos para compostos inorgânicos e orgânicos em águas salinas.

Para avaliar a qualidade de água nas áreas dos cultivos de moluscos marinhos, um dos métodos é a realização de análise de coliformes totais e termotolerantes (fecais). Os coliformes fecais, mais

especificamente *Escherichia coli*, fazem parte da microbiota intestinal do homem e outros animais de sangue quente. Estes microrganismos quando detectados em uma amostra de água fornecem evidência direta de contaminação fecal recente, e por sua vez podem indicar a presença de patógenos entéricos (POPE *et al*, 2003). Assim sendo, por esse motivo, sua detecção é utilizada como indicador de contaminação de origem fecal. (EPAGRI, 2014). A concentração de microrganismos tem sido usada há décadas para monitorar e controlar a qualidade da água, e é um procedimento importante na proteção dos ecossistemas aquáticos (MEDEIROS *et al.*, 2009).

Os coliformes fecais, denominação utilizada durante muitos anos, ou coliformes termotolerantes, são bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais, caracterizados pela presença da enzima  $\beta$ -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás no prazo de 24 horas a 44,5°C. *E. coli* e algumas linhagens de *Klebsiella sp.* e *Enterobacter sp.* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais (CONAMA, 2005).

Os contaminantes, principalmente os persistentes, tendem a se acumular no ambiente e nos organismos e geram modificações nas características químicas, da qualidade da água e alterações nas comunidades biológicas. As substâncias não persistentes, ou degradáveis, promovem um aporte de nutrientes que favorece certos níveis tróficos, causando um desequilíbrio dentro da composição das comunidades e do ambiente (SCHÄFER, 1984).

O fósforo, assim como o nitrogênio, é indispensável para todas as células, por ser um importante componente de nucleotídeos, como o ATP, dos ácidos nucleicos e dos fosfolipídios componentes da membrana celular. As fontes de fósforo no ambiente aquático podem ser de origem natural, através do intemperismo de rochas fosfatadas; de origem antropogênica, decorrente de atividades agrícolas (fertilizantes) e da contaminação por detergentes (polifosfatados), podendo acarretar processos de eutrofização no ambiente (BAIRD, 2002).

Atualmente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o responsável pela saúde animal de organismos aquáticos e responde pela segurança dos alimentos de origem animal, no caso, o pescado. Assim, conseguir diagnosticar as doenças e contaminações precocemente é fundamental para o desenvolvimento da cadeia aquícola. Nesse sentido, no ano 2012, se instituiu o Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves. Este programa possibilitou à Companhia Integrada

de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC) fazer uma parceria como o MPA para o monitoramento da cadeia produtiva, sendo atribuída aos estados a responsabilidade pela execução das políticas públicas sanitárias na origem (MPA, 2014). Tendo conhecimento que na década dos anos 90 já se tinha o monitoramento da cadeia produtiva do setor.

#### **1.4 Moluscos bivalves: organismos bioindicadores de contaminação aquática.**

A fim de monitorar a contaminação nos ecossistemas e os efeitos dos contaminantes nos organismos e nas populações biológicas, estudos têm utilizado organismos-modelo com diferentes propósitos. Tais espécies têm sido definidas, segundo sua utilização, como indicadores, sentinelas ou monitoras (BEEBY, 2001).

O uso dos bioindicadores é mais eficiente do que as medidas instantâneas de parâmetros físicos e químicos (como por exemplo, temperatura, pH, oxigênio dissolvido, teores totais e dissolvidos de nutrientes, etc.) utilizados para avaliar a qualidade de água (CALLISTO; GONÇALVES; MORENO 2005).

As espécies indicadoras acusam mudanças nas estruturas populacionais (abundância ou ausência de determinadas espécies) causadas pelo impacto antrópico. O termo sentinela refere-se a organismos que são utilizados no monitoramento para análises químicas, no intuito de refletirem as concentrações de contaminantes biodisponíveis no ambiente. O termo monitor refere-se a organismos que são utilizados no monitoramento por indicarem algum efeito adverso nas suas funções ou desempenho, tais como em parâmetros fisiológicos, histológicos e bioquímicos, quando expostos a contaminante no ambiente (BEEBY, 2001).

Nesse contexto, os moluscos bivalves são alvo de diferentes estudos visando o biomonitoramento da contaminação marinha e são utilizados como bioindicadores por serem sedentários, euritérmicos, eurialinos, filtradores e acumuladores de compostos orgânicos e inorgânicos, apresentando, ainda, alta sensibilidade, capacidade de resistência e sobrevivência em lugares passíveis de impacto ambiental, além de registrarem ampla distribuição geográfica em ambientes costeiros e bentônicos (ANGELL, 1986; O'CONNOR, 2002; RITTSCHOF; MCCLELLAN-GREEN, 2005; VIARENGO et al 2007; KIMBROUGH et al., 2008; SERAFIM et al., 2008; ZANETTE et al.,

2010; NAKATA et al., 2012; ZUYKOV et al., 2013; JIANG et al., 2014, LÜCHMANN, et al., 2014).

Ademais, o estudo de invertebrados aquáticos em nível genômico tem gerado uma série de possibilidades de aplicação no campo da Biotecnologia e na Ecotoxicologia (MEDEIROS et al., 2008b; SAENZ et al., 2010; ZANETTE et al., 2010; LÜCHMANN, 2012; BITTENCOURT, 2013; LÜCHMANN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015).

Atualmente, as questões ambientais têm reforçado a necessidade da avaliação crítica do uso de moluscos bivalves em monitoramento químico (identificação e quantificação de poluentes) e no biomonitoramento (estimação da qualidade ambiental) (ZUYKOV et al., 2013).

A expressiva expansão do cultivo de moluscos bivalves marinhos abre tanto a possibilidade, como a necessidade de se consorciar as atividades de malacocultura e as ações de monitoramento ambiental, com retorno positivo para ambas as áreas. Os dados gerados pela Ecotoxicologia conferem certificado de qualidade ao pescado produzido, e o cultivo provê estrutura logística (ex.: área segura para experimento de campo e organismos com idade conhecida) para o desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas de produção (PEREIRA *et al.* 2007).

Do grupo geral dos moluscos bivalves, o gênero *Crassostrea* tem sido utilizado em diferentes atividades de biomonitoramento ambiental e, principalmente, na Aquicultura, devido às facilidades técnicas e de manejo no cultivo, tecnologias de reprodução disponíveis, altos rendimentos produtivos e econômicos e ampla distribuição geográfica no mundo.

Moluscos bivalves, se alimentam por filtração, sendo capazes de concentrar nos seus tecidos vários contaminantes da água do ambiente devido ao processo de bioacumulação (ZUYKOV et al., 2013). De acordo com GOSLING (2003), nos moluscos bivalves as brânquias participam na respiração e alimentação e ademais estão envolvidas na bioacumulação de pesticidas, metais pesados e hidrocarbonetos solúveis. Este processo de incorporação é facilitado pelo muco presente na superfície do tecido, que concentra uma variedade de contaminantes, facilitando a incorporação por gradiente de difusão. Ao incorporar os poluentes, estes são ligados a proteínas e liberados para a hemolinfa e os hemócitos circulantes (MARIGOMEZ et al., 2002). Segundo Choi e colaboradores (2007), estas características das brânquias fazem que este tecido seja alvo de estudos relacionados com a bioconcentração de poluentes. Ainda com referência ao assunto, Rocher e colaboradores

(2006) indicam que os moluscos, e em particular os bivalves, possuem uma vasta gama de defesas para evitar efeitos tóxicos de produtos químicos em nível celular: (i) metalotioneínas e proteínas de resistência a multi-xenobióticos que reduzem ativamente a entrada celular de substâncias tóxicas, (ii) a desintoxicação e sistemas antioxidantes, permitindo a neutralização e a eliminação de compostos, metabólitos e subprodutos e, finalmente, (iii) a reparação do ADN que mantem a integridade celular. A maioria desses processos é conduzida por proteínas cuja expressão é induzível e/ou cujos níveis de atividade podem estar relacionados com o teor ou efeito celular de certas substâncias tóxicas.

#### **1.4.1 Organismo bioindicador *Crassostrea gasar* (Adanson 1757)**

Diferentes estudos relacionados ao biomonitoramento ambiental no Brasil têm sido baseados na utilização de moluscos bivalves do gênero *Crassostrea* como organismos bioindicadores, incluindo a espécie exótica, a ostra do Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789), e as espécies nativas *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) e *Crassostrea gasar* (Adanson 1757).

As espécies de ostras mencionadas foram utilizadas em diversos estudos realizados tanto em ambientes naturais, como em condições controladas de laboratório e em exposição *in situ* em áreas de produção aquícola e em áreas com alto impacto antropogênico; estudos estes cujos resultados mostraram a pertinência e a relevância da utilização de biomarcadores bioquímicos e moleculares como indicadores de contaminação dos ecossistemas costeiros no sul do Brasil (ZANETTE et al., 2006; MEDEIROS et al., 2008a; LÜCHMANN et al., 2011; LÜCHMANN et al., 2012; PIAZZA, 2012; SOUZA et al., 2012; GOMES, 2013; ZACCHI, 2013; BITTENCOURT, 2013; FLORES-NUNES et al., 2014; TREVISAN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2014;2015; DOS REIS et al., 2015).

Recentemente, Melo e colaboradores (2010) e Lazoski e colaboradores (2011) constataram, com base em marcadores moleculares, que *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck 1819) não apresenta diferenciação genética da espécie *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757), sendo uma sinônima júnior desta última. Segundo Ramos e colaboradores (2013), a nomenclatura *Crassostrea gasar* deve ser mantida, por ser a mais antiga.

Segundo a descrição dentro do Sistema de Informação Taxonômica Integrado (ITIS, *Integrated Taxonomic Information System*), o estado taxonômico para a espécie utilizada no presente estudo apresenta-se como:

- Filo Mollusca;
- Classe Bivalvia (Linnaeus, 1758);
- Sub-Classe Pteriomorpha (Beurlen, 1944);
- Ordem: Ostreida
- Família Ostreidae (Rafinesque, 1815);
- Gênero *Crassostrea* (Sacco, 1897);
- Espécie: *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757).

De acordo como Lapegue e colaboradores (2002), a espécie *Crassostrea gasar* está distribuída ao longo das costas do Atlântico da América do Sul e da África. A ostra *C. gasar* tem como habitat típico regiões de mangue, onde surge fixada nas raízes do mangue ou em rochas (VARELA et al., 2007).

Recentemente, o uso da ostra *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*) como organismo bioindicador foi fortalecido principalmente pelo trabalho de LÜCHMANN (2012), o qual envolveu o transcriptoma da espécie. Este estudo estimulou e trouxe novas perspectivas para a realização de novas pesquisas com a espécie envolvendo biomarcadores, entre elas aquelas desenvolvidas mais recentemente por ZACCHI (2013), BITTENCOURT (2013), MIGUELÃO (2014) e REIS (2014).

#### **1.4.2 Biomarcadores de contaminação aquática**

Biomarcadores de contaminação são definidos como alterações biológicas em nível molecular, celular ou fisiológico avaliadas em organismos, os quais expressam ou refletem a exposição e os efeitos tóxicos causados pelos poluentes presentes no ambiente (WALKER *et al.*, 1996).

Assim sendo, biomarcadores podem ser utilizados para avaliar o estado e o grau de vulnerabilidade dos ecossistemas marinhos, com a vantagem de servirem de sinal precoce da degradação ambiental causadas por contaminantes (CAJARAVILLE et al., 2000).

Em Ecotoxicologia Aquática, uma quantidade considerável de trabalhos tem sido realizada para desenvolver biomarcadores apropriados e validá-los, uma vez que já se tornaram uma ferramenta importante e aceita na avaliação de riscos do ambiente marinho (ICES,

2011). O uso de biomarcadores apresenta uma série de vantagens, tais como: baixo custo e simplicidade de procedimentos em alguns casos, associados à aplicabilidade sob as mais variadas condições de teste e, ainda, sensibilidade para um elevado número de contaminantes ambientais (TIMBRELL, 1998). A resposta biológica pode ser ativada ou desencadeada pelo organismo modelo selecionado de forma rápida (em intervalo de poucos minutos a poucas horas), permitindo avaliar o impacto de xenobióticos no ambiente, antes que os efeitos negativos em toda comunidade se tornem evidentes (RICCIARDI et al., 2006).

Segundo Bairy e Marques (2003), as alterações na atividade de enzimas podem ser interpretadas como biomarcadores bioquímicos, enquanto que as transcrições genicas diferenciais identificam biomarcadores moleculares. Os biomarcadores moleculares, baseados principalmente no estudo da transcrição de genes relacionados com determinadas respostas bioquímicas e celulares após exposição a contaminantes, vêm recebendo especial atenção nos últimos anos. Algumas técnicas moleculares têm possibilitado a avaliação da transcrição de um grande número de genes simultaneamente (ZANETTE, 2009). Análise de biomarcadores moleculares múltipla pode fornecer um diagnóstico mais preciso dos efeitos induzidos por diferentes classes de produtos químicos e fornecem um método sensível, com base fisiológica para a determinação da presença de um contaminante e sua biodisponibilidade para os organismos aquáticos (BAINY; MARQUES, 2003). O monitoramento da expressão de genes associados às respostas moleculares frente a uma agressão química tem se mostrado como uma ferramenta promissora na análise ambiental. Para que esse tipo de análise se consolide entre o conjunto de biomarcadores celulares, entretanto, é necessário que se tenha uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nos efeitos ativadores, repressores, sinérgicos, aditivos, etc., decorrentes da presença e do efeito dos contaminantes, bem como dos potenciais interferentes ambientais sobre a expressão de cada gene (TOLEDO-SILVA, 2009). As análises de expressão gênica são muito úteis em estudos de exposição a curto prazo, com o objetivo de esclarecer os mecanismos de toxicidade ou de efeito (ICES, 2011)

Em contraste com a simples medição dos contaminantes acumulados nos tecidos, biomarcadores podem oferecer informações mais completas e biologicamente mais relevantes sobre o potencial impacto de poluentes sobre a saúde dos organismos (CALISI et al., 2008). Graças ao rápido avanço no campo da toxicologia aquática nos últimos anos, se tem uma maior compreensão dos efeitos dos poluentes

sobre os organismos marinhos em um nível molecular, celular, tecido/órgão e no organismo (VIARENGO et al, 2007). Assim, também para os bivalves, os biomarcadores são indicadores precoces de alterações no seu estado morfofuncional sob o efeito de poluentes, pois, um efeito tóxico será aparente em nível sub-celular, antes que seja perceptível em níveis biológicos mais altos (SUYKOV, 2013).

### **1.4.3 Defesas celulares: sistema de defesa antioxidante e sistema de biotransformação de xenobióticos**

Dentre os gases dissolvidos na água, o oxigênio é um dos mais importantes na dinâmica e caracterização dos ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1998). Sendo a base do metabolismo dos organismos aeróbicos, o oxigênio é uma molécula essencial, sendo reduzido à água no processo bioquímico da respiração celular. No entanto, as etapas intermediárias de sua redução levam à produção de radicais, denominados de espécies reativas de oxigênio (EROs), cujos efeitos nocivos ao organismo podem conduzir a um estado conhecido como estresse oxidativo (SUN et al., 2006). As EROs têm efeitos plurais nos sistemas biológicos. Estes efeitos podem ser agrupados em pelo menos quatro categorias: (1) sinalização, (2) defesa contra infecções, (3) modificação de moléculas, e (4) danos aos componentes celulares (LUSHCHAK; SEMCHYSHYN, 2012). No caso do estresse oxidativo, os sistemas antioxidantes podem ser ultrapassados, fazendo a oxidação de diferentes moléculas e levando a disfunções celulares (MANDUZIO et al., 2005). As principais EROs são o ânion radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ). Estes radicais podem reagir com macromoléculas biológicas e produzir a peroxidação lipídica, danos ao DNA e oxidação de proteínas, como resultado do estresse oxidativo (MONTEIRO et al., 2006). Segundo Halliwell e Gutteridge (2007), os organismos estão dotados de sistemas de defesa celular capazes de neutralizar as EROs e evitar um quadro de estresse oxidativo, dos quais fazem parte defesas enzimáticas e não-enzimáticas.

Do sistema de defesa antioxidante de natureza enzimática fazem parte enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx).

A SOD catalisa a dismutação do radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o qual é degradado pela CAT e GPx (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A SOD está presente em todos os organismos aeróbios na primeira linha de defesa contra o estresse

oxidativo provocado pelas EROs. No entanto, a eficácia da SOD, enquanto antioxidante, reside na sua cooperação com outras enzimas antioxidantes, como a CAT e GPx (MEISTER; ANDERSON, 1983). A CAT é uma enzima que atua na remoção do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o qual é metabolizado em oxigênio molecular ( $O_2$ ) e água (STEGEMAN et al., 1992). A glutatona peroxidase (GPx) possui a função de decompor peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e peróxidos orgânicos a água, através da oxidação do tripeptídeo glutatona (GSH). Processos oxidativos celulares e a atividade da GPx geram o dissulfeto glutatona ou glutatona oxidada (GSSG). Para evitar a depleção da GSH (glutatona reduzida) e aumento da GSSG, a glutatona redutase (GR) reduz a GSSG à custa de NADPH, regenerando a GSH e mantendo desta forma o estado redox intracelular. No conjunto de defesas antioxidante de natureza enzimática inclui-se ainda a glutatona redutase (GR), uma proteína composta de duas subunidades, cada uma contendo uma molécula de flavina adenina dinucleotídeo (FAD). O FAD recebe elétrons do NADPH, passando os elétrons em seguida para a ponte dissulfeto (S-S) (grupos sulfidrilas oxidados) no sítio ativo. Os grupos sulfidrilas (SH) formados dentro do sítio ativo interagem com a GSSG, reduzindo-a a GSH e a ponte dissulfeto é refeita dentro do sítio ativo da GR (BERKHOLZ et al., 2008).

Os antioxidantes de natureza não-enzimática incluem moléculas endógenas, tais como, a própria glutatona e o ácido úrico, e também moléculas exógenas que são fornecidos especialmente pela nutrição, tais como vitaminas, como a vitamina E, ácidos graxos polinsaturados, polifenóis ou carotenóides (BOUAYED; BOHN, 2010). O tripeptídeo Glutatona é sintetizada no interior das células e entre os três resíduos de aminoácidos presentes em sua composição, a cisteína apresenta o grupo tiol. Este grupo vai conferir à glutatona a capacidade de desempenhar as funções que lhe são características e de importância vital no organismo (HÖEHR, 2001). A glutatona desempenha assim um papel crucial na manutenção do equilíbrio normal entre espécies oxidantes e antioxidantes, colaborando na manutenção da integridade das biomoléculas e regulando muitas das funções vitais da célula, tais como ativação e regulação de enzimas (TAPIERO, 2003).

A metabolização de xenobióticos constitui um fator crucial no seu destino e na sua em um organismo, envolvendo a biotransformação, potencial excreção, ou bioacumulação nas células adiposas (SACCO, 2006). O sistema de biotransformação é responsável pela modificação de compostos endógenos ou de xenobióticos lipofílicos em substâncias mais hidrossolúveis e mais facilmente excretadas pela urina ou bile. Este

metabolismo é mediado, primariamente, por enzimas denominadas de enzimas de Fase I e de Fase II do processo de biotransformação (URQUHART et al., 2007). O metabolismo na Fase I geralmente não resulta em uma grande mudança no peso molecular ou solubilidade em água do substrato, mas é de grande importância, pois as reações adicionam ou expõem sítios, nos quais o metabolismo de Fase II pode ocorrer posteriormente. O intuito geral das duas fases do metabolismo de xenobióticos ou biotransformação consiste em aumentar a solubilidade do composto em água e, desta forma, facilitar a sua excreção do organismo (MURRAY, 2006).

As reações de Fase I são mediadas pela superfamília de enzimas microsossomais citocromo P450 (CYP), além de outras, como as monooxigenases, peroxidases, amino-oxidases e desidroxigenases (ZAMEK-GLISZCZYNSKI et al., 2006). Ademais é considerada uma das maiores e mais versáteis famílias de proteínas pertencentes ao metabolismo de Fase I associado a uma variedade de xenobióticos lipofílicos, como drogas, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (REWITZ et al., 2006), sendo de importância central em muitos processos-chave, como homeostase, controle hormonal, regulação gênica, estresse oxidativo, biotransformação de xenobióticos naturais e antropogênicos (HAHN; STEGEMAN, 1994). As diferentes isoenzimas P450 atuam sobre muitos substratos endógenos (esteroides, hormônios, vitaminas lipossolúveis, prostaglandinas, ácidos graxos, etc.) e exógenos (3-metilcolantreno, fenobarbital, HPAs, PCBs) (TIMBRELL, 2000). As três principais famílias que induzidas por xenobióticos são: CYP1, CYP2 e CYP3 (OKEY, 1990). De acordo com Handschin e Meyer (2003), uma característica importante no metabolismo de citocromo P450 é sua expressão basal na ausência de substratos e uma rápida indução na presença de compostos indutores, a qual é reversível após a remoção destes compostos, possibilitando avaliar quão responsivo é cada citocromo frente a diferentes contaminantes. Com relação à família CYP2 e várias isoformas, diferentes estudos utilizando métodos de biologia molecular identificaram novos genes e deram um impulso ao desenvolvimento das pesquisas para sua utilização como biomarcadores em moluscos bivalves (ZANETTE et al., 2010; ZHANG, et al., 2012; LÜCHMANN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015).

As Glutathione-S-transferases (GSTs) englobam uma família de enzimas que desempenham um papel importante na Fase II do processo de biotransformação, atuando em reações de conjugação. As GSTs catalisam a conjugação de substratos tóxicos, principalmente, a adição

nucleofílica de glutationa reduzida (GSH) a uma ampla variedade de compostos eletrofílicos, convertendo-os em produtos mais hidrofílicos e menos reativos, e diminuindo a atividade tóxica dos mesmos contra as macromoléculas celulares, protegendo os organismos de danos oxidativos ao ADN. (ARMSTRONG, 1997; IVARSSON et al., 2003). GSTs foram agrupados em pelo menos 14 classes diferentes (alfa, beta, delta, épsilon, kappa, lambda, mu, ômega, phi, pi, sigma, tau, teta, zeta), com base na sua estrutura primária e terciária, especificidade de substrato/inibidor, e a reatividade imunológica cruzada (HAYES et al., 2005). Segundo Boutet e colaboradores, (2004), as GSTs constituem uma superfamília de enzimas multifuncionais citosólicas, microsomais e mitocondriais que evoluíram como um sistema de proteção celular contra uma variedade de xenobióticos. As GST citosólicas também participam do catabolismo ou síntese de uma variedade de compostos endógenos. Outras funções realizadas por membros da superfamília GST incluem a síntese de eicosanoides, a ligação e transporte de ligantes como bilirrubina e grupo heme, e a mediação de sinais regulatórios, através de interações proteína-proteína (BURMEISTER et al., 2008). Os níveis de expressão das GSTs e os fatores que os modulam têm um importante significado biológico e implicações clínicas (BOARD et al., 2000).

A sulfonação tem uma função importante na modulação das atividades biológicas de um grande número de substâncias endógenas e exógenas, incluindo: medicamentos, produtos químicos tóxicos, hormônios e neurotransmissores. A ativação, bem como a inativação de diversos xenobióticos e compostos endógenos ocorre através de sulfonação. Essa estratégia que também integra o sistema de biotransformação celular e detoxificação é catalisada pela família das sulfotransferases, como as sulfotransferases citosólicas (SULTs) (KAUFFMAN, 2004). A conjugação de sulfatos modula o metabolismo e a atividade biológica de substâncias endógenas, incluindo esteroides (STROTT 1996). Segundo LAFONT; MATHIEU (2007), os esteroides não atuam exclusivamente como hormônios, mas podem também cumprir muitas outras funções na comunicação celular, defesa química ou mesmo na fisiologia digestiva. Com a ocorrência cada vez maior de problemas de desregulação endócrina causados por poluentes ambientais emergentes que interferem em particular com a fisiologia reprodutiva dos vertebrados, mas também de invertebrados, tornou-se necessário compreender melhor a fisiologia endócrina dos invertebrados e o papel dos esteroides nestes processos.

#### 1.4.4 Proteínas associadas a outros sistemas de defesas celulares

Outras vias metabólicas podem estar associadas aos sistemas de defesas celulares e atuam conjuntamente na manutenção da homeostase do organismo, através de diferentes proteínas e enzimas.

A enzima citosólica, delta-aminolevulinato desidratase ( $\delta$ -ALA-D) é a segunda da via de biossíntese do grupo Heme e pode ser encontrada em animais vertebrados, invertebrados, bactérias e plantas (ICES, 2004). Na via de síntese do Heme, a atividade catalítica da ALAD é a condensação assimétrica de duas moléculas de ácido delta aminolevulínico com a formação de uma molécula de porfobilinogênio, primeiro precursor do Heme (WETMUR et al., 1986). O grupo Heme serve como grupo prostético de muitas proteínas envolvidas em processos biológicos fundamentais, como a respiração, fotossíntese, e no metabolismo e transporte de oxigênio (LAYER et al., 2010). Assim, participa como grupo prostético na hemoglobina, mioglobina, catalases, peroxidases, citocromos P450, e em proteínas de sensores para gases diatômicos tais como O<sub>2</sub> ou NO (MUNRO et al., 2009). De acordo com Moreira (2010), o ácido  $\delta$ -aminolevulínico produzido é utilizado quase a totalidade para a síntese da heme, sendo provável que desempenhe o papel de regulador desta síntese. A  $\delta$ -ALA-D geralmente é utilizada como biomarcador de exposição a metais pesados. Assim, a exposição a chumbo causa uma diminuição (dose-dependente) na atividade da  $\delta$ -ALA-D dos eritrócitos em peixes, pássaros e mamíferos, através da inibição direta da enzima, diminuindo, conseqüentemente, a produção de hemoglobina (HUGGETT et al., 1992).

As proteínas ligantes de ácidos graxos (FABP) são uma família de proteínas citosólicas de 14 a 15 kDa que se ligam não-covalentemente com elevada afinidade a ligantes hidrofóbicos, tais como ácidos graxos de cadeia longa saturados e insaturados e o colesterol (KARAKAS et al., 2009; ESTEVES; EHRLICH, 2006). As FABPs regulam a absorção, o transporte intracelular e a compartimentalização de ácidos graxos e outros ligantes hidrofóbicos para diferentes destinos celulares (ESTEVES; EHRLICH, 2006). Ademais, transportam uma variedade de compostos hidrofóbicos além dos ácidos graxos, desde moléculas endógenas como o grupo heme, ácidos biliares e eicosanoides, até drogas exógenas e poluentes ambientais (ESTEVES; EHRLICH, 2006). Algumas FABPs também participar em vias imunes mediadas por ácidos graxos (WOOD et al., 2009). Segundo Furuhashi e Hotamisligil (2008), inúmeras funções têm sido propostas para as FABPs, uma vez que como ligantes de lipídios, podem ativamente facilitar o transporte de

lipídios para compartimentos específicos na célula: para o retículo endoplasmático (sinalização), mitocôndrias ou peroxissomas (oxidação); para o núcleo (regulação transcricional mediada por lipídios); ou até mesmo para fora da célula para sinalização de forma autócrina ou parácrina.

As ostras se adaptaram a ambientes altamente dinâmicos e estressantes, mas os mecanismos moleculares subjacentes a essa adaptação ao estresse permanecem ainda em grande parte desconhecidos (ZHANG et al., 2015). Segundo Gupta e colaboradores (2010), os organismos desenvolveram a capacidade de iniciar uma série de vias de respostas adaptativa ao estresse celular como tentativa de reduzir os danos e manter ou restabelecer a homeostase celular. Entre os vários caminhos de resposta ao estresse, a resposta de choque térmico é uma das principais vias (WESTERHEIDE; MORIMOTO, 2005). As proteínas de choque térmico (HSPs) são consideradas proteínas de estresse, sendo classificadas em cinco grupos ou famílias, com base nas diferenças apresentadas na sua massa molecular (HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 e HSP27). As HSPs representam uma família multigênica de proteínas, cuja expressão é induzida por uma variedade de fatores de estresse (FARCY et al., 2007) e desempenham um papel chave no processo de proteção das células, facilitando o enovelamento de peptídeos nascentes (SONG et al., 2006), minimizando o efeito protetóxico causado, por exemplo, por metais e xenobióticos diversos. Em moluscos bivalves, três grandes grupos ou famílias de HSPs são descritas: HSP40, HSP70 e HSP90 (MARTÍNEZ; FIGUERAS, 2012). As HSP70 são uma classe de proteínas funcionalmente relacionadas, via o enovelamento e à translocação de proteínas, às respostas ao estresse em quase todos os organismos (WANG; YANG; SONG, 2013) e é bem conhecida como responsiva ao estresse ambiental (CHAPMAN et al., 2011). As HSPs normalmente perfazem aproximadamente 5% do total de proteínas intracelulares. No entanto, sob condições de estresse, seus níveis podem ultrapassar 15% (SRIVASTAV, 2002). As proteínas de choque térmico (HSPs) têm sido estudadas há muitos anos e atualmente existem várias evidências que demonstram o papel das HSPs na proteção de células frente a uma ampla variedade de condições de estresse (KALMAR; GREENSMITH, 2009). A estrutura altamente conservada dessas proteínas entre diferentes táxons sugere que elas desempenham um papel essencial na manutenção de processos celulares (LÜCHMANN, 2012).

## 2. JUSTIFICATIVA

O conhecimento científico e técnico do possível impacto do esgoto sanitário no ambiente aquático, bem como na atividade aquícola envolvendo o cultivo de moluscos, podem trazer contribuições relevantes, as quais, associadas a medidas complementares, podem subsidiar a gestão dos ambientes costeiros destinados à atividade produtiva. A avaliação deste impacto potencial e o biomonitoramento dos parques aquícolas, podem ser realizados mediante a utilização de biomarcadores moleculares em organismos considerados bioindicadores, como moluscos.

Nesse contexto, o presente estudo propôs a análise de um conjunto de biomarcadores moleculares em ostras *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) como ferramenta de monitoramento, visando o controle ambiental em áreas selecionadas como alvo, localizada na costa do município de Balneário Camboriú – SC. Desta forma, com base nos resultados obtidos, poder-se-ia estabelecer um conjunto de parâmetros indicativos preliminares sobre o possível impacto e/ou sobre o seu grau nas áreas selecionadas, no sentido de lograr a melhoria e a formulação de propostas de crescimento local e municipal, não somente das áreas aquícolas propriamente ditas, como também do seu entorno, de forma mais planejada e integrada com outros setores produtivos e de serviços, tais como as atividades turística e imobiliária.

Assim sendo, poder-se-ia fornecer subsídios para viabilizar, de forma mais concreta, iniciativas que visem estabelecer os fundamentos de sustentabilidade local, traduzidos na integração socioeconômica das atividades produtivas e da vocação da região, com vistas a beneficiar a população, e como um meio de promover as boas práticas aquícolas, o desenvolvimento e a certificação sanitária da maricultura na região.



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar respostas moleculares nas brânquias da ostra *Crassostrea gasar* (Adanson,1757) expostas em laboratório a água do mar coletada *in situ* em áreas selecionadas como alvo de estudo na enseada e no cultivo de moluscos de Balneário Camboriú, Santa Catarina.

#### 3.2 Específicos:

- Avaliar os níveis de transcritos dos genes que codificam as seguintes enzimas e proteínas: *Catalase (CAT)*, *Superóxido Dismutase (SOD)*, *Glutaciona Peroxidase (GPX)*, *Glutaciona S-Transferase (classe ômega - GST-Ω)*, *Delta-Aminolevulinato desidratase (ALAD)*, *Proteína de Choque Térmico - HSP70*, *Sulfotransferase (SULT)*, *Citocromo P450 (CYP2AU1)* e a *Proteína Ligante de Ácidos Graxos (FABP)* nas brânquias da ostra *Crassostrea gasar*.
- Avaliar e correlacionar parâmetros associados às análises química e microbiológica das amostras de água do mar com os resultados obtidos e com os valores preconizados como limite na legislação ambiental atual.
- Avaliar e correlacionar os resultados obtidos com a análise de contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras e em amostras de sedimentos coletadas na área alvo de estudo.

O trabalho será submetido à revista Science of the Total Environment.



#### **4. RESPOSTAS MOLECULARES EM OSTRAS *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) EXPOSTAS A ÁGUA COLETADA NA ENSEADA E EM ÁREAS DE CULTIVO DE MOLUSCOS EM BALNEÁRIO CAMBORIÚ, SC.**

*Euler Dolores Salinas*, *Flávia Lucena Zacchi*<sup>1</sup>, *Fabrcício Flores Nunes*<sup>1</sup>, *Jacó Joaquim Mattos*<sup>1</sup>, *Clei Endrigo Piazza*<sup>1</sup>, *Juliana Moser*<sup>2</sup>, *Barbara Othero*<sup>1</sup>, *Rômi Piazza*<sup>1</sup>, *Isis Reis*<sup>1</sup>, *Claudio Rodrigues de Melo*<sup>3</sup>, *Marcia Bicego*<sup>4</sup>; *Satie Taniguchi*<sup>4</sup>; *Adalto Bianchini*<sup>5</sup>; *Afonso C.D Bainy*<sup>1</sup>; *Maria Risoleta Freire Marques*<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC.

<sup>2</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

<sup>3</sup>Laboratório de Moluscos Marinhos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, SC.

<sup>4</sup>Laboratório de Química Orgânica Marinha, Instituto Oceanográfico da USP, Universidade de São Paulo, SP.

<sup>5</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Toxicologia Aquática.

\*Corresponding author: [risoleta.marques@ufsc.br](mailto:risoleta.marques@ufsc.br)

## 4.1 RESUMO

O cultivo de moluscos bivalves marinhos acaba comumente dividindo o mesmo espaço geográfico com outros setores econômicos, tais como o turismo e a indústria imobiliária, os quais estão associados ao impacto de origem antrópica registrado em muitas áreas costeiras. Apesar da procura pelo ordenamento e definição de parques aquícolas, esta situação ainda ocorre com frequência. O Município de Balneário Camboriú (SC- Brasil) (BC), cuja economia dependente do turismo, apresenta altos índices de desenvolvimento humano e uma reconhecida cadeia logística comercial, urbana e imobiliária. Nos meses de verão, a população do município aumenta de forma significativa e supera em quase nove vezes a população local fixa, a qual por si só já representa a maior densidade populacional de Santa Catarina. Nesse contexto, o presente estudo avaliou os níveis de transcritos de genes alvo em brânquias da ostra *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (= *C. brasiliana*) expostas em laboratório por 24 horas a água do mar da Praia Taquarinhas, como área referencia (TAQ), das áreas de cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), da Foz do Rio Camboriú (CAM) e do Canal de Marambaia (MAR) de BC. Análises de qualidade de água e a determinação de contaminantes orgânicos nas ostras e em sedimentos foram também realizadas. Os resultados evidenciaram valores altos de coliformes totais e termotolerantes (fecais) em MAR e CAM respectivamente. As concentrações de fósforo em CAM superaram os limites da legislação vigente. Nos tecidos das ostras, os  $\Sigma$ LABs e  $\Sigma$ DDTs totais foram maiores em LAR, enquanto as maiores concentrações de esteroides totais registraram-se em CAM. No sistema antioxidante de proteção celular, destacam-se os níveis mais elevados de *GPx* e *SOD* em MAR e *ALAd* em CAM. Os genes envolvidos na biotransformação de xenobióticos selecionados (*CYP450-2A1*, *GST*  $\omega$  e *SULT1C1*) não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos. *FABP* teve maior transcrição em MAR e *HSP70* registrou maior transcrição em CAM. Os resultados evidenciam o maior impacto por contaminantes em CAM e MAR e alertam para a consequente vulnerabilidade de BAR e LAR, recomendando ainda o biomonitoramento ambiental na região.

**Palavras-chave:** *Crassostrea gasar*; Balneário Camboriú; Biomarcador; Esgoto sanitário; Maricultura.

## 4.2 INTRODUÇÃO

A produção global do cultivo de moluscos, peixes, crustáceos e outros animais aquáticos no ano 2013 foi de 70,2 milhões de toneladas, desse total, 13,9 milhões de toneladas foram destinadas à produção de moluscos bivalves (FAO, 2015). No Brasil, a produção aquícola em águas marinhas a cada ano vai adquirindo maior presença no setor pesqueiro como destino à produção de alimentos para consumo humano. Sendo um exemplo de desenvolvimento a produção do ano 2013 que totalizou 84.759 toneladas (CEPAL, 2015). Segundo a pesquisa da Produção Pecuária Municipal do ano 2014, o Estado de Santa Catarina, deteve 98% da produção nacional de ostras, vieiras e mexilhões, gerando um total de 21,65 mil toneladas (IBGE, 2014). Indicadores que ressaltam o crescimento e a importância econômica da maricultura no setor aquícola no Brasil.

Nesse sentido, é importante ter em consideração que o cultivo de moluscos bivalves marinhos acaba comumente dividindo o mesmo espaço geográfico com outros setores econômicos, tais como o turismo e a indústria imobiliária, os quais estão associados ao impacto de origem antrópica registrado em muitas áreas costeiras.

Uma das principais preocupações para o desenvolvimento da atividade é a qualidade sanitária das águas, onde o cultivo de moluscos é realizado, e que está relacionado diretamente com a qualidade dos moluscos bivalves (RUPP et al., 2008; SOUZA et al., 2012). Assim, os bivalves no cultivo podem ser enfraquecidos após a exposição dos contaminantes, aumentando potencialmente sua susceptibilidade a doenças infecciosas (RENAULT, 2015). As regiões costeiras têm experimentado um crescimento rápido da população e muitas localidades não possuem estruturas adequadas para o tratamento dos efluentes domésticos, o que pode afetar a qualidade da água e a segurança alimentar do produto (RUPP et al., 2008).

O constante crescimento da população exerce uma pressão extremamente grande nas áreas costeiras, em consequência de atividades industriais, da pesca, do turismo e do lazer, principalmente no verão, quando o aumento do número de pessoas é consideravelmente maior devido ao movimento nas praias (BRAGA et al., 2000). Nesse contexto, Dias et al. (2013) destacam que o turismo é talvez o mais eficiente mecanismo para trazer impacto sobre uma área costeira. O turismo constitui-se atualmente num dos mais importantes vetores de ocupação do litoral brasileiro. A indústria do turismo assim caracterizada,

acrescida à especulação imobiliária, vem causando graves e, muitas vezes, irreversíveis danos ao meio ambiente costeiro (IBAMA, 2002).

No Brasil, o Município de Balneário Camboriú localizado no litoral norte do Estado de Santa Catarina (Latitude 26° 59' 28" Sul e Longitude 48° 38' 7" Oeste), é um excelente exemplo do desenvolvimento do turismo como atividade principal na economia municipal. O Censo Demográfico do ano 2010 Balneário Camboriú tinha uma população de 108 mil habitantes (IBGE, 2010) e estimativas para o ano 2015 de mais de 128 mil habitantes (IBGE, 2015). Possui a mais alta densidade populacional no estado de Santa Catarina com 2.337,67 hab/km<sup>2</sup> (IBGE, 2015) e tem a maior concentração urbana e o maior polo turístico do Sul do Brasil (PIATTO; POLETTE, 2012). No verão, o município tem um aumento da população flutuante recebendo muitos turistas e que atende uma demanda que beira os dois milhões de visitantes (FLORES et al., 2012; SANTUR, 2015; SECTURBC, 2015) que são atraídos pelos diversos atrativos turísticos naturais e comerciais. Esta carga turística representa uma maior demanda por recursos naturais locais e gera um maior volume de resíduos (TISCHER et al., 2015).

Cabe mencionar que em dito município, existe o Parque Aquícola Balneário Camboriú integrada por três áreas aquícolas destinadas ao cultivo de moluscos bivalves, localizadas nos bairros da Barra (áreas aquícolas 128 e 129) e em Laranjeiras (área aquícola 130) (MPA, 2011), atividade que comparte o espaço geográfico marinho e costeiro com o turismo, esportes aquáticos, comercio e a indústria imobiliária, todos relacionados a grandes movimentos antropogênicos na região.

No ambiente marinho, as áreas costeiras e estuarinas são as zonas principais de produtividade, mas também os mais gravemente afetados pelos impactos provocados pela poluição (RUIZ et al., 2011). Segundo a Agência Europeia do Ambiente (EEA) (2005) a poluição pode assumir muitas formas e tem diferentes efeitos: contaminação fecal da água, poluentes orgânicos, incluindo os efluentes de esgoto, nutrientes (nitratos e fosfatos de fertilizantes agrícolas, detergentes domésticos relacionados com a floração de algas tóxicas), pesticidas e medicamentos veterinários e alguns produtos químicos industriais (geram danos ao sistema hormonal de peixes causando a feminização, disrupção endócrina), metais (como zinco, chumbo, cromo, mercúrio e cádmio, são extremamente tóxicos), micropoluentes orgânicos (produtos farmacêuticos, hormônios e substâncias químicas usadas nos tratamentos da saúde), hidrocarbonetos clorados (vários são altamente tóxicos para os seres humanos moléculas persistem no ambiente por mais tempo e contaminam sistemas aquáticos e o solo), escoamento de

sedimentos da terra pode fazer água enlameada, bloqueando a entrada de luz solar e, conseqüentemente, matar a vida aquática, irrigação, especialmente quando usado incorretamente, pode trazer os fluxos de sais, nutrientes e outros poluentes dos solos na água.

Os efluentes industriais, lamas provenientes de estações de tratamento de esgotos, escoamentos da agricultura e esgoto não tratado em bruto de populações urbanas e na indústria, tudo isso contribuem para a contaminação química do ambiente aquático (FAO, 1999). Segundo Kennish (1991), o esgoto é a principal fonte de contaminantes em ambientes costeiros. O esgoto sanitário geralmente tem uma variada composição com altos níveis de sólidos suspensos, nutrientes, metais, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), pesticidas e inseticidas (DDTs), bifenilas policloradas (PCBs), alquilbenzenos lineares (LABs), produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PPCPs) e desreguladores endócrinos (EDCs), as maiores concentrações de ditos poluentes estão relacionados a ambientes aquáticos próximos a centros urbanos e industriais (CANESI et al., 2003; MEDEIROS; BÍCEGO, 2004; ABESSA et al., 2005; WAN et al., 2009; NAKATA et al., 2014; FLORES-NUNES et al., 2015).

Os programas de biomonitoramento como médio de avaliação da qualidade dos ecossistemas aquáticos utilizam métodos convencionais para evidenciar a poluição por esgoto, tais como a análise microbiológica utilizando bactérias coliformes fecais, a análise dos parâmetros físico-químicos da qualidade de água (níveis de nitrogênio, fosforo, ph, sólidos suspensos, DBO, metais traço, etc), e atualmente vêm ampliando-se o uso de marcadores moleculares para determinar a contaminação fecal de origem antrópica nos sedimentos e a determinação de concentrações de contaminantes orgânicos e inorgânicos nos sedimentos e nos tecidos e fluidos dos organismos aquáticos, tais como os moluscos bivalves que atuam como bioindicadores (MONIRITH et al., 2003; SALANKI et al., 2003; CARREIRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2007; ZHOU et al., 2008; MEDEIROS et al., 2009; WHO, 2010; ZANETTE et al., 2010; NAKATA et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015; MARTINS et al., 2014; FLORES-NUNES et al., 2015; TREVISAN et al., 2016).

Os moluscos bivalves marinhos, são organismos bioindicadores ideais por causa de sua ampla distribuição geográfica, alta sensibilidade aos contaminantes ambientais, por serem sésseis, alimentar-se por filtração e por acumular altos níveis de contaminantes nos seus tecidos e conchas, onde as concentrações são maiores daqueles presentes no meio

ambiente (APRAIZ et al., 2006; CHOI et al., 2008; ZUYKOV et al. 2013). Entre tanto, ao contrário das análises químicas da água ou sedimentos, as vantagens destes bioindicadores são que eles fornecem uma medida dos poluentes integrados no espaço e no tempo, assim, vinculando os poluentes ambientais, sua biodisponibilidade e acumulação e seus efeitos tóxicos (RUIZ et al., 2011).

As ostras do gênero *Crassostrea* são cada vez mais utilizadas como organismos bioindicadores em programas de biomonitoramento. Sendo a espécie exótica “ostra do Pacífico” *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) e as espécies nativas *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) e *Crassostrea gasar* (Adanson 1757) referências para estudos com biomarcadores bioquímicos e moleculares de contaminação aquática em áreas com impacto do esgoto sanitário, áreas de cultivo de moluscos e expostas a contaminantes em laboratório (ZANETTE et al, 2006; MEDEIROS et al., 2008; LÜCHMANN et al, 2011; SOUZA et al., 2012; FLORES-NUNES et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015).

Tendo em consideração que os biomarcadores, são definidos como modificações observáveis ou quantificáveis aos níveis moleculares, bioquímicos, celulares, fisiológicas ou comportamentais de um organismo que revelam a exposição a xenobióticos (LAGADIC et al., 1997). A utilização de biomarcadores moleculares para medir os impactos biológicos da poluição é um complemento importante para a análise química (HANDY et al., 2003). Assim, o uso de múltiplos genes vem o potencial de criar o perfil de uma gama de efeitos moleculares, assim identificáveis perfis de expressão associada com contaminantes específicos (HAMADEH et al., 2002) e fornecem uma abordagem robusta para determinar os impactos dos estressores ambientais nos organismos (CHANDURVELAN et al., 2015).

Nesse contexto, merece atenção especial a ostra nativa de mangue *Crassostrea gasar* (Adanson 1757) (sin. *Crassostrea brasiliiana*, LAZOSKI et al., 2011) espécie distribuída nas costas do Atlântico da América do Sul e da África (LAPEGUE et al., 2002) e principalmente na faixa costeira do Brasil. Assim a *C. gasar* foi validada e referenciada como organismo bioindicador de xenobióticos em tecidos de brânquias e glândula digestiva utilizando biomarcadores bioquímicos (LÜCHMANN et al., 2011) e moleculares (LÜCHMANN et al., 2012; LÜCHMANN et al., 2014; LÜCHMANN et al., 2015); e outras pesquisas que seguiram a linha de trabalho referenciada anteriormente (ZACCHI, 2013; BITTENCOURT; 2013; MIGUELÃO, 2014; REIS et al., 2015; TREVISAN et al., 2016). O descrito define a importância da utilização da ostra *C. gasar* em programas de biomonitoramento como

espécie sentinela nas regiões costeiras brasileiras (LÜCHMANN et al., 2015).

Nessa direção, o presente estudo tem como objetivo avaliar as respostas moleculares nas brânquias da ostra *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) expostas em laboratório a água do mar coletada *in situ* em áreas selecionadas como alvo de estudo na enseada e no cultivo de moluscos de Balneário Camboriú, Santa Catarina. Marco geral que estão relacionados na avaliação dos níveis de transcritos dos genes que codificam as enzimas do sistema antioxidante e de biotransformação de xenobióticos e das proteínas associadas a outros sistemas de defesas celulares. Ademais de avaliar e correlacionar parâmetros associados às análises química e microbiológica das amostras de água do mar e da análise de contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras e em amostras de sedimentos coletadas na área alvo de estudo.

Com base nessas experiências, o conhecimento científico e técnico do possível impacto do esgoto sanitário no ambiente aquático, bem como na atividade aquícola envolvendo o cultivo de moluscos, podem trazer contribuições relevantes, as quais, associadas a medidas complementares, podem subsidiar a gestão dos ambientes costeiros destinados à atividade produtiva. A avaliação deste impacto potencial e o biomonitoramento dos parques aquícolas, podem ser realizados mediante a utilização de biomarcadores moleculares em importantes organismos bioindicadores, como são os moluscos bivalves.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Área de estudo e pontos de coleta de água do mar

A área selecionada para o presente estudo está localizada no município de Balneário Camboriú, Estado de Santa Catarina. O município tem uma área territorial de 46,8 km<sup>2</sup> e está localizado nas coordenadas geográficas, latitude 26° 59' 28" Sul (S) e longitude 48° 38' 7" Oeste (O).

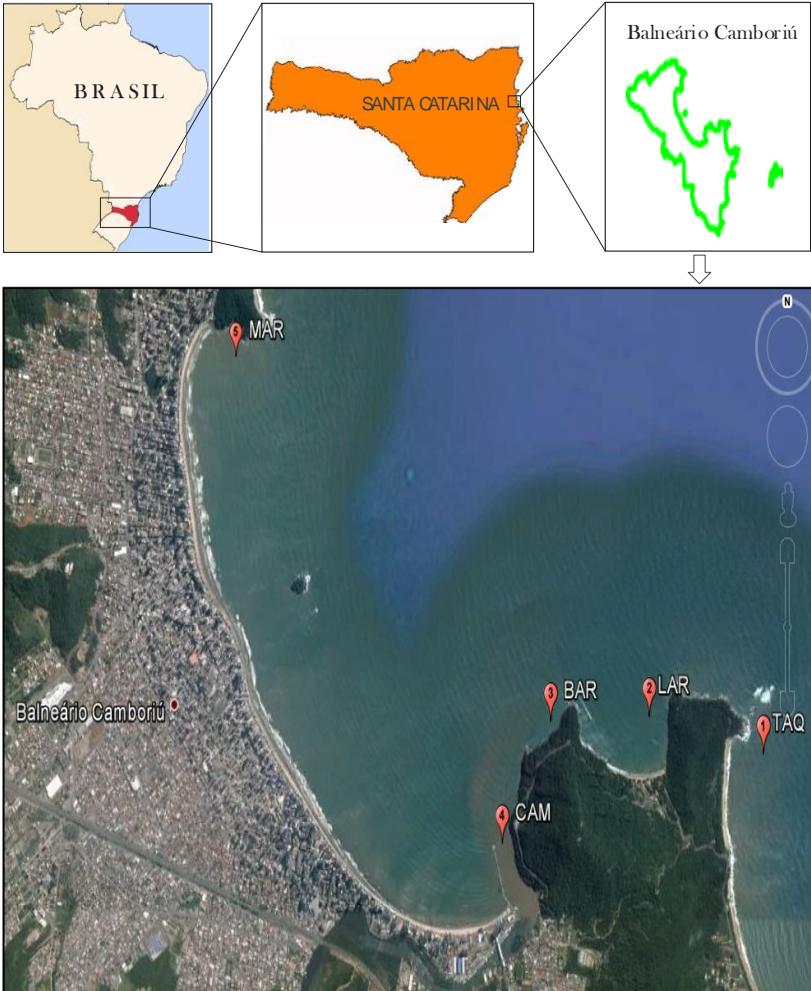
Tendo em vista as características atuais de uso e ocupação da orla marítima do referido município, foram selecionados cinco pontos distintos para a coleta de água do mar na área de estudo (**Figura 2**).

Um dos pontos de coleta de água do mar foi selecionado na Praia Taquarinhos (TAQ), a 26°59', 45.39"S e 48°34', 47.50"O, o qual, dado às suas características e com base na análise comparativa com outros pontos dentro da área de estudo, foi considerado como área referência. Outros dois pontos de coleta de água do mar foram selecionados dentro de duas áreas de cultivo de moluscos distintas, localizadas dentro dos limites do Parque Aquícola do município, ou seja, a primeira localizada em Laranjeiras (LAR), a 26°59', 39.00"S e 48°35', 21.49"O e, a segunda, no bairro da Barra (BAR), a 26°59', 38.54"S e 48°35', 59.17"O. O quarto ponto de coleta foi selecionado na Foz do Rio Camboriú (CAM), estando localizado a 27°0', 13.90"S e 48°36', 6.71"O. O quinto ponto de coleta foi selecionado no Canal de Marambaia (MAR), sendo as coordenadas de sua localização a 26°58', 20.60"S e 48°37', 54.68"O.

As coletas de água do mar em campo na área de estudo (nos cinco pontos de coleta) foram realizadas ao final da primavera de 2014 (no mês de dezembro), no período da manhã, com o apoio de uma embarcação pesqueira de 9,50 m de comprimento, 2,20 m de largura e 2,0 m de altura, utilizada na pesca do camarão sete barbas. Em cada um dos pontos selecionados foi coletado um volume de cinquenta litros de água do mar a uma profundidade aproximada de 80 cm (superficial). As amostras de água do mar coletadas foram acondicionadas individualmente em galões plásticos estéreis novos de cor branca, os quais foram, em seguida, transportados para o Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica da Universidade Federal de Santa Catarina (LABCAI/UFSC).

Além das coletas de água do mar na área de estudo selecionada, foi ainda realizada a coleta de igual volume (cinquenta litros) de água do mar filtrada, junto ao Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), a qual é proveniente da Praia de Moçambique, em Florianópolis, SC. A amostra de água do mar coletada no LCM/UFSC foi obtida no mesmo dia da campanha em campo, sendo armazenada e transportada nas mesmas condições das amostras coletadas na área de estudo em Balneário Camboriú.

**Figura 2:** Recorte da imagem gerada pelo *Google Earth* de Balneário Camboriú, com a distribuição espacial dos pontos selecionados para a coleta de água visando a exposição das ostras em laboratório. 1.TAQ: Área referência - Praia Taquarinhas; 2.LAR: Área aquícola de cultivo de moluscos bivalves (Laranjeiras); 3.BAR: Área aquícola de cultivo de moluscos bivalves (Barra); 4. CAM: Foz do Rio Camboriú; 5. MAR: Canal de Marambaia.



Fonte: Google Earth / IBGE.

## 5.2 Material Biológico

Foram utilizados exemplares de ostras, *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (**Figura 3**), provenientes da Estação de Cultivo Experimental do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizada na Praia de Sambaqui, Florianópolis, SC (27°35'S, 48°32'O).

Para o experimento, foram selecionadas ostras entre 6 e 8 cm de comprimento (n=120). As ostras selecionadas foram, em seguida, transportadas da área de cultivo experimental para a outra unidade do LMM/UFSC, o laboratório de produção, localizado na Barra, Florianópolis, SC, onde foi realizada a etapa de aclimação, conforme o delineamento experimental apresentado a seguir (item 5.3).

**Figura 3:** Em: **A** - Visão geral das ostras *Crassostrea gasar* (sin. *Crassostrea brasiliiana*, Lazoski et al., 2011) nos aquários durante o experimento de exposição em laboratório; **B** - Aspecto externo de um exemplar de ostra *Crassostrea gasar* durante o referido experimento.



## 5.3 Delineamento Experimental

### 5.3.1 Acondicionamento e aclimação das ostras *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757)

As ostras selecionadas na Estação de Cultivo Experimental e transportadas para o laboratório de produção do LMM/UFSC (item 5.2) foram imediatamente submetidas à limpeza externa, sendo, em seguida, acondicionadas em tanques retangulares de fibra de vidro com capacidade de 500 litros.

As ostras foram mantidas por um período de aclimação de onze dias, sob aeração constante e com renovação contínua de água, em salinidade de 33 ppm, temperatura constante de 23°C, sendo alimentadas diariamente com uma mistura de microalgas das espécies *Isocrysis galbana* (50%, 10x10<sup>4</sup> cél.ml<sup>-1</sup>) e *Chaetoceros mulleri* (50%, 10 x 10<sup>4</sup> cél.ml<sup>-1</sup>).

Fim do período de aclimação no LMM/UFSC, as ostras foram transportadas para a sala de Bioensaios do LABCAI/UFSC no Núcleo de Estudo em Patologia Aquícola (NEPAq), localizado no bairro do Itacorubi, Florianópolis, SC. O transporte das ostras até o LABCAI/UFSC foi realizado em caixas isotérmicas e ocorreu de modo coordenado e simultâneo à realização das coletas de água do mar em Balneário Camboriú e à coleta de água no LCM/UFSC.

### 5.3.2 Acondicionamento das amostras de água do mar e exposição das ostras em laboratório

As amostras de água do mar coletadas em Balneário Camboriú e no LCM/UFSC foram distribuídas separadamente em aquários de 50 litros de capacidade, contendo sistema de aeração individual. Foi utilizado um volume de 20 litros de água do mar por aquário e a temperatura ambiente foi regulada em 22°C. As salinidades registradas nas águas coletadas na Foz do Rio Camboriú (CAM) (25 ppm), em Laranjeiras (LAR) (30 ppm), em Marambaia (MAR) (29ppm) e na Barra (BAR) (30ppm) foram ajustadas para o valor registrado nas águas de Taquarinhas (TAQ) e da água coletada no LCM/UFSC, ou seja, 33ppm. Para essa correção foi utilizado sal marinho obtido da empresa *Instant Ocean United Pet Group, Inc* (EUA). Para aferição das medições de salinidade foi utilizado um refratômetro manual (KASVI®, modelo /K52-100).

As ostras (n=120) foram distribuídas em doze aquários iguais (n=10 ostras/aquário), de modo a se obter duplicatas para cada uma das seis amostras de água coletadas (n=2 tanques/amostra de água), ou seja, as cinco amostras de água do mar, provenientes dos diferentes pontos de coleta selecionados em Balneário Camboriú e a amostra proveniente do LCM/UFSC. A relação final em cada aquário foi de dois litros de água do mar por ostra. O tempo de exposição das ostras às amostras de água do mar em condições de laboratório foi de 24 horas.

#### **5.4 Análise de qualidade de água**

Simultaneamente às coletas das amostras de água do mar nos pontos selecionados a campo em Balneário Camboriú e no LCM para a exposição em laboratório, foram também coletadas amostras para a realização das análises de qualidade de água.

As amostras coletadas com este objetivo foram enviadas para ao Laboratório QMC Saneamento Ltda. As análises de qualidade de água envolveram a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes (coliformes fecais), a demanda bioquímica do oxigênio (DBO), a demanda química do oxigênio (DQO), fósforo, detergentes (DTG), nitrogênio, sólidos em suspensão, além de óleos e gorduras.

#### **5.5 Análise de contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras e em amostras de sedimento.**

No momento da coleta das ostras no cultivo da Estação de Cultivo Experimental do LMM/UFSC no Sambaqui (tempo zero), além das ostras a serem utilizadas no experimento de exposição em laboratório, foram ainda coletadas, concomitantemente, ostras (n=8) para a realização da análise de contaminantes orgânicos, a saber: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bifenilas policlorados (PCBs) e alquilbenzenos lineares (LABs), além de pesticidas organoclorados (POCs) e esteroides. As mesmas análises foram também realizadas ao final do experimento de exposição em laboratório, em igual número de ostras.

A presença dos mesmos contaminantes orgânicos citados acima foi também avaliada em amostras de sedimento (250g/amostra) provenientes de cada um dos pontos de coleta em campo na área de estudo (Balneário Camboriú), as quais foram obtidas com o auxílio de uma draga tipo Van Veen.

As análises de contaminantes orgânicos nas ostras e nas amostras de sedimento foram realizadas em parceria com o Laboratório de Química Orgânica do Instituto Oceanográfico (IO) da Universidade de São Paulo (USP).

## **5.6 Análises moleculares**

### **5.6.1 Obtenção das amostras de brânquias das ostras expostas em laboratório**

Ao final do período de 24 h de exposição às amostras de água do mar em laboratório, as ostras foram retiradas dos aquários, sendo, em seguida, realizada a sua biometria, dissecação e coleta das brânquias. As brânquias foram colocadas em microtubos e, imediatamente, armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a realização dos procedimentos descritos a seguir.

### **5.6.2 Extração de RNA total**

Para a extração de RNA total (RNAt) das amostras de brânquias foi utilizado o reagente Trizol®/QIAzol®, conforme procedimento recomendado pelo fabricante. Foram utilizados 100 mg de cada amostra de brânquia, sendo a homogeneização realizada em 1,0 mL de reagente TRIZOL, utilizando o aparelho rotor *Tissue Tearor*<sup>TM</sup> modelo 985370 (Biospec Products, Inc.). Após uma hora de incubação, foi adicionado clorofórmio e, findo um período de incubação por 3 minutos, as amostras foram submetidas à centrifugação a  $1400\times g$ , a  $4^{\circ}\text{C}$  por 30 min. A fase superior foi transferida para um novo microtubo de 1,5 ml e a ela foram adicionados 500  $\mu\text{l}$  de isopropanol previamente gelado. Finda uma incubação em temperatura ambiente por 10 min, o material foi centrifugado a  $1400\times g$ , a  $4^{\circ}\text{C}$  por 30min. O precipitado obtido foi lavado com 1 mL de etanol a 75% e, em seguida, centrifugado a  $7500\times g$ , a  $4^{\circ}\text{C}$  por 5min. O precipitado assim obtido foi coletado, seco e ressuspendido em água com grau para biologia molecular.

A avaliação do grau de pureza e a determinação da concentração das amostras de RNA total obtidas foram realizadas em um espectrofotômetro (Nanodrop 1000, Thermo Scientific), através da relação das absorvâncias a 260/280 nm. As amostras foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para a realização das etapas posteriores.

### 5.6.3 Síntese de cDNA

A transcrição reversa para a síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada a partir de 1µg de RNA total de cada uma das amostras de brânquias, utilizando-se o *kit* QuantiTect® Reverse Transcription (QIAGEN) segundo as instruções do fabricante.

O produto final da transcrição reversa, cDNA, de cada amostra foi separado em alíquotas de 5 µl, as quais foram armazenadas a -20°C até a realização da etapa seguinte (item 4.6.4).

### 5.6.4 Reação em cadeia da polimerase em tempo real (*qPCR*)

A análise dos níveis de transcritos dos genes selecionados como genes alvo foi realizada nas amostras de brânquias através de PCR em tempo real (*qPCR*), utilizando um termociclador Rotor-Gene TM 6000 (Corbett Life Science).

Os iniciadores utilizados nas reações de *qPCR* foram desenhados com base nas sequências obtidas no transcriptoma de *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) (sin. *Crassostrea brasiliiana*; LAZOSKI *et al.*, 2011) (LÜCHMANN *et al.* 2012; LÜCHMANN *et al.*, 2015), utilizando a ferramenta Primer Quest ([www.idtdna.com/Primerquest](http://www.idtdna.com/Primerquest)). A partir da lista de iniciadores desenhados, foram selecionados os mais adequados com o auxílio da ferramenta Oligo Analyzer ([www.idtdna.com/analyzer/applications/oligoanalyzer](http://www.idtdna.com/analyzer/applications/oligoanalyzer)), considerando a temperatura de “*melting*”, o conteúdo de GC, o tamanho do fragmento a ser gerado na reação de amplificação, e a formação de estruturas secundárias, utilizando como referência o trabalho de BITTENCOURT (2013). A Tabela 4 mostra a lista dos iniciadores utilizados, a respectiva sequência de nucleotídeos e o tamanho do produto esperado na reação de amplificação.

As reações de *qPCR* foram realizadas em duplicata em um volume final de 20 µL por reação, utilizando 2 µL de cDNA de brânquia (amostra), 10 µL do *kit* Rotor-Gene SYBR® Green (QIAGEN) e 2µL dos iniciadores (1 µL do *Foward* e 1 µL do *Reverse*). Em cada corrida foi analisado o nível de transcritos de um determinado gene entre os selecionados, sendo, ao final da reação, obtida a curva de fusão (ou *melting*) para a verificação da existência de um único produto de amplificação em cada reação. Para a obtenção dos níveis de eficiência recomendados para a análise por *qPCR* para cada corrida foram

utilizadas curvas de concentração com um “pool” de todas as amostra, e de acordo com BUSTIN et al., (2009).

As condições da reação de amplificação (PCR) incluíram a ativação inicial da *Taq* DNA Polimerase a 95°C por 5 min, seguida de um ciclo de desnaturação a 95°C por 5 s; e anelamento e extensão a 60°C por 10 s, sendo o número total de ciclos igual a 40.

A quantificação foi baseada na comparação dos produtos gerados na amplificação dos genes de interesse com aqueles obtidos para genes de referência, denominados de genes normalizadores (BUSTIN et al., 2009); no caso do presente estudo, o gene ribossomal 28S e o gene 40S-S3 (vide Tabela 4). Para a análise dos dados na forma de CT (*Cycle Threshold*), foi certificado que o limiar estava delimitado na fase exponencial de amplificação, acima do ruído de fundo e abaixo da fase de platô da reação de PCR, considerando o valor numérico do CT inversamente proporcional à quantidade inicial do transcrito de interesse na reação (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008).

**Tabela 4:** Sequências dos iniciadores utilizados na *qPCR* para amplificação dos genes alvo deste estudo em brânquias de *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) e tamanho dos fragmentos esperados (pb = pares de base).

Nº	Gene	Tamanho do fragmento esperado (pb)	Sequência dos iniciadores 5'- 3'
1	28S-Ribosomal	131	CCC GAA GCC AAA CAC ATT CAA GTG G GGC TTT CCA TTG CGG TCA CCT TAG
2	40S-S3	98	CCT GTT ATG GAG TGC TAC GGT TAT C CAT TGA CTT GGC TCT CTG TCC TC
3	Catalase-like	151	TAC AAC CAC ATC GAG GAC GGG AAG TCC TTC TGG GAC CAT ACC TTG GTG
4	SOD-like	124	GCT CCA GAG GAT ACT GAG AGG CAT CCA ATG ATG GAT TGA GGA CCA GCA
5	GPx-like	144	CGT TGC CGC CAT TGA CCT CTA TCT ACC AGT TTG GAA GTC AGG AGC CAG
6	CYP2AU1-like	158	AAC GGC AAG AGG TGT AAG GTT TGC TAA TCC ATC ACC CGG ATT GGC AGA
7	GST ômega-like	175	ATT GGC ACA CGT ACC TCG \CT GAT TTA ATG GGA CCG CCA GAA GGT CAT
8	Sulfotransferase1C1-like	149	CAC CTG TTA CCT CGC CAT ACT CCA ACT ACC ATG TCC TTC ATC AGG TCC C
9	FABP-like	105	ACG TGA ACG ACG ATG ACC ACA AGT TGG TGT TGT CCT TGG ATT TAC CGT CC
10	ALAd-like	192	GCC ACC AGT AAA TCA GGA AAC CAG C CAG GTA TGG CAT CAA CAG GCT GAG
11	HSP70-like	108	CAC CAT AGG CAA CAG CTT CAT C GAC AAG GGT CAG ATC CAC GAT A

## 5.7 Análise Estatística

Os dados da expressão gênica foram analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), teste de Tukey e Shapiro Wilk. Dados não paramétricos foram analisados pelo teste de KruskWalls e o teste de Dunns. Foi utilizado o *software* Graph Pad 5.5 para a plotagem e análise comparativa dos dados.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Análise de qualidade de água

Em relação a coliformes totais, a análise comparativa dos resultados revelou como sendo os maiores valores aqueles registrados na amostra de água coletada no Canal de Marambaia (MAR), ou seja, 21.000,0 NPM/100 mL, seguidos daqueles registrados na amostra de água coletada na Foz do Rio Camboriú (CAM) com 3.400,0 NPM/100 mL (Figura 4-A). Por outro lado, na amostra de água coletada na Barra (BAR) o valor detectado foi bastante inferior, ou seja, 20 NPM/100 mL, enquanto ausência de níveis detectáveis foi registrada tanto em Laranjeiras (LAR), quanto em Taquarinhas (TAQ) e na amostra do LCM (controle, C).

De modo análogo, os valores de coliformes termotolerantes (fecais) foram maiores no Canal de Marambaia (MAR), com 16.000,0 NPM/100 mL, e na Foz do Rio Camboriú (CAM), com 2.400,0 NPM/100 mL (Figura 4-A), enquanto não foram registrados valores detectáveis (ausência) nas amostras de Laranjeiras (LAR), Barra (BAR) e de Taquarinhas (TAQ), bem como na amostra do LCM (controle, C).

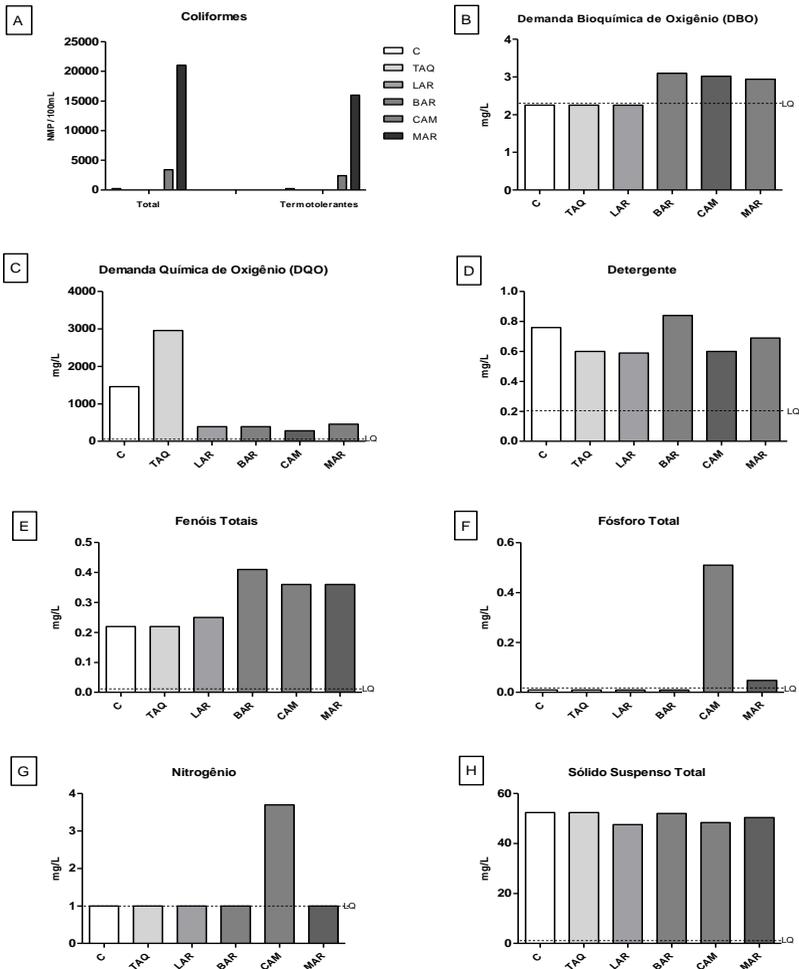
O maior valor de DBO foi aquele registrado em BAR (3,10 mg/L), seguido por CAM (3,02 mg/L) e por MAR (2,96 mg/L). Nos demais locais amostrados (TAQ, LAR e C, controle) os valores estão abaixo do limite de quantificação (Figura 4-B).

A DQO foi maior na água da área referência, TAQ, com um valor de 2.960 mg/L, seguida pela amostra C, controle, cujo valor foi 1.460 mg/L (Figura 4-C). Para as demais amostras, os valores de DQO foram menores e semelhantes entre si, na faixa de 390 mg/L. Os valores determinados para Detergente e Fenóis totais foram maiores em BAR (0,84 mg/L e 0,41 mg/L, respectivamente). Ainda em relação a esses mesmos parâmetros, valores menores, mas próximos foram determinados em CAM (0,70 mg/L) e em CAM e MAR (0,36 mg/L), respectivamente (Figura 4-D e E).

A amostra de CAM, registrou tanto a maior quantidade de Fósforo (0,51 mg/L), como também de Nitrogênio (3,70 mg/L) (Figura 4-F e G). Em relação a esses dois parâmetros, o perfil de CAM destacou-se como sendo bastante distinto quando comparado às demais amostras. Com exceção de MAR, cuja quantidade de Fósforo foi menor que 0,1 mg/L, a quantidade nas demais amostras mostrou-se abaixo do nível de detecção. Em relação ao Nitrogênio, todas as demais amostras apresentaram valores iguais a 1,00 mg/L.

De modo geral, os valores obtidos para Sólidos Suspensos Totais foram bastante semelhantes entre as amostras (Figura 4-H). Os valores para TAQ, C e BAR, ou seja, 52,25, 52,4 mg/L e 52,0 mg/L, respectivamente, foram bastante próximos. Por outro lado, o valor registrado para LAR foi igual a 47,6 mg/L, foi ligeiramente inferior àqueles obtidos para MAR e CAM (50,4 e 48,4 mg/L). As análises relativas à detecção e quantificação de óleos e gorduras não indicaram sua presença nas amostras coletadas (dados não mostrados).

**Figura 4:** Resultados das análises de qualidade de água: (A) Coliformes totais e Coliformes termotolerantes; (B) Demanda Química de Oxigênio (DQO); (C) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO); (D) Detergente; (E) Fenóis totais; (F) Fósforo; (G) Nitrogênio e (H) Sólidos suspensos totais. Amostras de água coletadas no Laboratório de Camarões Marinhos - controle (C) e no município de Balneário Camboriú: Praia de Taquarinhas (TAQ); cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR); cultivo de moluscos da Barra (BAR); Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR). LQ - Limite de Quantificação; NMP – Número Mais Provável.



## 6.2 Contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras

Em relação à presença de Bifenilas Policlorados (PCBs), a análise dos contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras mostrou que a maior concentração destes compostos foi registrada em SAM (tempo zero), em comparação com os demais grupos de ostras. As concentrações de PCBs após exposição às águas do mar em laboratório foram maiores nas amostras de C e LAR.

Em relação aos pesticidas organoclorados (POCs), o grupo de diclorodifeniltricloroetano totais (DDTs) mostrou os maiores valores nas amostras de LAR com  $2,86 \text{ ngg}^{-1}$ -peso seco, tendo o mesmo local também registrado a maior concentração dos Alquilbenzenos Lineares totais (LABs) com  $497,27 \text{ ngg}^{-1}$ -peso seco. Este valor representou três vezes mais o valor observado para as ostras expostas à água coletada em CAM. Nos demais locais, os valores determinados nos tecidos das ostras não passaram do limite de detecção. Tabela 5 e Figura 5.

**Tabela 5:** Concentrações de Bifenilas Policlorados (PCBs), Alquilbenzenos lineares (LABs) e Pesticidas Organoclorados (POCs), representado pelo grupo de DDTs, em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* ( $\text{ngg}^{-1}$ -peso seco), coletadas na estação de cultivo experimental de moluscos da Praia Sambaquí do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero) e expostas por 24 horas a água do mar coletada no LCM/UFSC (controle; C) e em campo: Praia Taquarinhas (TAQ), cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR), cultivo de moluscos da Barra (BAR), Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.

Compostos	Locais						
	SAM	C	TAQ	LAR	BAR	CAM	MAR
PCBs Totais	35,01	21,21	6,42	19,66	7,61	8,87	14,15
LABs Totais	<0,88	<0,88	<0,88	497,27	<0,88	139,83	<0,88
DDTs Totais	0,99	1,85	2,76	2,86	<0,20	1,95	<0,20

Legenda: LDM = Limite de detecção do método.

Em relação aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), sua concentração foi maior em LAR ( $160 \text{ ngg}^{-1}$ ), quando comparada com a área de referência no campo TAQ e entre os demais grupos de amostras de Balneário Camboriú. A concentração nos tecidos das ostras expostas à água do cultivo de moluscos LAR mostrou ser dez vezes maior em relação ao valor de BAR. Os menores valores foram aqueles

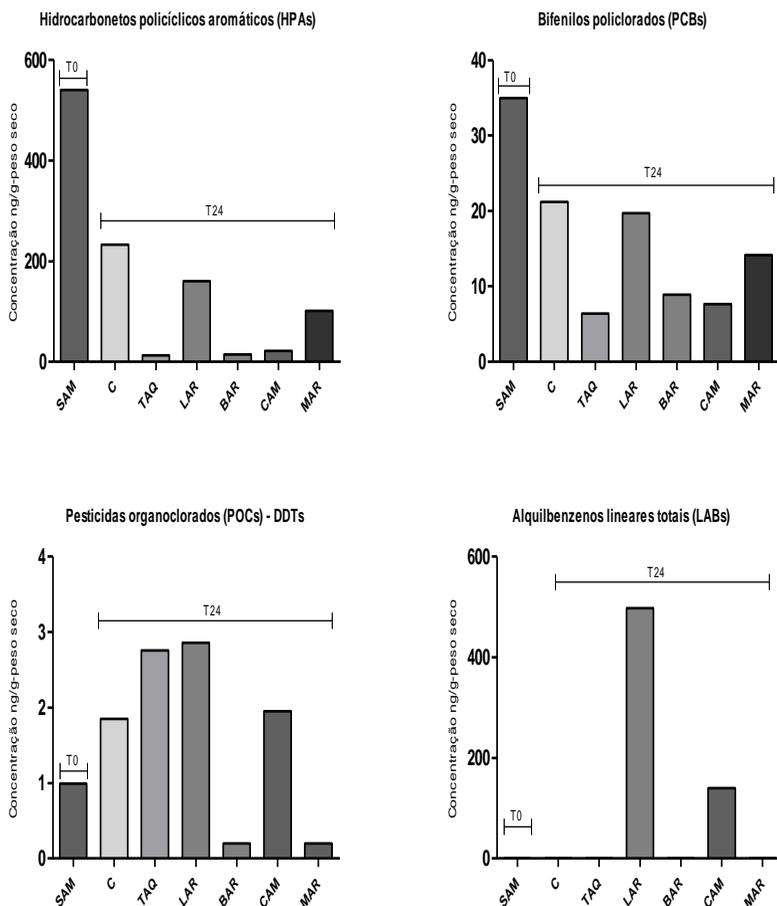
determinados para os tecidos das ostras expostas à água de CAM, seguida por TAQ e MAR, respectivamente. As amostras de tecido no tempo zero (SAM) mostraram valores maiores quando comparadas com os tecidos amostrados após a exposição em laboratório às amostras de água do mar dos diferentes pontos de coleta. As amostras de C tiveram a maior concentração de HPAs após 24 horas. Neste grupo de compostos, destacam-se os maiores valores encontrados para trimetilnaftaleno, fenantreno, metilfenantreno, pireno e fluoranteno, nas amostras de todos os grupos, incluindo os resultados obtidos para SAM (Tabela 6).

**Tabela 6:** Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* (ngg<sup>-1</sup>-peso seco) da estação de cultivo experimental de moluscos da Praia Sambaqui do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero) e aquelas expostas por 24 horas às águas coletadas no LCM/UFSC (controle; C) e em campo: Praia Taquarinhas (TAQ), cultivo de moluscos de Laranjeiras (LAR), cultivo de moluscos da Barra (BAR), Foz do Rio Camboriú (CAM) e Canal de Marambaia (MAR) do Município de Balneário Camboriú, SC.

Compostos	Locais						
	SAM	C	TAQ	LAR	BAR	CAM	MAR
Naftaleno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Metilnaftalenos	16,0	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71
Bifenil	<4,75	<4,75	<4,75	9,86	<4,75	5,24	<4,75
Etilnaftaleno	9,11	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71
Dimetilnaftalenos	151	<9,25	<9,25	34,6	<9,25	<9,25	12,23
Acenaftileno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Acenafteno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Trimetilnaftaleno	208	57,4	<7,27	54,3	<7,27	<7,27	41,1
Fluoreno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Metilfluoreno	22,1	11,1	<10,3	<10,3	<10,3	<10,3	<10,3
Dibenzotiofeno	3,76	2,27	<1,41	<1,41	<1,41	<1,41	<1,41
Fenantreno	44,4	69,6	12,6	34,1	15,0	16,7	38,4
Antraceno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Dimetilfluoreno	14,7	<10,3	<10,3	<10,3	<10,3	<10,3	<10,3
Metilbenzotiofeno	8,52	7,00	<2,81	<2,81	<2,81	<2,81	2,85
Metilfenantreno	22,6	21,4	<5,85	9,78	<5,85	<5,85	6,77
Dimetildibenzotiofeno	8,11	11,9	<5,85	<5,85	<5,85	<5,85	<5,85
Dimetilfenantreno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Fluoranteno	15,4	25,6	<2,63	7,48	<2,63	<2,63	<2,63
Pireno	11,1	21,7	<2,45	6,03	<2,45	<2,45	<2,45
Metilfluoranteno	5,22	5,34	<5,08	<5,08	<5,08	<5,08	<5,08
Metilpireno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[a]antraceno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Criseno	<3,52	<3,52	<3,52	4,32	<3,52	<3,52	<3,52
Metilcriseno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Dimetilcriseno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[b]fluoranteno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[k]fluoranteno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[e]pireno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[a]pireno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Perileno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
dibenzo[a,h]antraceno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
Benzo[g,h,i]perileno	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
<b>HPAs Totais</b>	<b>540</b>	<b>233</b>	<b>12,6</b>	<b>160</b>	<b>15,0</b>	<b>22,0</b>	<b>101</b>
□2-3 anéis	529	212	12,6	150	15	22,0	101
□4-6 anéis	11,1	21,7	n.c.	10,4	n.c.	n.c.	n.c.
□2-3 anéis/□4-6 anéis	47,8	9,8	n.c.	14,5	n.c.	n.c.	n.c.
Teor de Umidade (%)	29,5	26,4	25,7	25,3	24,6	25,3	25,2
%lipídios	6,1	7,0	11,9	11,1	9,6	8,6	8,6
n.c. - não calculado							

Legenda: LDM = Limite de detecção do método.

**Figura 5:** Concentração de contaminantes orgânicos detectados em amostras de tecidos de ostras *Crassostrea gasar* coletadas na estação do cultivo experimental de moluscos da Praia Sambaqui do LMM/UFSC (SAM) (tempo zero; T0) e daquelas expostas por um período de 24 horas (T24) à águas do mar coletada no LCM/UFSC (controle; C) e em campo na Praia Taquarinhas (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no município de Balneário Camboriú, SC.



### 6.3 Contaminantes orgânicos nos sedimentos

Entre as amostras de sedimentos, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foram detectados em maior concentração em CAM (65,8 ngg<sup>-1</sup>), a qual representou cinco vezes mais os valores registrados nos sedimentos das áreas de cultivo LAR (11,1 ngg<sup>-1</sup>) e BAR (15,9 ngg<sup>-1</sup>). Os menores valores foram observados em TAQ e MAR. Figura 6 e Tabela 6.

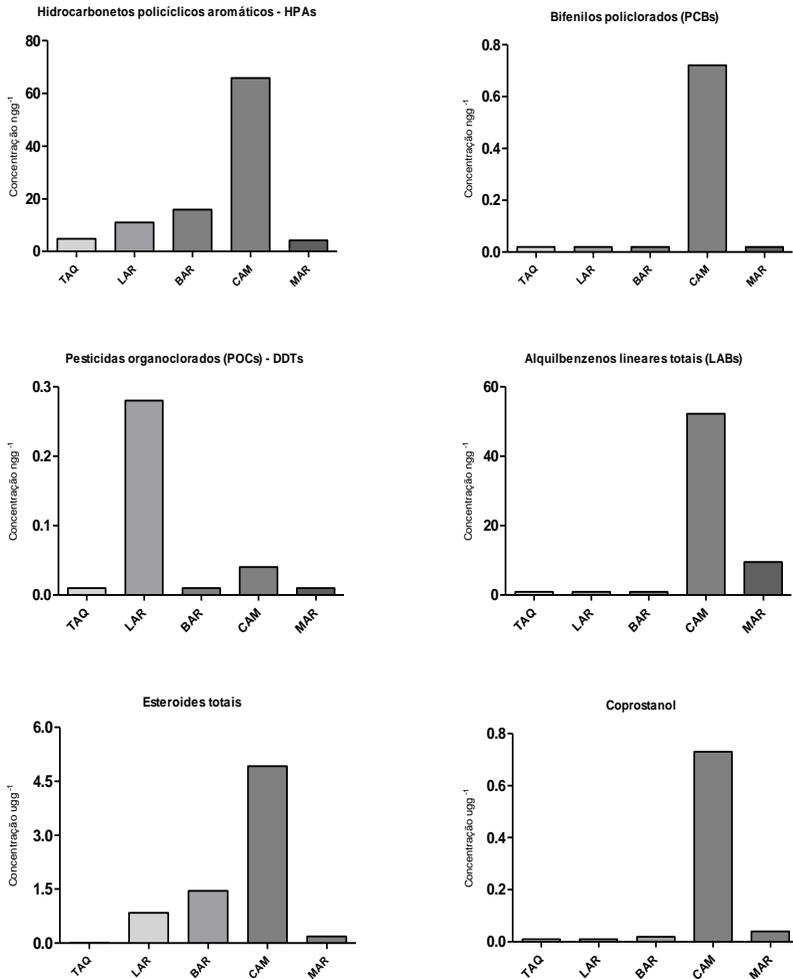
No caso das bifenilas policlorados (PCBs), a amostra coletada em CAM registrou o valor mais elevado (0,72 ngg<sup>-1</sup>), enquanto as outras amostras não atingiram o limite de detecção.

A maior concentração de alquilbenzenos lineares (LABs) foi registrada nos sedimentos coletados em CAM com 52,2 ngg<sup>-1</sup>. Níveis detectáveis de LABs foram registrados em MAR, mas representaram valores abaixo de 50% daqueles observados em CAM (Figura 6).

Em relação aos pesticidas organoclorados (POCs), representados por DDTs totais, os valores determinados foram maiores nas amostras de sedimento coletadas em LAR (Figura 6).

Para os esteroides totais, a maior concentração nos sedimentos foi registrada em CAM (4,92 μgg<sup>-1</sup>), seguida das concentrações registradas nas áreas de cultivo de BAR e LAR. Os valores obtidos refletem a presença de concentrações elevadas de marcadores geoquímicos de contaminação fecal, ou seja, principalmente, colesterol, copostranol, b-sitoestanol (Figura 9 e Tabela 7).

**Figura 6:** Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), Bifenilas Policlorados (PCBs), Pesticidas Organoclorados (POCs - DDTs), Alquilbenzenos Lineares (LABs) ( $\text{ngg}^{-1}$ ) e Esteroides Totais e Coprostranol ( $\text{ugg}^{-1}$ ) em amostras de sedimentos da Praia Taquarinhas (TAQ), dos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), da Foz do Rio Camboriú (CAM) e do Canal de Marambaia (MAR) do Município de Balneário Camboriú, SC.



**Tabela 7:** Concentrações de Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) ( $\text{ngg}^{-1}$ ) em amostras de sedimentos coletados na Praia Taquarinhos (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.

Compostos	Locais				
	TAQ	LAR	BAR	CAM	MAR
Dimetilnaftaleno	2,80	<2,60	<2,60	<2,60	2,70
Trimetilnaftaleno	2,03	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30
Metilfluoreno	<1,30	1,37	1,40	<1,30	<1,30
Fenantreno	<2,60	<2,60	<2,60	3,64	<2,60
Pireno	<1,30	<1,30	<1,30	1,44	<1,30
Reteno	<1,30	<1,30	<1,30	1,38	<1,30
Criseno	<1,20	<1,20	<1,20	1,30	<1,20
Perileno	<1,20	9,68	14,5	56,5	<1,20
Benzof[g,h,i]perileno	<1,20	<1,20	<1,20	1,6	<1,20
<b>HPAs Totais</b>	<b>4,83</b>	<b>11,1</b>	<b>15,9</b>	<b>65,8</b>	<b>4,31</b>
<b>HPAs sem perileno</b>	<b>4,83</b>	<b>1,37</b>	<b>1,40</b>	<b>9,36</b>	<b>4,31</b>

LDM = Limite de detecção do método.

**Tabela 8:** Concentrações dos Esteroides ( $\text{ugg}^{-1}$ ) detectados em amostras de sedimentos coletados na Praia Taquarinhos (TAQ), nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM) e no Canal de Marambaia (MAR) no Município de Balneário Camboriú, SC.

Esteroides	Locais				
	TAQ	LAR	BAR	CAM	MAR
Coprostanol	<0.010	0,01	0,020	0,730	0,040
Epicoprostanol	<0.010	<0.010	<0.010	0,070	<0.010
Coprostanona	<0.018	0,030	0,030	0,150	<0.018
Colestanona	<0.028	<0.028	<0.028	0,040	<0.028
Colesterol	<0.040	0,34	0,660	2,190	0,070
Colestanol	<0.016	0,060	0,070	0,400	<0.016
Brassicasterol	<0.016	0,11	0,150	0,210	0,020
Campesterol	<0.016	0,04	0,090	0,170	<0.016
Estigmasterol	<0.023	0,08	0,100	0,240	0,030
b-Sitosterol	<0.026	0,12	0,250	0,510	0,030
b-Sitostanol	<0.028	0,050	0,080	0,210	<0.028
<b>Esteroides Totais</b>	<b>&lt;0.010</b>	<b>0,84</b>	<b>1,45</b>	<b>4,92</b>	<b>0,19</b>
Coprostanol/ (coprostanol+colestanol)	n.c.	0,14	0,22	0,65	n.c.
Coprostanona/ (coprostanona+colestanona)	n.c.	n.c.	n.c.	0,79	n.c.
Coprostanol/ (colesterol+colestanol)	n.c.	0,03	0,03	0,28	n.c.
Coprostanol/colesterol	n.c.	n.c.	n.c.	18,3	n.c.
Coprostanol/epicoprostanol	n.c.	n.c.	n.c.	10,4	n.c.
<b>Coprostanol+epicoprostanol</b>	n.c.	n.c.	n.c.	0,80	n.c.

n.c.: não calculado

## 6.4 Análise de transcritos gênicos

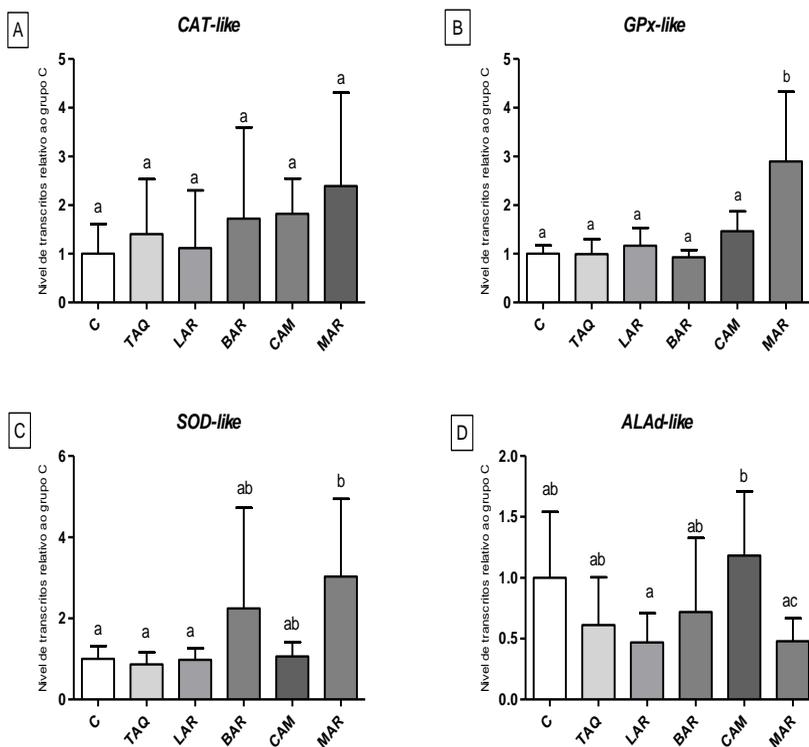
Para a análise dos níveis de transcritos dos nove genes de interesse, os resultados foram relativizados com os dados obtidos para os transcritos dos genes *ribossomal 28-S* e *40S-S3*, utilizados como genes referência (*housekeeping genes*). Os dados foram agrupados de acordo com as atividades funcionais dos respectivos genes.

Em relação aos genes que atuam como parte do sistema de defesa antioxidante de proteção celular, verificou-se que o gene *Superoxido dismutase-like (SOD-like)* apresentou maiores níveis de transcrição no grupo MAR e diferenças significativas com os demais grupos de ostras. Por outro lado, o gene *Catalase-like (CAT-like)* não apresentou diferenças significativas dos seus níveis de transcritos entre os grupos de ostras, enquanto o gene da *Glutathione Peroxidase-like (GPx-like)* apresentou um maior nível de transcritos no grupo MAR, evidenciando-se ainda diferenças significativas em comparação com os demais grupos de ostras. Os níveis de transcritos do gene *Delta-Aminolevulinato desidratase-like (ALAd-like)* foram maiores no grupo CAM, apresentando diferenças significativas em relação aos grupos LAR e MAR (Figura 7).

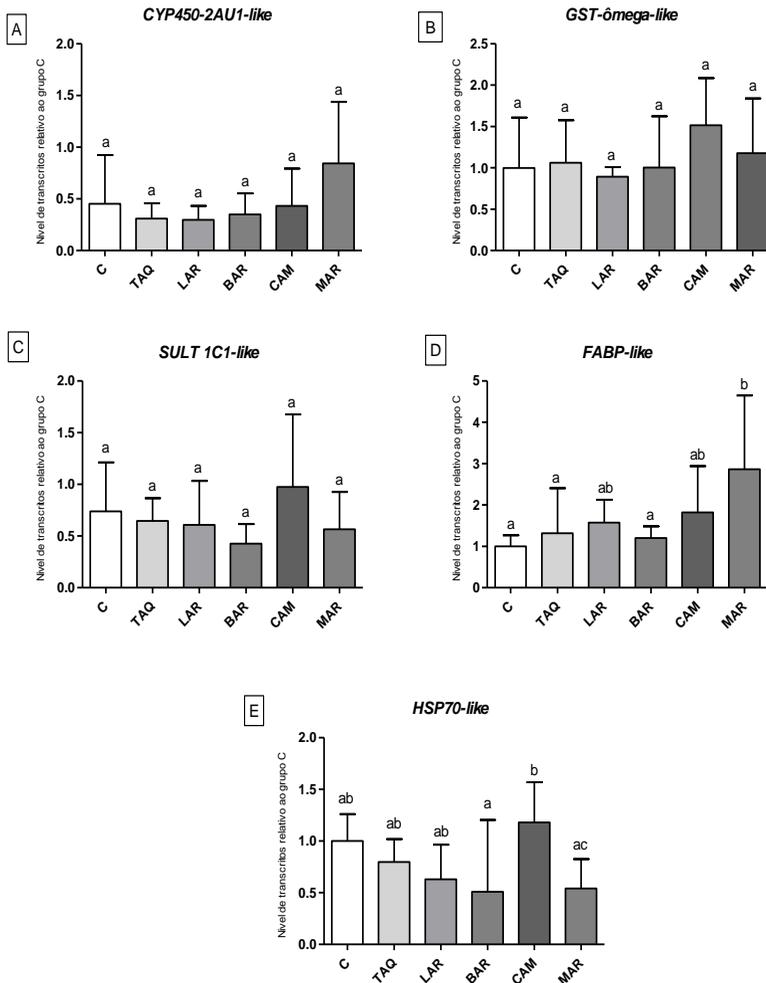
Em relação aos transcritos dos genes que participam da biotransformação de xenobióticos, tanto na fase I, quanto na fase II, os resultados indicam que os genes *Citocromo P450 2A1 (CYP450 2A1)*, *Glutathione-S-transferase ômega-like (GST ômega-like)* e *Sulfotransferase 1C1-like (SULT 1C1-like)* não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos de ostras. Por outro lado, o gene que codifica a *Proteína ligante de ácidos graxos-like (FABP-like)* apresentou maior nível de transcritos no grupo MAR e diferenças significativas em comparação com os grupos C, TAQ e LAR.

No caso do gene codificante da *Proteína de Choque Térmico-like (HSP70-like)*, o maior nível de transcritos foi determinado para as ostras expostas à água do mar proveniente de CAM, sendo observada diferença significativa em comparação com os grupos BAR e MAR (Figura 8).

**Figura 7:** Níveis de transcritos de genes alvo associados às defesas celulares antioxidantes em brânquias de ostras *Crassostrea gasar* expostas à água do mar coletada nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), no Canal de Marambaia (MAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM), na Praia Taquarinhas (TAQ) e no LCM/UFSC (controle; C). Em: (A) *Catalase-like* (CAT-like); (B) *Glutathione Peroxidase-like* (GPx-like); (C) *Superoxido dismutase-like* (SOD-like); (D) *Delta-Aminolevulinato desidratase-like* (ALAd-like). Os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. As letras minúsculas referem-se a diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.



**Figura 8:** Níveis de transcritos de genes alvo associados ao processo de biotransformação em brânquias de ostras *Crassostrea gasar* expostas à água do mar coletada nos cultivos de moluscos de Laranjeiras (LAR) e da Barra (BAR), no Canal de Marambaia (MAR), na Foz do Rio Camboriú (CAM), na Praia Taquarinhas (TAQ) e no LCM/UFSC (controle; C). Em: (A) *Citocromo P450 2A1* (*CYP450 2A1*); (B) *Glutationa-S-transferase ômega-like* (*GST ômega-like*); (C) *Sulfotransferase 1C1-like* (*SULT 1C1-like*); (D) *Proteína ligante de ácidos graxos-like* (*FABP-like*) e (E) *Proteína de Choque Térmico-like* (*HSP70-like*). Os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. As letras minúsculas referem-se a diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.



## 7. DISCUSSÃO

A zona costeira é um ambiente complexo decorrente das interações dinâmicas que ocorrem nesta interface entre oceano, continente e atmosfera. Há uma diversidade de sistemas que a compõe que vão desde ambientes de transição como estuários, lagunas e baías, até áreas mais oceânicas na margem da plataforma continental. Esses ambientes, por sua vez, são muito vulneráveis e estão constantemente sofrendo processos de remodelações por fatores naturais e antrópicos, os quais atuam em diversas escalas espaciais e temporais (FRENCH, 2001). Nesse contexto, o dimensionamento do impacto antrópico nos ecossistemas costeiros e marinhos resultante das diferentes atividades produtivas, tais como a indústria naval e petroquímica, manufatureira, agroindustrial, imobiliária entre outras e, também pelo importante setor de serviços, tendo destaque o turismo, pode ser beneficiado com a realização de pesquisas interdisciplinares com a aplicação de metodologias orientadas ao monitoramento ambiental. Essa estratégia pode contribuir para o conhecimento das causas e do grau do impacto antropogênico, bem como para identificar as consequências temporais e periódicas que afetam o equilíbrio de um dado ecossistema, visando sua utilização de forma sustentável. Nesse sentido, o uso de moluscos bivalves como organismos bioindicadores tem contribuído para o entendimento das respostas biológicas decorrentes do impacto causado por “xenobióticos”, mediante a utilização de biomarcadores de contaminação aquática em nível bioquímico e molecular (VIARENGO; CANESSI, 1991; BAINY et al., 2000; CAJARAVILLE et al., 2000; ZANETTE et al., 2010; SERAFIM et al., 2008; LÜCHMANN et al., 2014; TURJA, 2014; LÜCHMANN et al., 2015).

O presente estudo envolveu a análise dos níveis de transcritos de genes alvo nas brânquias de ostras *Crassostrea gasar* expostas em laboratório por um período de 24 horas a amostras de água do mar coletadas em diferentes locais da orla do município de Balneário Camboriú, SC. Paralelamente, foram realizadas análises de contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras, bem como em amostras de sedimentos coletadas nos mesmos locais. A correlação dos resultados obtidos possibilita uma avaliação preliminar do impacto antrópico nesses locais, os quais compartilham atividades ligadas ao turismo, ao setor imobiliário e à aquicultura de moluscos bivalves e compõem uma região de importância econômica para o Estado de Santa Catarina.

## 7.1 Qualidades de água

No cultivo de moluscos marinhos é de importância realizar análise de qualidade de água e dos recursos biológicos, incluindo um esquema de monitoramento integral de todas as etapas da produção aquícola, tanto no ambiente marinho, quanto no costeiro e na área de beneficiamento. Esta estratégia pode contribuir para o sucesso do empreendimento, em consonância com as indicações da legislação local sobre sanidade aquícola e gerando consigo um importante aporte na plataforma da segurança de alimentos para consumo humano.

Nesse contexto, a Resolução 357/2005 do CONAMA na Seção II, Art. 5, classifica as águas salinas na classe 1 como destinadas à aquicultura e à atividade da pesca. Ademais, na Seção III, Art. 18, determina as condições e os padrões de qualidade de água para o cultivo de moluscos destinados à alimentação humana. Para coliformes termotolerantes é estabelecido o limite máximo de 43 NPM/100 mL. De acordo com os resultados, a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes nas amostras de água do mar das áreas de cultivo de moluscos de LAR e BAR revelou ausência destes microrganismos, ao contrário dos resultados obtidos para as amostras de MAR (16.000,0 NPM/100mL) e CAM (2.400,0 NPM/100mL), as quais superaram de forma significativa os limites permitidos pela legislação, comprovando a presença de contaminação fecal nas águas destes locais e, conseqüentemente, o impacto antrópico nas ditas áreas. Embora exista o parâmetro microbiológico nas legislações atuais, é importante avaliar os padrões adequados de modo a se determinar a qualidade microbiológica da água e dos organismos aquáticos, pois há a necessidade de acompanhamento contínuo da potencial contaminação destes recursos (DOI, 2012).

Além disso, outro indicador da presença do impacto antrópico na qualidade de água é a análise da demanda bioquímica de oxigênio (DBO). De acordo com Kuroshima e colaboradores (2000), a DBO é um parâmetro utilizado para indicar indiretamente a quantidade de material orgânico presente no ambiente e a capacidade que este ambiente apresenta em reciclar este material, através das bactérias presentes na água. Um monitoramento da qualidade da água do Rio Camboriú e da Enseada de Camboriú, no período entre os anos de 1997 e 2001, evidenciou uma elevação da descarga de esgoto sanitário nestes ambientes e, a conseqüente deterioração da qualidade de suas águas, com elevação das concentrações médias de amônia e fósforo,

principalmente, acompanhadas de um acréscimo da DBO (KUROSHIMA et al., 2007).

O nitrogênio e o fósforo são muitas vezes considerados como os principais culpados de eutrofização, a qual pode originar-se a partir de várias fontes de entrada (por exemplo, resíduos industriais, resíduos urbanos, fertilizantes agrícolas e erosão do solo) (WANG et al., 2012). Assim a quantidade de fósforo total na amostra de CAM foi superior àquela estabelecida como limite máximo na legislação do CONAMA 357/2005 para fins da aquicultura de moluscos, tanto para águas salinas, como para águas salobras. Assim, de acordo com os valores reportados no presente estudo, a DBO foi maior na área de cultivo BAR. Este resultado pode estar relacionado à proximidade da Foz do Rio Camboriú. Este resultado indica ainda valores similares àqueles registrados em CAM e MAR, respectivamente; estes últimos apresentando impacto antrópico. Os valores determinados no presente estudo estão de acordo com o estudo realizado por Kuroshima e colaboradores (2000), podendo-se destacar que o aumento nas concentrações de fósforo total e DBO indicam que as concentrações de material orgânico na enseada são mais pronunciadas nos pontos mais próximos da desembocadura do rio Camboriú. Por outro lado, a ausência de óleo e gorduras está de acordo com as normas do CONAMA 357/2005.

Cabe mencionar que a análise da qualidade de água da área de cultivo BAR apresentou maiores níveis de DBO, detergentes e fenóis, superando os valores determinados para os outros pontos de coleta, sugerindo um maior impacto antrópico, como observado no caso de CAM e MAR. Tendo sido a coleta de água do mar realizada de forma pontual, deve ser destacada a necessidade de se manter um fluxo regular de informações relativas a estes parâmetros, mediante o biomonitoramento da área, de modo a se avaliar se os valores de BAR e dos outros locais citados devem ser considerados de caráter esporádico, sazonal e/ou caracterizam uma tendência.

Cabe salientar que os valores de coliformes termotolerantes nas áreas de cultivo de BAR e LAR são diferentes daqueles registrados por RODRIGUES (2007) que em um levantamento de dados de coliformes totais e termotolerantes na área de cultivo de Laranjeiras (LAR) ao longo de cinco anos reportou valores superiores àqueles determinados nas análises ora realizadas e coincidem com os trabalhos de KUROSHIMA (2000), SCHERER (2003) e URBAN (2008). De qualquer modo, cabe salientar ainda o intervalo de tempo decorrido entre os estudos. Segundo RODRIGUES (2007), no caso do polígono situado à frente da foz do

rio Camboriú, em Barra Sul, é recomendada a depuração dos moluscos oriundos desta área previamente ao seu consumo, em função dos inúmeros contaminantes presentes nesta região, decorrentes das atividades desenvolvidas à montante da foz do rio Camboriú e a forte ocupação urbana na área.

## **7.2 Contaminantes orgânicos nos tecidos das ostras e nos sedimentos**

Os sedimentos são depósitos de material sólido e inconsolidado, constituídos principalmente por partículas minerais e restos orgânicos (SUGUIO, 1973). Nos ecossistemas aquáticos, o sedimento funciona como um receptor de diversas substâncias e também como um regulador natural de processos que ocorrem na porção mais profunda do sistema. Eles podem estocar grandes quantidades de matéria orgânica e afetar a concentração de oxigênio da água de fundo. Os sedimentos de fundo também constituem uma fonte de nutrientes para a coluna d'água acima, através das trocas e fluxos na interface água-sedimento, influenciando na produtividade primária (JORGENSEN, 1996). No caso da maricultura, a preocupação com os sedimentos é procedente, uma vez que os cultivos se encontram instalados em áreas que sofrem a influência direta da deposição de resíduos oriundos de outras atividades antrópicas desenvolvidas em ambientes terrestres contíguos, as quais promovem, de forma aditiva, a degradação do meio aquático (RODRIGUES, 2007).

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA), por exemplo, aparecem em áreas costeiras mais urbanizadas em diferentes partes do globo, acumulados nos sedimentos e na biota que não são capazes de eliminá-los de forma eficiente (MEADOR et al., 1995). Ademais, sua acumulação nos organismos bentônicos, como anelídeos, moluscos e peixes planos, tem sido registrada nas águas costeiras em ecossistemas tróficos inferiores (NAKATA et al., 2003). Baumard e colaboradores (1998) sugerem que as concentrações de HPAs em moluscos e sedimentos sejam categorizadas em quatro grupos; baixa ( $0-100 \text{ ngg}^{-1}$ ), moderada ( $100-1000 \text{ ngg}^{-1}$ ), alta ( $1000-5000 \text{ ngg}^{-1}$ ), de alta e muito alta ( $45000 \text{ ngg}^{-1}$ ), em uma base de peso seco, critério que serve como uma medida do grau de contaminação. Esta categorização de concentrações tem sido utilizada em diversos estudos para estimar os potenciais riscos e efeitos de HAPs nos ecossistemas marinhos (NAKATA et al., 2014). Os HPAs, devido à sua elevada hidrofobicidade, tendem a ser aprisionados e armazenados em sedimentos aquáticos e são reservatórios críticos que podem, direta ou indiretamente, afetar organismos em

contato com pisos inferiores ou aqueles que estão suspensos e expostos na coluna de água ou dissolvidos em água (NARBONNE, 1999; MARTINS et al., 2013). Exemplos dos principais HPAs presentes no petróleo bruto são o naftaleno, o fenantreno e seus derivados alquilados (UNEP, 1991).

No presente estudo, os níveis de HPAs presentes nos sedimentos coletados na Foz do Rio Camboriú (CAM) mostraram-se, comparativamente, mais elevados ( $65,8 \text{ ngg}^{-1}$ ). Segundo a categorização descrita por Baumard e colaboradores (1998) este valor encontra-se dentro da faixa de baixa concentração. As concentrações de HPAs nas áreas de cultivo de moluscos de LAR e BAR mostraram, em termos comparativos, valores cerca de 20 e 16% menores ( $11,1 \text{ ngg}^{-1}$  e  $15,9 \text{ ngg}^{-1}$ ), respectivamente, enquanto valores cerca de 7% menores foram registrados tanto em MAR, como em TAQ (inferior a  $5 \text{ ngg}^{-1}$ ). Mesmo considerando os valores de HPAs registrados em CAM, de modo geral, os valores determinados nos pontos amostrados foram menores em relação àqueles registrados nas áreas de cultivo de moluscos de Santo Antônio de Lisboa e Sambaqui-SC ( $96,9 \text{ ngg}^{-1}$ ;  $88,2 \text{ ngg}^{-1}$ ; SOUZA et al., 2012), Bahia da Babitonga-SC e Guaratuba-PR ( $61 \text{ ngg}^{-1}$ ;  $62 \text{ ngg}^{-1}$  – ZACCHI, 2013) e, ainda, nas áreas de cultivo de moluscos em Ribeirão da Ilha ( $27,5 \text{ ngg}^{-1}$ ; GOMES, 2013 e  $14,5 \text{ ngg}^{-1}$ ; SOUZA et al., 2012), uma importante região de produção de moluscos bivalves em Florianópolis, SC. Por outro lado, concentrações significativamente mais elevadas de HPAs foram encontradas nos sedimentos na área costeira do Rio Bucheler do Município de São Jose-SC ( $213 \text{ ngg}^{-1}$ ; GOMES, 2013 e  $112,1 \text{ ngg}^{-1}$ ; SOUZA et al., 2012). Comparando-se este quadro com resultados de diferentes estudos realizados em ambientes costeiros brasileiros, de modo geral, os valores de HPAs foram menores. Nesse sentido, TANIGUCHI (2002) apresentou as concentrações de HPAs em sedimentos na faixa costeira do estado do Rio de Janeiro; Macaé ( $0,43 - 18,36 \text{ ngg}^{-1}$ ), Arraial do Cabo ( $14,40 - 98,64 \text{ ngg}^{-1}$ ) e a faixa entre Rio de Janeiro e Angra dos Reis ( $0,37 - 4.610,04 \text{ ngg}^{-1}$ ). Na Baía de Santos, SP, conforme reportado por Medeiros e Bicego (2004), o valor foi igual a  $79,6 - 15.389,1 \text{ ngg}^{-1}$ , enquanto na Lagoa dos Patos, RS, registrou-se, em um intervalo de cinco anos,  $2,4$  a  $2.303 \text{ ngg}^{-1}$  (PORTZ, 2005) e  $4,7 - 112,5 \text{ ngg}^{-1}$  (MAIOLI et al., 2010), na Baía Todos os Santos, BA a faixa dos valores registrados foi bastante ampla, de  $8$  a  $4.163 \text{ ngg}^{-1}$  (VENTURINI; TOMMASI, 2004); Bahia Laranjeiras, PR ( $3,85 - 89,2 \text{ ngg}^{-1}$ ; MARTINS et al., 2012) e no Complexo Estuarino Lagunar Mundaú-Manguaba, AL ( $29,2 - 222,7 \text{ ngg}^{-1}$ ; SILVA et al., 2013). No âmbito mundial, Guadalupe, Guiana Francesa,  $49-1.065 \text{ ngg}^{-1}$

(RAMDINE et al., 2012); Baía Tanoura, Japão, média de 30.200 ngg<sup>-1</sup> (NAKATA et al., 2014); Mar de Barents, 200 ngg<sup>-1</sup> (BOITSOV et al., 2009); Estreito Istanbul, 1,1 - 3.152 ngg<sup>-1</sup> e no Mar Marmara, 144 ngg<sup>-1</sup>, na Turquia, conforme reportado por Karacik e colaboradores (2009). Dentro deste painel, incluem-se ainda os dados de Readman e colaboradores (2002) no Estreito Istambul, entrada do Mar Negro (14-531 ngg<sup>-1</sup>), mar Negro - Rússia (61 - 368 ngg<sup>-1</sup>), mar Negro - Ucrânia, (7,2 - 638 ngg<sup>-1</sup>) e aqueles de Cardellicchio e colaboradores (2007), para o Mar Piccolo, Taranto, Mar Jónico, Itália (380 - 12.750 ngg<sup>-1</sup>) e aqueles registrados para o Mar Báltico (5 - 22.100 ngg<sup>-1</sup>) e Mar Mediterrâneo Ocidental (1,2 - 20.400 ngg<sup>-1</sup>) (BAUMARD et al., 1999).

Os principais processos envolvidos na absorção de HPAs por organismos são: bioconcentração, bioacumulação e biomagnificação. A bioconcentração é a absorção de HPAs somente da água, através da respiração e ou pele, resultando em uma concentração de HPAs maior no organismo do que na água. Bioacumulação é a absorção de HPAs por organismos aquáticos, através de várias rotas de exposição, como alimentação, respiração e absorção dérmica, enquanto a biomagnificação é o aumento da concentração de contaminantes nos organismos, através da alimentação ao longo da cadeia trófica (MACKAY; FRASER, 2000). Devido ao seu caráter lipofílico, os HPAs têm grande facilidade de passar pelas membranas celulares, permitindo o acúmulo em diferentes tecidos (ALBERS, 1994). Todos os bivalves não têm rádula e são os únicos entre os moluscos que utilizam brânquias, tanto como estrutura alimentar, como para respirar; sendo as mesmas cobertas por cílios que circulam a água para a troca de gás, enquanto na alimentação, partículas extremamente pequenas, são retidas numa camada de muco secretada sobre a superfície branquial (SUMICH; MORRISSEY, 2004). HPAs lançados no meio ambiente marinho tendem a absorver rapidamente em materiais e sedimentos em suspensão e são biodisponíveis para os peixes e outros organismos marinhos, através da cadeia alimentar, como os compostos à base de água e de sedimentos contaminados. Dessas três vias possíveis, a absorção de HPA pela água, através das brânquias, é considerada como o mais significativo. Além disso, a absorção de HPAs sempre depende da sua biodisponibilidade, bem como a fisiologia dos organismos (MEADOR, 1995). De acordo como GOSLING (2003), nos moluscos bivalves as brânquias participam na respiração e alimentação e ademais, estão envolvidas na bioacumulação de pesticidas, metais pesados e hidrocarbonetos solúveis. O dano dos HPAs no organismo baseia-se principalmente por resultado de dois mecanismos; associação ou reação

com lipídios nas membranas celulares ou outros constituintes celulares; reação com macromoléculas, como os ácidos nucleicos (DNA, RNA) e proteínas (por exemplo, enzimas) (NEFF, 1985). Segundo Woo e colaboradores (2006), a acumulação dos HPAs afeta o DNA de modo que pode acarretar modificações estruturais que induzem diversas disfunções metabólicas. O processo de biotransformação de HPAs está geralmente associado a uma elevação intracelular de espécies reativas de oxigênio (EROs), na sua maioria radicais hidroxilas, altamente tóxicos ao DNA (KATSUMITI et al., 2009).

Neste estudo, a concentração de HPAs determinada nos tecidos das ostras *Crassostrea gasar* pode ser considerada como moderada, tendo sido registrados, comparativamente, valores mais elevados no tempo zero (SAM), com 540 ngg<sup>-1</sup> peso seco. Os tecidos de ostras de LAR apresentaram a maior concentração de HPAs com 160 ngg<sup>-1</sup>, seguida dos valores registrados para os tecidos das ostras de MAR, 110 ngg<sup>-1</sup>, quando comparados com a área referência TAQ e as demais amostras de Balneário Camboriú. As concentrações de BAR (15 ngg<sup>-1</sup>), TAQ (12,6 ngg<sup>-1</sup>) e CAM (22 ngg<sup>-1</sup>) foram similares quando comparadas com os valores registrados em tecidos das ostras da mesma espécie e coletadas das áreas de cultivo de moluscos da Baía de Babitonga, SC e Guaratuba, PR (7 - 13 ngg<sup>-1</sup>; ZACCHI, 2013), bem como as ostras expostas *in situ* por 24 horas no mangue de Itacorubi em Florianópolis, SC (6,9 a 20,42 ngg<sup>-1</sup>; BITTENCOURT, 2013) e menores quando comparadas com as concentrações de HPAs em mexilhões cultivados na costa do Rio de Janeiro e São Paulo (32,7 - 70,1 ngg<sup>-1</sup>; YOSHIMINE et al., 2012). Souza e colaboradores (2012), reportaram resultados de análises de HPAs em tecidos de ostras *Crassostrea gigas* de diferentes áreas de cultivo de moluscos em Florianópolis, SC, observando, em termos comparativos, valores mais elevados em Ribeirão da Ilha (138 ngg<sup>-1</sup>) e Santo Antônio de Lisboa (135,0 ngg<sup>-1</sup>), em relação a Tapera (69,0 ngg<sup>-1</sup>) e Sambaqui (19,6 ngg<sup>-1</sup>). Os níveis registrados nos estudos citados foram inferiores àqueles reportados nos tecidos das ostras da área de cultivo de moluscos LAR (160 ngg<sup>-1</sup>) em Balneário Camboriú, SC. Também foram menores em relação às concentrações de HPAs em tecidos de ostras *C. rhizophorae* expostas a esgoto sanitário no Rio Bucheler, Município de São José, SC (16,4 - 39,9 ngg<sup>-1</sup>; ZANETTE, 2009). Entretanto, foram registradas altas concentrações nesta mesma região em ostras *C. gigas* (1.594 ngg<sup>-1</sup>; SOUZA et al., 2012).

Situação similar foi observada em relação a estudos realizados em ostras coletadas na Baía Tanoura no Japão (1.100 - 1.700 ngg<sup>-1</sup>;

NAKATA et al., 2014) e na Índia ( $1.133 \text{ ngg}^{-1}$ ) e na Baía de Tóquio ( $1269 \text{ ngg}^{-1}$ ) (ISOBE et al., 2007) e em *C. rhizophorae* em Guadalupe, Guiana Francesa ( $49 - 1.065 \text{ ngg}^{-1}$ ; RAMDINE et al., 2012). Mesmo tendo sido observada uma concentração moderada de HPAs nos tecidos das ostras *Crassostrea gasar* neste estudo, os dados corroboram a importante capacidade de bioacumulação desta espécie de bivalve. Nesse sentido, LÜCHMANN (2012) destacou a importância da brânquia das ostras *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*) no metabolismo de xenobióticos, frente à exposição por 24 horas a fenantreno ( $100 \mu\text{gL}^{-1}$  e  $1.000 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), um dos principais componentes dos HPAs, evidenciando respostas moleculares relevantes em relação aos biomarcadores *CYPs* e *GSTs* no metabolismo de HPAs. Posteriormente, REIS (2014) utilizou a mesma concentração de fenantreno e manteve as ostras expostas por um período mais longo, evidenciando alterações histopatológicas nas brânquias e em outros tecidos. Outras investigações foram desenvolvidas com a mesma espécie de ostra, apresentando evidências de bioacumulação de contaminantes orgânicos, como aquelas desenvolvidas por ZACHI (2013); BITTENCOURT (2013) e LÜCHMANN e colaboradores (2014; 2015), entre outras.

Os LABs são moléculas orgânicas utilizadas na produção industrial dos detergentes comerciais alquilbenzenos sulfonatos (LASs), e também podem ser formados como produtos da degradação destes LASs (PENTEADO et al., 2006). Uma vez que os LABs podem acumular-se em sedimentos e tecidos biológicos (SHERBLUM et al., 1992), eles têm sido utilizados para examinar o comportamento ambiental e destino dos poluentes orgânicos hidrofóbicos e tóxicos com propriedades físico-químicas semelhantes, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, éteres difenílicos polibromados e pesticidas organoclorados (WANG et al., 2012). São moléculas resistentes à degradação, sendo preservadas mesmo após sofrer tratamento terciário de efluentes e permanecendo por até 20 anos, nos sedimentos marinhos (GREEN et al. 1995). Os alquilbenzenos lineares (LABs) têm sido utilizados em diversos estudos como indicadores moleculares de contaminação por esgoto sanitário em ambientes costeiros, a partir de suas concentrações em sedimentos e em tecidos de moluscos bivalves (SERRAZENETTI et al., 1997; MARTINS et al., 2002; TSUTSUMI et al., 2002; ABESSA et al., 2005; BICEGO et al., 2006; ZANETTE, 2009; SASAKI, 2012; SOUZA et al., 2012; FLORES-NUNES et al., 2015).

No presente estudo, as concentrações de LABs nos sedimentos das áreas de cultivo de moluscos de LAR e BAR não atingiram o limite de detecção ( $0,88 \text{ ngg}^{-1}$ ) e, neste sentido, poder-se-ia considerar que apresentam concentrações menores em comparação com aquelas registradas nas áreas de cultivo de moluscos da Baía de Babitonga, SC e Guaratuba, PR ( $3,22 - 12,76 \text{ ngg}^{-1}$ ;  $1,74 - 15,34 \text{ ngg}^{-1}$ , respectivamente; ZACCHI, 2013), Ribeirão da Ilha e Sambaqui ( $12,1 \text{ ngg}^{-1}$ ;  $1,56 \text{ ngg}^{-1}$ , respectivamente; SOUZA et al., 2012). Por outro lado, as concentrações de LABs foram maiores nos sedimentos da Foz do Rio Camboriú (CAM) ( $52,2 \text{ ngg}^{-1}$ ) em comparação com o Canal de Marambaia (MAR) ( $9,5 \text{ ngg}^{-1}$ ), registrando-se, comparativamente em ambos os locais, concentrações menores que aquelas reportadas para o Rio Bucheler, SC ( $531 \text{ ngg}^{-1}$ , GOMES, 2013;  $108 \text{ ngg}^{-1}$ , SOUZA et al., 2012) e na Baía de Babitonga ( $413,3 \text{ ngg}^{-1}$ ; MARTINS et al., 2014).

Com relação às concentrações de LABs nos tecidos de ostras *C. gasar*, esta foi maior nos tecidos das ostras de LAR (valor de  $497,27 \text{ ngg}^{-1}$ ), podendo, ser considerada moderada, segundo o nível de BAUMARD (1998), mas, por outro, sendo maior ao ser comparada com aquelas determinadas em ostras cultivadas na Baía de Babitonga, SC e Guaratuba, PR ( $126 \text{ ngg}^{-1}$ ;  $42,4 - 151,73 \text{ ngg}^{-1}$ , ZACCHI, 2013) e, próxima à faixa de concentração encontrada em ostras expostas *in situ* no mangue de Itacorubi, SC ( $379,2$  e  $496,5 \text{ ngg}^{-1}$ ; BITTENCOURT, 2013). Ainda dentro de uma análise comparativa nos limites da Ilha de Santa Catarina, SC, a concentração de LABs em LAR foi maior do que aquela registrada em ostras *C. gigas* das áreas de cultivo de Ribeirão da Ilha e Praia do Forte ( $150 \text{ ngg}^{-1}$ ; GOMES, 2013) e em Ribeirão da Ilha, Sambaqui e Santo Antônio de Lisboa ( $60,4$ ;  $42,3$ ;  $32,1 \text{ ngg}^{-1}$ ; SOUZA et al., 2012). A mesma consideração é válida na comparação com um estudo com a ostra *C. rhizophorae*, realizado em São José, SC, no qual a faixa de concentração de LABs nos tecidos foi igual a  $135 - 382 \text{ ngg}^{-1}$  (ZANETTE, 2009), estando abarcada nos limites da ampla faixa de concentração registrada para a mesma espécie de ostra em Cananeia, São Paulo ( $90,1 - 1.848,7 \text{ ngg}^{-1}$ ; SASAKI, 2012). Em outras espécies de moluscos, *Mytella charruana* e *M. guyanensis*, a determinação de LABs nos tecidos também mostrou uma faixa ampla de concentração, conforme estudos realizados em Santos, Brasil ( $109,8 - 3.338,9 \text{ ngg}^{-1}$ ; SASAKI, 2012). Valores da quantificação destes compostos em outras espécies de molusco em diferentes regiões do globo, por outro lado, mostraram concentrações bem mais elevadas do que aquela registrada em LAR, seja em um estudo com mexilhões *Mytilus edulis* em Tóquio, Japão ( $1.000 - 1.760 \text{ ngg}^{-1}$ ; TSUTSUMI et al., 2002), ou com diferentes

espécies de moluscos no Mar Adriático, Itália (3.200 – 15.900 ngg<sup>-1</sup>; SERRAZANETTI et al., 1997).

Os valores aqui determinados para LABs nos tecidos das ostras expostas às águas de cultivo de LAR fornecem indícios de contaminação por esgoto sanitário no corpo aquático, sugerindo a necessidade de realização de monitoramentos contínuos do referido contaminante orgânico e buscar minimizar ou eliminar esse aporte, de forma a antecipar suas consequências futuras, como, por exemplo, a eutrofização do meio aquático, a qual logo pode criar condições que levem à geração de algas nocivas. A eutrofização das águas costeiras é um problema potencial que ameaça a indústria da maricultura (KWON et al., 2004).

De acordo com SCHRAMM (2010), os agentes que contaminam moluscos bivalves podem ser químicos ou biológicos. Entre os perigos químicos encontramos diferentes substâncias, como pesticidas e metais-traço, os quais provocam intoxicações alimentares quando presentes na carne de moluscos. Os perigos biológicos são representados por bactérias patogênicas e protozoários naturalmente presentes no ambiente; por bactérias e vírus provenientes do trato digestivo humano e animal e, ainda, pelas biotoxinas produzidas por organismos vivos, como por exemplo, as ficotoxinas produzidas por microalgas que vivem no meio aquático. Nos meses de julho a outubro de 2007, florações de espécies de microalgas *Dinophysis* sp. atingiram o litoral de Santa Catarina de forma muito abrangente e duradoura. Áreas de cultivo de São Francisco do Sul, Penha, Balneário Camboriú, Porto Belo, Bombinhas e Governador Celso Ramos foram interditadas por dois meses em média, dada a extensão e intensidade do evento (Portarias da SEAP no10 a 23, de 2007). Medidas de contingência foram adotadas para evitar o consumo de moluscos e seus riscos potenciais naquele momento. Recentemente, foi realizado o monitoramento da presença de ficotoxinas da Síndrome Diarréica (*Diarrheic Shellfish Poisoning* – DSP) em mexilhões *Perna perna* e no cultivo de moluscos em Laranjeiras em Balneário Camboriú, cujas análises, registradas nos Certificados de Bioensaios N° 380/2014 e 105/2014 emitidos pela CIDASC no processo de Monitoramento de Ficotoxinas e Algas Nocivas no Estado de Santa Catarina, geraram resultados que levaram à restrição na comercialização de moluscos na área referida aquícola até que as condições sanitárias relativas aos níveis de algas nocivas e ficotoxinas estivessem de acordo com os limites permitidos pela legislação.

Desta forma, ressalta-se a pertinência do controle dos níveis de contaminantes, parte do esgoto sanitário, nos ambientes aquáticos e,

principalmente, na proximidade do entorno dos cultivos de moluscos em localidades suscetíveis a impacto antrópico, como descargas de esgoto sanitário no ecossistema, sem tratamento adequado.

De acordo com Wang e colaboradores (2012), os LABs foram empregados com sucesso para rastrear a entrada de esgoto sanitário de regiões urbanas tidas como suspeitas de serem a principal fonte responsável pela poluição do lago Chaohu, um dos lagos mais eutrofizados na China. Nesse contexto, SASAKI (2012) demonstrou na região de Santos, SP que os LABs são bons marcadores neste sentido e podem refletir o grau de introdução de esgoto sanitário em regiões com baixa ou alta interferência antrópica e como ferramenta importante na avaliação da exposição a esgoto em organismos que possuem o sistema enzimático desenvolvido e que conseguem metabolizar xenobióticos. Diversos estudos na região de Florianópolis, SC determinaram a importância dos LABs como marcadores de contaminação por esgoto sanitário (ZANETTE, 2009; SOUZA et al., 2012; FLORES-NUNES et al., 2015).

As bifenilas policlorados (PCBs) são produtos químicos industriais de composição lipofílica, sendo bastante estáveis e persistentes no ambiente (LANG, 1992; CANESI et al., 2003) e que apresentam o fenômeno da biomagnificação, que é o aumento da concentração em função da posição do organismo na cadeia alimentar (TANIGUCHI, 2002). Risebrough e colaboradores (1990) descrevem que a NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*) considera valores maiores a  $500 \text{ ngg}^{-1}$  em sedimentos como equivalentes a alto grau de contaminação. As concentrações de PCBs nos sedimentos de CAM mostrou o maior valor com  $0,72 \text{ ngg}^{-1}$ , valor este que está abaixo da concentração de  $5 \text{ ngg}^{-1}$  considerada para regiões não contaminadas, conforme definido por Marchand e colaboradores (1990). Dados de Bittencourt (2013), determinados nos sedimentos e nos tecidos de ostras *Crassostrea gasar* não registraram concentrações acima do limite de detecção de  $0,51 \text{ ngg}^{-1}$  em mangues de Florianópolis, SC, o mangue do Itacorubi e o mangue de Ratonés. Ademais a concentração de PCBs registrada em CAM é cerca de 50% menor que a menor concentração registrada em Cananéia, SP ( $1,40 - 10,97 \text{ ngg}^{-1}$ ; MATOS; WEBER (2000) e próxima do menor nível de PCBs observado em Macaé-RJ ( $0,5 - 6,6 \text{ ngg}^{-1}$  – TANIGUCHI, 2002). A concentração de PCBs nos tecidos das ostras das áreas de cultivo de LAR e BAR ( $19,6 \text{ ngg}^{-1}$  e  $7,66 \text{ ngg}^{-1}$ ) foram maiores quando comparadas com as ostras *Crassostrea rhizophorae* no estudo realizado em São José-SC ( $2,79 - 3,05 \text{ ngg}^{-1}$ ; ZANETTE, 2009), mas muito menores quando comparados

com as concentrações de PCBs no mexilhão *Perna perna* no estudo desenvolvido em Arraial do Cabo, RJ (47,7 - 141,7 ngg<sup>-1</sup>; TANIGUCHI, 2002).

A entrada de pesticidas organoclorados como os DDTs no ambiente marinho ocorre de diversas maneiras, como pelo carreamento dos compostos pelas chuvas, lençóis freáticos e rios (TANIGUCHI, 2002). O grupo dos DDTs é fortemente adsorvido aos detritos e às partículas de sedimentos existentes no fundo do mar. A acumulação do DDTs no sedimento e sua contínua reexposição na coluna de água é uma das principais fontes de contaminação da biota existente nos ecossistemas costeiros (YOUNG et al., 1977). Segundo TANIGUCHI (2002), os PCBs e DDTs apresentam o fenômeno da magnificação com concentrações crescentes primeiro nos peixes, seguida em mexilhões e, ao final nos sedimentos. As análises realizadas mostraram maior concentração de DDTs em LAR (0,28 ngg<sup>-1</sup>), está na faixa da menor concentração registrada em Macaé (0,2 - 1,6 ngg<sup>-1</sup>; TANIGUCHI, 2002), em Cananéia, SP (0,23 ngg<sup>-1</sup> - 14,42ngg<sup>-1</sup>; MATOS; WEBER, 2000) e na Baía e estuário de Santos, SP (<LDM a 17,88; MATOS; WEBER, 2000). A concentração de DDTs nos tecidos das ostras foi maior em LAR com valores de 2,86 ngg<sup>-1</sup>, sendo levemente maior quando comparada àquelas registradas nas ostras *C. gigas* em Santo Antônio de Lisboa, SC (2,03 ngg<sup>-1</sup>; FLORES-NUNES et al., 2014) e em Macaé, RJ (1,1 ngg<sup>-1</sup>; TANIGUCHI, 2002).

Os esteróis são compostos químicos que pertencem ao grupo dos álcoois. Apresentam um grupo hidroxila ligado na posição 3, o que lhes garante propriedades químicas semelhantes aos álcoois. Os compostos das classes dos esteróis e os LABs são os indicadores químicos mais citados em trabalhos relacionados com poluição fecal e efluentes domésticos (MARTINS, 2005). De acordo com González (2002), o biomarcador químico de aporte fecal mais utilizado na atualidade é o coprostanol, um metabólito do seu precursor biológico, o colesterol, produzido por microrganismos intestinais simbiotes dos seres humanos. Grimalt e colaboradores (1990) descreveram que em regiões temperadas valores de coprostanol acima de 0,10 µgg<sup>-1</sup> indicam poluição por esgoto sanitário. Neste estudo, a concentração dos esteroides totais foi maior nos sedimentos de CAM com valor igual a 4,92 µgg<sup>-1</sup>, seguida das amostras das áreas de cultivo de BAR e LAR (1,45 µgg<sup>-1</sup> e 0,84 µgg<sup>-1</sup>), respectivamente. Segundo Writer e colaboradores (1995), quando a relação coprostanol / colestanol + colesterol no sedimento for maior que 0,06 µgg<sup>-1</sup>, ela pode ser considerada como indicativo de contaminação local. Grimalt e colaboradores (1990) estabelecem que áreas poluídas

apresentam uma relação coprostanol / coprostanol + colestanol entre 0,07 e 1,0  $\mu\text{gg}^{-1}$ . Entre as áreas estudadas, a concentração do coprostanol foi maior em CAM (0,73  $\mu\text{gg}^{-1}$ ). Esta área também apresentou a maior relação coprostanol / coprostanol + colestanol (0,65  $\mu\text{gg}^{-1}$ ), resultado que, de acordo com os valores referenciados, indica contaminação por aporte de esgoto sanitário. Cabe destacar que a relação de coprostanol/ (coprostanol+colestanol) de LAR (0,14  $\mu\text{gg}^{-1}$ ) e BAR (0,22  $\mu\text{gg}^{-1}$ ), mesmo sendo inferior ao valor determinado para CAM, estão dentro da faixa referenciada como indicativo de contaminação por esgoto sanitário.

Assim sendo, estes resultados sugerem a necessidade da realização de novas análises e de um monitoramento temporal nas áreas mencionadas para dimensionar de forma mais concreta o impacto da contaminação por esgoto sanitário nas áreas de cultivo de moluscos. Em relação às concentrações de esteróis, destaca-se o copostranol importante marcador orgânico que evidencia a contaminação fecal. Comparando-se as quantidades de esteroides (em termos de copostranol) registradas nos sedimentos de LAR (0,01  $\mu\text{gg}^{-1}$ ) e BAR (0,020  $\mu\text{gg}^{-1}$ ) observa-se que estas foram levemente inferiores àquelas determinadas nos sedimentos das áreas de cultivo de moluscos de Ribeirão da Ilha e Santo Antônio de Lisboa (0,08  $\mu\text{gg}^{-1}$  e 0,054  $\mu\text{gg}^{-1}$ , SOUZA et al., 2012) em Florianópolis, SC e, bem inferiores em relação às concentrações determinadas no Rio Bucheler em São Jose, SC (2,55  $\mu\text{gg}^{-1}$ , SOUZA et al., 2012), área contaminada por esgoto sanitário. Também o valor máximo de copostranol registrado em CAM foi menor quando comparado com a registrada no sistema estuarino de Paranaguá em áreas próximas da cidade e impactadas por esgoto (2,25  $\mu\text{gg}^{-1}$ , MARTINS et al., 2010). Ademais a relação de copostranol + epicoprostanol registrada em CAM (0,80  $\mu\text{gg}^{-1}$ ), foi muito menor quando comparada com a registrada na Baía de Babitonga, SC (6,65  $\mu\text{gg}^{-1}$ ; MARTINS et al., 2014).

Os contaminantes orgânicos  $\Sigma$ HPAS,  $\Sigma$ PCBs,  $\Sigma$ LABs e esteroides (valores do copostranol) nos sedimentos evidenciam e confirmam que a Foz do Rio Camboriú (CAM) sofre impacto antropogênico marcante, em nível próximo ou mesmo superior ao de outras cidades balneárias e portuárias das grandes capitais brasileiras, as quais exibem altos níveis de urbanização e desenvolvimentos decorrentes de atividades produtivas e turísticas, e que experimentam ainda problemas com a gestão do esgoto sanitário e com a contaminação aquática nos seus diferentes ambientes costeiros e marinhos. Cabe ressaltar que a área de cultivo de moluscos de BAR encontra-se bastante

próxima à Foz do Rio Camboriú (CAM), possibilitando relacionar sua vulnerabilidade potencial como decorrente, em parte, de sua localização geográfica, a qual se associa em um percurso de entrada e saída da enseada de Balneário Camboriú para embarcações pesqueiras, esportivas e turísticas. Nos tecidos das ostras expostas, as maiores concentrações de PCBs, DDTs, HPAs e LABs foram registradas nas ostras de LAR, indicando a necessidade de se estabelecer mais atividades de monitoramento na área de cultivo e seu entorno aquático e terrestre, analisando as fontes potenciais de descarga dos contaminantes orgânicos no corpo aquático, caracterizando melhor os problemas relativos ao constante afluxo de pessoas, associado à balneabilidade, ao turismo recreativo, ao crescimento comercial e do turismo gastronômico na região, dimensionando um sistema de tratamento de esgoto sanitário, bem como outras opções que permitam manter as condições necessárias para assegurar a preservação das riquezas e belezas naturais e garantir que a produção de moluscos bivalves, como fonte de alimentos marinhos, tenha qualidade dentro das normas de segurança de alimentos.

### **7.3 Níveis de Transcritos dos Genes**

Nos ecossistemas costeiros com elevados níveis de contaminantes orgânicos e inorgânicos, os organismos aquáticos estão sujeitos ao impacto trazido pela presença de diferentes xenobióticos que podem afetar funções biológicas e vias metabólicas celulares por meio do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como resultado da ativação do sistema de proteção celular antioxidante que evita e reduz os efeitos do processo de metabolização dos referidos compostos. Nesse sentido, são cada vez mais estabelecidas as evidências que indicam que a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), estimuladas por contaminantes e pelo dano oxidativo resultante, representa um mecanismo decorrente de toxicidade observado em organismos aquáticos expostos à contaminação (LIVINGSTONE, 2001).

As EROs são produtos decorrentes do metabolismo normal e da exposição a xenobióticos, podendo ser benéficas ou prejudiciais para as células e tecidos. Em níveis fisiológicos, as EROs funcionam como "mensageiros redox" na sinalização intracelular e regulação, enquanto o seu excesso induz a modificação oxidativa de macromoléculas celulares, inibem a função das proteínas e, promovem a morte celular (CIRCU; AW, 2010). Assim, o reconhecimento de que as reações envolvendo radicais livres são importantes tanto em processos biológicos normais,

bem como em mecanismos de toxicidade induzidos por contaminantes, tem levado à aplicação crescente do uso de biomarcadores de estresse oxidativo em vários organismos aquáticos (LIVINGSTONE, 2001). O estresse oxidativo pode ter lugar em bivalves marinhos, sob uma série de condições ambientais adversas (ALMEIDA et al., 2005). De acordo com Lushchak e Semchyshyn (2012), o estresse oxidativo é um aumento transitório ou crônico em nível de estado estacionário de EROs, trazendo perturbações que podem afetar o núcleo celular e vários processos metabólicos, levando à modificação oxidativa de constituintes celulares, até os finais efeitos deletérios de sinalização. Os organismos desenvolveram estratégias diferentes para lidar com as consequências negativas de EROS, como aquela envolvendo a ação de um grupo de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa-peroxidase (GPx), glutationa-S-transferase (GST), glutationa-redutase (GR), e moléculas antioxidantes de natureza não enzimáticas (RAMESHTHANGAM; RAMASAMY, 2006). A SOD é a enzima responsável pela formação de peróxido de hidrogênio  $H_2O_2$ , a partir da remoção do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) (REGOLI; GIULIANI, 2014). Existem três tipos principais de SOD, um contendo cobre e zinco (CuZnSOD), um contendo manganês (MnSOD) e outro contendo ferro (FeSOD) (HALLIWELL & GUTTERIDGE 2007). Em eucariotos, as CuZnSODs são encontradas no citosol, lisossomos, peroxissomos, núcleo e espaço intermembrana mitocondrial, enquanto a MnSOD, também denominada de SOD-2, encontra-se no interior da mitocôndria (HERMES-LIMA 2004).

As catalases catalisam a decomposição direta do  $H_2O_2$  a  $O_2$ , enquanto as peroxidases removem o  $H_2O_2$  ao oxidar substratos orgânicos, havendo, em ambos os casos, a formação de  $H_2O$  (HALLIWELL & GUTTERIDGE 2007). Segundo Gonzalez-Fernandez e colaboradores (2015), a SOD tem que realizar a coordenação com outras enzimas, tais como a CAT, que é um catalisador extremamente ativo para redução de  $H_2O_2$  em  $H_2O$ , particularmente em situações nas quais os níveis do primeiro são elevados. No entanto, em níveis baixos de  $H_2O_2$ , a CAT modula a desintoxicação de outras substâncias, tais como fenóis e álcoois por meio de reações acopladas para a redução de  $H_2O_2$ . A GPx também utiliza  $H_2O_2$  como substrato, empregando glutationa reduzida (GSH) como doador de elétrons para catalisar a redução de  $H_2O_2$  em  $H_2O$ . GR é considerada como uma enzima antioxidante essencial, uma vez que reduz a glutationa oxidada (GSSG) e mantém o equilíbrio de GSSG / GSH, o que é essencial para a

homeostase celular e o funcionamento de outras enzimas (GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 2015).

No presente estudo, a transcrição dos genes do sistema antioxidante nas brânquias de *Crassostrea gasar* evidenciou maiores níveis de transcritos dos genes SOD e GPx nas amostras de MAR, com diferença significativa. O nível de transcritos do gene CAT foi ligeiramente superior em termos comparativos, mas permaneceu próximo ao número detectado nos demais grupos, não sendo observada diferença estatística. Estes resultados indicam a rápida resposta da SOD como primeira linha de defesa do sistema antioxidante, aliada à atividade da GPx, nas ostras expostas à água proveniente de MAR. De modo geral, confirma-se a funcionalidade dos genes SOD e GPx como parte ativa do mecanismo de defesa antioxidante frente a geração de EROs no metabolismo celular das ostras *Crassostrea gasar*. Assim, a indução da SOD é indicativa de estresse oxidativo gerado por EROS nas ostras, representando uma estratégia para compensar os danos em nível celular. Alguns autores sugerem que esta resposta de indução da transcrição de genes associados à resposta de defesa antioxidante pode contribuir, em casos extremos, para aumentar a resistência à mortalidade (GARCIA-LAGUNAS et al., 2013). De acordo com Lüchmann e colaboradores (2011), ditas alterações podem representar uma importante adaptação ao estresse oxidativo pelos contaminantes presentes no local. Cabe salientar que o nível de transcritos da SOD apresentou-se próximo ao nível detectado em BAR, mas não tendo sido este perfil sido semelhante em relação aos transcritos das demais enzimas neste grupo de ostras. Segundo ALMEIDA (2003), a inibição enzimática pode estar relacionada com compostos inibidores ou em função de ambientes muito contaminados, onde a defesa enzimática entra em desequilíbrio, causando danos ao organismo. Lüchmann e colaboradores (2011) evidenciaram que as enzimas CAT e GPx não apresentaram diferenças significativas e a atividade do SOD foi reduzida em tecidos das brânquias e glândula digestiva da ostra *C. gasar* expostas à fração de óleo diesel. Nossos resultados mostram que o gene CAT não exibiu diferenças significativas em nível de transcritos entre os grupos de ostras, sendo diferentes aos resultados de ZACCHI (2013) e BITTENCOURT (2013) que registraram maiores níveis de transcrição em brânquias de *C. gasar* expostas em ambientes naturais e de cultivo de moluscos, e em ambientes naturais com impacto de esgoto sanitário, respectivamente. Ademais, neste estudo os genes *Superóxido dismutase (SOD-like)* e *Glutathione peroxidase (GPx-like)*, apresentaram maiores níveis de transcritos com diferença significativa em MAR, enquanto, no

caso dos resultados de ZACCHI (2013) e BITTENCOURT (2013), os genes mencionados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Zanette e colaboradores (2006) já evidenciavam que a atividade da CAT em *C. gigas* e *C. rhizophorae* responde diferentemente quando animais de ambas as espécies são expostos em um mesmo experimento de campo a efluentes contendo esgoto doméstico. Conseqüentemente, os autores sugeriram que possíveis diferenças na sua regulação e/ou atividade catalítica possam existir. Também se verificou a menor expressão gênica de CAT em glândula digestiva de *C. gigas* em ambientes poluídos em Florianópolis (SOUZA et al. 2012). De acordo como Béguel e colaboradores (2013), as transcrições dos genes do sistema antioxidante que codificam a SOD e GPX podem também estar relacionadas com a ativação do sistema antioxidante em brânquias de ostras com alto investimento reprodutivo. A GPx catalisa a oxidação da glutatona, permitindo a redução do peróxido de hidrogênio para H<sub>2</sub>O, e pode proteger as células por uma ação de eliminação de EROS (BÉGUEL et al., 2013). O nível de transcrição do GPx pode ser ativado ainda após exposição a metais, como o cádmio e mudanças na salinidade (JO et al., 2008; CHOI et al., 2008). A CAT é efetiva quando a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é relativamente alta, sendo, portanto, considerada indispensável para a metabolização de EROS, principalmente em condições de estresse severo, enquanto a GPx é mais útil frente às pequenas quantidades de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, produzido continuamente por atividades metabólicas celulares (PAMPLONA; COSTANTINI, 2011).

As enzimas antioxidantes geralmente respondem menos a poluentes que as enzimas de fase I e II, e as relações entre a resposta e a exposição a contaminantes ainda não estão bem estabelecidas laboratório (VAN DER OOST et al., 2003). Contudo uma significativa indução de SOD e CAT foi observada na maioria dos ensaios de campo, contrastando com a ausência de respostas significativas na maioria dos estudos em laboratório (VAN DER OOST et al., 2003). Apesar de seu potencial deletério, as EROs estão envolvidas em funções fisiológicas fundamentais às células e ao próprio organismo (incluindo mecanismos de defesa celular), tornando a vida inviável na sua ausência. Por isso, o equilíbrio entre a formação das EROs e a atividade do sistema antioxidante é fundamental (SILVA; GONÇALVEZ, 2010). A variabilidade das respostas transcricionais e catalíticas pode refletir o intervalo temporal da análise das mesmas e ser grandemente influenciadas pelo tecido investigado. A capacidade de resposta em nível de genes antioxidantes pode ser elevada em diferentes tecidos,

como o fígado (ou glândula digestiva) e brânquias de peixes e invertebrados marinhos (REGOLI; GIULIANI, 2014).

A ativação do sistema de biotransformação de fase I e II é uma resposta comum em animais expostos a HPA, pesticidas e compostos emergentes a fim de permitir a biotransformação e excreção desses compostos (TREVISAN, 2014). Estas respostas podem ser quantificadas em nível bioquímico e/ou molecular, como atividade catalítica de enzimas, expressão de proteínas, ou transcrição gênica (KAMMANN et al., 2008). A superfamília do gene CYP consiste de um grande número de genes que codificam os citocromos P450, os quais estão envolvidos na detoxicação ou biotransformação oxidativa de xenobióticos, tais como fármacos, químicos carcinogênicos, e poluentes ambientais, bem como no metabolismo de compostos endógenos, como hormônios esteroides, ácidos graxos, vitaminas e sais biliares (NEBERT et al., 2004). De acordo com Rewitz e colaboradores (2006), os CYPs são considerados uma das maiores e mais versáteis famílias de proteínas pertencentes ao metabolismo de fase I de uma variedade de xenobióticos. As famílias CYP1 e CYP2 metabolizam uma ampla variedade de compostos, incluindo derivados de petróleo (ARUKWE et al., 2008). Lüchmann e colaboradores (2015), no estudo pioneiro do transcriptoma da *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*), identificaram 43 CYP450-*contigs* envolvidos na Fase I da biotransformação de xenobióticos, sendo a família CYP2 aquela com mais genes identificados. Nesse contexto, os autores validaram a utilização molecular dos genes da família CYP2 e da isoforma CYP2AU1 como biomarcador, a partir da avaliação dos níveis de transcritos desses genes em brânquias da ostra *Crassostrea gasar* expostas ao fenantreno em concentrações de  $100 \mu\text{gL}^{-1}$  e  $1000\mu\text{gL}^{-1}$  por 24 horas. No presente estudo, o gene CYP2AU1 não mostrou diferenças significativas em relação ao nível de seus transcritos entre os grupos de ostras expostas à água do mar proveniente dos locais selecionados em Balneário Camboriú. No entanto, cabe salientar que o grupo MAR exibiu níveis de transcritos superior aos demais grupos. Os resultados apresentados por ZACCHI (2013) no estudo com brânquias de ostras *C. gasar* expostas em ambiente natural e de cultivo de moluscos, mostram perfil coincidente ao aqui relatado. Por outro lado, a análise de transcritos para esse mesmo gene mostrou resultados diferentes no estudo de BITTENCOURT (2013), no qual foi observado níveis de transcrição significativamente maiores em diferentes períodos de exposição *in situ* (24 e 96 h) em um manguezal com impacto de esgoto sanitário (manguezal do Itacorubi), em Florianópolis, SC. Rewitz e

colaboradores (2006) sugerem que mudanças no ambiente e diferentes estratégias de sobrevivência podem contribuir para a diversidade funcional de genes *CYP* frente a uma variedade de xenobióticos. Sob a ótica quantitativa, a maior transcrição de *CYP2AU1* foi registrada em MAR comparativamente com os demais grupos, refletindo as condições ambientais do referido local. Lüchmann e colaboradores (2014), também verificaram maiores níveis de transcrição do gene *CYP356A1* em brânquias de *C. gasar* expostas ao fenantreno e, de modo conjunto com o *CYP2*, ambos *CYPs* foram recomendados como candidatos a biomarcadores de biotransformação para HPAs em moluscos bivalves.

Entretanto, Medeiros e colaboradores (2008) e Toledo-Silva e colaboradores (2008) apresentaram registros de altos níveis de transcrição do gene *CYP356A1* em brânquias de ostras *C. gigas* expostas em laboratório a esgoto sanitário e em ambientes impactados por esgoto sanitário, respectivamente. Flores-Nunes e colaboradores (2015) também reportaram maiores níveis de transcrição do gene *CYP356A1* em brânquias de *C. gigas* expostas a Alquilbenzenos Lineares (LABs) em laboratório. Assim, GOMES (2013) avaliou as isoformas *CYP356A2*, *CYP2AU2*, *CYP30C1*, em diferentes tecidos de ostras *C. gigas* expostas em ambientes contaminados por esgoto sanitário em diferentes períodos e registrou aumento na transcrição dos genes. No mesmo estudo, os genes *CYP2AU2*, *CYP30C1* foram indicados para utilização como biomarcadores de exposição. Assim, Serrano e colaboradores (2015) verificaram altos níveis de transcrição dos genes *CYP2AU2*, *CYP356A1*, *CYP3071A1* em brânquias de ostras *C. gigas* após serem expostas ao composto farmacêutico, Ibuprofeno. Os diferentes resultados das transcrições apresentadas pelos genes *CYP450* e, em particular os genes *CYP2AU2* em *C. gigas* e o *CYP2AU1* *C. gasar* expostas em diferentes condições, seja exposição *in situ*, condições controladas em laboratório ou exposição conjunta nas duas formas em paralelo, confirma-se a sua utilidade como biomarcadores de contaminação aquática em moluscos bivalves. Nesse contexto, existe a necessidade crucial para ampliar o estudo de *CYPs* em bivalves (ZANETTE et al., 2010). No estudo recente de Lüchmann e colaboradores (2015), foram também registradas as transcrições dos genes *CYP1A*, *CYP2C* e *CYP2D* em tecidos de ostras *C. gasar* (= *C. brasiliiana*) expostas à fração de óleo diesel; gene *CYP17* após exposição a esgoto sanitário e gene *CYP3A* após exposição ao fenantreno, sendo estes genes indicados como candidatos a biomarcadores.

As Glutathione-S-transferases (GSTs) são enzimas de fase II do processo de biotransformação e facilitam a detoxificação de xenobióticos e desempenham importante papel na defesa antioxidante (LI;WU;WANG, 2015). A avaliação da atividade e dos níveis de transcrição da GST total e suas isoformas têm sido adotados em moluscos bivalves como um biomarcador de exposição a HPAs, PCBs, dioxinas e esgoto sanitário (VAN DER OOST et al., 2003; BOUTET et al., 2004; MEDEIROS et al., 2008; TOLEDO-SILVA et al., 2008; FLORES-NUNES, 2013; BITTENCOURT, 2013; LÜCHMAN et al., 2014;2015). As Glutathione S-transferases (GSTs) ômega são uma classe recém-identificada de isoformas de GST com propriedades únicas em relação aos outros membros da superfamília GST (WAN et al., 2009). As GSTs da classe ômega são encontradas em plantas, animais e algumas espécies microbianas (BOARD, 2011) e tem uma extensão N-terminal única, e estudos cristalográficos de sua estrutura revelaram em seu sítio ativo a presença de um resíduo de cisteína distinto dos resíduos de tirosina e serina característicos das outras GSTs de eucariontes (BOARD et al.,2000). De acordo com BOARD (2011), essa característica permite as GSTs de classe ômega catalisar e reduzir reações de tiol que não são catalisadas por membros das outras classes, desempenhando um papel fundamental no sistema de defesa antioxidante (RHEE et al., 2007; WAN et al., 2009).

No caso das GSTs, Lüchmann e colaboradores (2015), identificaram no transcriptoma da ostra *C. gasar* (= *C. brasiliiana*) um total de 26 *contigs* de GSTs, dos quais 20 foram-atribuídos a 7 classes de GST-citosólicas e 6 a três classes de GST-microsossomais, genes envolvidos na fase II de biotransformação de xenobióticos. Assim, Lüchmann e colaboradores (2014;2015) reportaram e validaram a utilização do gene GST-ômega como biomarcador, a partir do aumento dos seus níveis de transcrição em brânquias de ostras de *C. gasar* expostas ao fenantreno por um período de 24 horas, ressaltando a importância da brânquia no mecanismo de detoxificação de HPAs. Nossos resultados relativos aos níveis de transcritos gênicos da *Glutathione-S-transferase ômega-like* (GST-ômega) em brânquias de *C. gasar* não registrou diferenças significativas entre os grupos. Foi evidenciado, por outro lado, maiores níveis de transcritos em CAM, seguido por MAR, quando comparados com as transcrições de BAR e LAR. Tendo por referência que os tecidos das ostras expostas às águas de LAR mostraram, comparativamente, um dos maiores níveis de acumulação de HPAs, PCBs, DDTs e LABs, estes resultados não mostraram paralelo com a transcrição do gene GST. Possivelmente, os

níveis encontrados para estes compostos e a ação das GSTs na fase II de detoxicação ser precedido das respostas da fase I podem explicar parcialmente os resultados. ZACCHI (2013) reportou a ausência de diferença significativa entre os níveis de transcritos do gene *GST-ômega-like* na mesma espécie de ostra e no mesmo tecido alvo; evidenciando, ainda, maiores níveis de transcritos do gene *GST microsomal-like*, ao comparar ostras expostas no ambiente natural com ostras mantidas em áreas de cultivo de moluscos. Em outro estudo, por outro lado, BITTENCOURT (2013) registrou altos níveis de transcritos do gene *GST-ômega-like* em brânquias de *C. gasar* transplantadas para uma área de mangue impactada por esgoto sanitário (no período pré e pós-verão), bem como a inibição do gene *GST microsomal-like*, após exposição por 24 e 96 horas. Os resultados evidenciam que fatores ambientais podem possivelmente modular a transcrição do *GST-ômega-like* em ostras, podendo ocorrer, aparentemente, sua indução em ambientes potencialmente mais contaminados ou impactados, como por exemplo, por esgoto sanitário.

Nesse contexto, Boutet e colaboradores (2004) também evidenciaram transcrição diferencial do gene *GST-ômega-like* em brânquias de ostras *C. gigas* expostas a HPA. Na mesma linha, podemos citar a transcrição do mesmo gene em brânquias de ostras de *C. gigas* expostas a esgoto não-tratado, em condições de laboratório e em ambientes contaminados (MEDEIROS et al., 2008; TOLEDO et al., 2008; FLORES-NUNES et al., 2014) e, ainda, ao composto farmacêutico Ibuprofeno (SERRANO et al., 2015). Wan e colaboradores (2009) caracterizaram uma *GST-ômega-like* em brânquias de abalones expostos a metais traço, concluindo que a ela pode ser atribuído um papel de proteção ao estresse ambiental, indicando sua utilização como biomarcador com essa finalidade nessa espécie de molusco.

Um importante via metabólica que também integra a detoxificação e eliminação de xenobióticos na Fase II é a sulfatação. A sulfatação de compostos de baixo peso molecular, tais como hidroxiesteroides, estrogênios, e catecolaminas, é catalisada por enzimas sulfotransferases citosólicas pertencentes à superfamília, cujos membros são codificados por genes designados como *SULT* (WEINSHILBOUM et al., 1997). A conjugação de sulfatos pelas enzimas sulfotransferases facilita a excreção de produtos oriundos do processo de detoxicação celular, facilitando e aumentando sua excreção das células após serem convertidos em metabólitos mais polares (WEINSHILBOUM et al., 1997; JAMES, 2011; FERNANDES et al., 2013). As *SULTs* são componentes chaves da fase II de metabolismo de compostos endógenos

e exógenos (LÜCHMANN et al., 2015). Entre tanto, Lavado e colaboradores (2006) avaliaram a sulfatação de estradiol em gônadas e glândula digestiva no mexilhão *Mytilus edulis* e Janer e colaboradores (2005) evidenciaram que frações citosólicas da glândula digestiva de *Mytilus galloprovincialis* podem formar sulfatos de estradiol. Lüchmann e colaboradores (2015) identificaram sete *SULTs-contigs* em brânquias e glândula digestiva de *Crassostrea gasar* expostas ao fenantreno, óleo diesel e esgoto sanitário. Em dito estudo, foi identificado o gene putativo *SULTIC4*, gene que teve sua transcrição regulada pelo fenantreno. No mesmo estudo, foi sugerida pelos autores a participação das *SULTs* no metabolismo endócrino e de detoxificação em ostras *C. gasar*. No presente estudo, não foi observada diferença significativa nos níveis de transcritos de *Sulfotransferase1C1-like (SULTIC1-like)* entre os grupos, porém os níveis de transcritos em CAM mostraram-se superiores em relação aos demais grupos. Esta observação pode ser interpretada como resultante do grau de impacto deste local comparativamente aos demais. ZACCHI (2013) ao avaliar também esta mesma resposta em brânquias de ostras *C. gasar* expostas em ambiente natural e em cultivo de moluscos distintos não observou diferenças significativas. Estudo de Chapman e colaboradores (2004) evidenciaram, por outro lado, a inibição de *SULT-1C1* pelo composto benzo[a]pireno. Entretanto, BITTENCOURT (2013) evidenciou altos níveis de transcritos de *SULTIC1* em ostras *C. gasar* expostas em um manguezal com impacto de esgoto sanitário.

O gene *ALAD* codifica a enzima ácido  $\delta$ -aminolevulinícodesidratase (ALA-D) (MEDEIROS et al., 2008; MOREIRA, 2010). A reação catalisada pela  $\delta$ -ALA-D faz parte da rota biosintética dos compostos tetrapirólicos (corinas, bilinas, clorofilas e hemes). A grande importância destes compostos reside na sua função como grupos prostéticos de diversas proteínas que fazem parte de vias metabólicas chave. O grupo heme (protoporfirina IX) integra a estrutura de proteínas que participam do transporte de oxigênio (hemoglobina e mioglobina), transporte de elétrons (citocromos a, b e c), biotransformação de xenobióticos (citocromo P450) e dos sistemas de proteção contra peróxidos (catalases e peroxidases) (JAFFE et al., 1995; FOLMER et al., 2004). Ademais participa na regulação da expressão de vários genes em células eucariontes (FUJIWARA et al., 2006). Segundo Folmer e colaboradores (2004), a  $\delta$ -ALA-D está relacionada a situações associadas ao estresse oxidativo. A atividade da ALAD é considerada como um biomarcador específico e útil de contaminação por chumbo (Pb) (AISEMBERG et al., 2005) dado que este metal inibe a atividade

da enzima (COMPANY et al., 2008). Segundo Martinez e colaboradores (2011), embora o chumbo promova o aumento da atividade antioxidante do sistema celular quando presente em níveis baixos, quando em altas concentrações inibe a atividade das enzimas que metabolizam  $H_2O_2$ , como CAT, GPx e de Prx, conduzindo a um aumento de  $H_2O_2$  e favorecendo a sua conversão a  $OH^\cdot$  pela reação de Fenton. Além disso, o efeito inibidor dos níveis elevados de Pb sobre a ALAD, GR e subtipos de SOD favorece, de forma geral, o aumento de radicais livres, que esgota o *pool* de GSH e impede a remoção de  $O_2^{\cdot-}$ . Por conseguinte, o aumento resultante de ROS pode induzir danos em vários níveis. O efeito descrito pode ser reforçado pela capacidade do Pb em alterar a integridade da membrana plasmática, o que torna a célula mais suscetível ao estresse oxidativo.

Estudos de Company e colaboradores (2011) no Golfo de Cádiz indicaram que o mexilhão *M. galloprovincialis* e a amêijoia *C. gallina* são as espécies bioindicadoras mais adequadas para avaliar a ecotoxicidade do Pb, através das respostas envolvendo a atividade da ALAD em estuários e/ou ambientes costeiros. Em virtude de seus hábitos, mexilhões são mais representativos de substratos rochosos e construções artificiais (portos, construções marinhas, etc.) enquanto mariscos são representativas de substratos arenosos (praias, etc.). Cravo e colaboradores (2009), utilizaram moluscos amêijoas, *Ruditapes decussatus*, como organismo bioindicador e a ALAD como um dos biomarcadores alvo, evidenciando respostas mais marcantes em altas concentrações de Cd, Cu, Pb, e HPAs de quatro anéis. No mesmo estudo, diferenças em outros pontos de referência foram relacionadas a respostas mais baixas, apesar de concentrações médias mais altas de Zn, TBTs, HPAs totais (principalmente 5 + 6 anéis). Nossos resultados mostraram níveis de transcritos de *ALAD-like* significativamente maiores em CAM em comparação com os demais grupos. Este resultado guarda semelhança com os reportados por ZACCHI (2013) que registrou nível maior de transcrição deste gene em tecidos de ostras mantidas em áreas de cultivo quando comparado com aquele de ostras expostas no ambiente costeiro. Por outro lado, BITTENCOURT (2013) evidenciou baixos níveis de transcrição do gene ALAD em *C. brasiliiana*, principalmente após 96 horas de exposição *in situ* em ambientes com aporte de esgoto sanitário. Este resultado pode ser relacionado aos dados encontrados em MAR em nosso estudo, cujos níveis de transcritos apresentaram uma diminuição significativa em comparação com os demais grupos, indicando a provável *down-regulation* deste gene neste grupo de ostras.

As proteínas ligantes de ácidos graxos (FABPs) estão presentes em tecidos altamente ativos no metabolismo de ácidos graxos, participando na absorção e transporte de lipídios, na homeostase global de lipídios, ligando-se a ácidos graxos de cadeia longa e direcionando-os para vias metabólicas específicas, na regulação da expressão gênica e têm demonstrado um papel significativo no sistema imune celular (YAQOUB, 2003; OWADA, 2008; SCHROEDER et al., 2008; WOOD et al., 2009; BAYIR; BAYIR; WRIGHT, 2015). Várias FABPs são expressas em níveis significativos em células imunitárias ativas (SCHACHTRUP et al., 2004). Segundo Markov e Laude (2011), as FABPs também interagem com os ligantes dos receptores nucleares. Os receptores nucleares permitem a regulação de genes alvo por pequenas moléculas lipofílicas, tais como hormonas, (esteroides), ácido retinóico ou ácidos graxos. O ácido retinóico, retinol, ácidos graxos, eicosanóides, ácidos biliares e heme estão todos ligados por proteínas da família FABP (ZIMMERMAN; VEERKAMP, 2002). Diferentes estudos realizados pelo grupo de pesquisa do LABCAL/UFSC descrevem a utilização do biomarcador FABP em moluscos bivalves principalmente em *C. gigas* e *C. gasar*, expostas a diferentes compostos em condições de laboratório, em ambientes naturais prístinos e ambientes com impacto antropogênico. Entre os estudos realizados, um deles reportou, inicialmente, alterações na transcrição genica do gene *FABP* em brânquias de ostras *C. gigas* quando as mesmas foram expostas a esgoto doméstico não tratado, diluído em água do mar (MEDEIROS et al., 2008). Outros estudos analisaram a transcrição deste mesmo gene em ostras expostas *in situ* em ambientes contaminados por esgoto sanitário (TOLEDO-SILVA et al., 2008), expostas ao composto farmacêutico anti-inflamatório Ibuprofeno (SERRANO et al., 2015) e expostas a alquilbenzenos lineares (LABs) (FLORES-NUNES et al., 2015).

Entretanto, o estudo de ZACCHI (2013) com brânquias de ostras *C. gasar* evidenciou menor nível de transcrição do *FABP* quando as mesmas foram expostas em áreas de cultivo de moluscos e ambientes naturais, enquanto BITTENCOURT (2013) detectou elevados níveis de transcrição do mesmo gene em ostras da mesma espécie expostas em ambiente contaminado por esgoto sanitário. Em nosso estudo, os níveis de transcritos deste mesmo gene (*FABP*) em brânquias de ostras *C. gasar* mostraram-se bem mais elevados em MAR, apresentando diferença significativa em relação aos demais grupos. De acordo com os resultados de qualidade de água, os níveis de fósforo e de coliformes estão relacionados ao impacto em MAR, decorrente de esgoto sanitário. Assim, nossos resultados estão em consonância com aqueles referentes

aos estudos mencionados acima, ou seja, uma resposta de indução (*up-regulation*) do *FABP* em ostras *C. gasar* expostas a esgoto sanitário *in situ* e em laboratório. A resposta gênica do *FABP* coincide com os maiores níveis de transcritos registrados para os genes *SOD* e *GPx* em MAR, atuando como primeira linha de defesa antioxidante. A resposta ao estresse celular tem um custo energético, o que se reflete na expressão diferencial de vários genes associados com o metabolismo geral e energético (TRAVERS et al., 2010). De acordo com Medeiros (2008), a indução de *FABP* nas ostras *C. gigas* expostas ao esgoto podem estar relacionadas tanto à absorção e ao metabolismo de xenobióticos diretamente, como a uma maior demanda energética do metabolismo, devido à situação de estresse químico enfrentado. Levando-se em consideração que a *FABP* é uma proteína citosólicas envolvida na absorção, transporte e compartimentalização de ácidos graxos (DHAR et al., 2003), a indução do gene que a codifica pode ser estimulada sob uma variedade de circunstâncias, em que o lipídeo é mobilizado para fornecer o combustível metabólico necessário (TRAVERS et al., 2010). Flores-Nunes (2013) sugere que as respostas moleculares dos genes *FABP* e *GST-ômega* em tecidos de ostras *C. gigas* expostas ao esgoto sanitário podem estar relacionadas a uma possível resposta protetora e do sistema de manutenção da homeostase das ostras. No entanto, o conhecimento sobre os papéis fisiológicos das *FABPs* em invertebrados permanece ainda limitado e, em particular os aspectos relacionados com o sistema imune são em grande parte desconhecidos (TAN et al., 2015).

A resposta ao estresse desencadeia a ativação dos genes envolvidos na sobrevivência celular e/ou morte celular. Como parte da resposta, um conjunto de genes, denominados de genes do estresse é induzido para sintetizar um grupo de proteínas conhecidas como proteínas de choque térmico (HSPs) (GUPTA et al., 2010). A classificação das HSPs é dada em função de seu peso molecular, podendo variar entre 15 e 110 kDa (SONG et al., 2006). De acordo com Gupta e colaboradores (2010), os diferentes agentes estressores podem induzir caminhos de resposta de estresse, através de genes alvo específicos. Assim, os genes *HSP70*, *HSP90*, *HSP60*, *HSP26*, *HSP27* e *HSP23* têm como os seus indutores químicos, pesticidas, metais pesados, solventes, efluentes industriais e municipais, mono e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, entre outros. Entre as HSPs, a *HSP70* é uma das induzidas mais abundantemente sob uma variedade de condições de estresse, como exposições a altas temperaturas e tem tido sua relevância fisiológica e importância ecológica em resposta à

infecção de patógenos e estressores ambientais demonstrada (LACHAPELLE et al., 2007; WANG; YANG; SONG, 2013). Cellura e colaboradores (2006) evidenciaram uma alta expressão da HSP70 no mexilhão *M. galloprovincialis* em exposições a temperaturas de 30°C por períodos de 30-90 minutos. Entretanto, aumento na expressão de HSPs também parece estar relacionado com o sistema imune; isto evidenciado por Cellura e colaboradores (2006) que registraram um incremento da expressão da HSP70 no mexilhão *M. galloprovincialis*, após exposição ao *Vibrio anguillarum*. Um estudo de Song e colaboradores (2006) encontrou proteínas com características semelhantes às da HSP70 na vieira *Argopecten irradians*, as quais denominaram AIHSP70, apresentando as mesmas respostas significativas, após o aumento da concentração de naftalina, indicando que a AIHSP70 poderia desempenhar um papel importante na mediação da tensão ambiental e resposta imune nesta espécie de vieira.

Farcy e colaboradores (2007), em um estudo com abalones, verificaram o incremento da transcrição gênica de *HSP70* e *HSP90* depois de efetuado um choque térmico. Encomio e Chu (2007) relataram maior expressão de HSP70 em ostras *C. virginica* infectada por *Perkinsus marinus*, enquanto, na mesma espécie de ostra, Chapman e colaboradores (2011) registraram respostas do *HSP70* quando se incrementou a temperatura e se diminuiu o pH. Zhang e colaboradores (2012) evidenciaram por sequência genômica em *C. gigas* um total de 88 membros da família HSP70, os quais desempenham um papel crucial na proteção celular contra o calor e outros agentes estressores. Metzger e colaboradores (2012), descreveram níveis elevados de expressão de *HSP70* em brânquias de ostras *C. gigas* expostas ao cobre (33 mg/L), resultados semelhantes apresentados por Boutet e colaboradores (2003). Trabalhando com esta mesma espécie de ostra foram registradas alterações na expressão de *HSP70* em condições de hipóxia (CHO; JEONG, 2012). Zhang e colaboradores (2015) descreveram alterações significativas dos níveis de HSPs em brânquias de *C. gigas* após um choque térmico a uma temperatura de 38°C por uma hora, gerando ainda a produção de S-adenosil-L-metionina, relacionado com as suas funções de proteção contra a desnaturação de proteínas. Ademais, este estresse por choque térmico, também ativou respostas imunes. De acordo com Valenzuela e colaboradores (2015), em algumas espécies, variações na sequência que codifica a HSP70 podem fornecer como resultado uma transcrição/expressão diferencial intraespecífica, o que leva a variações na termotolerância entre os indivíduos. Foi registrada ainda a expressão de HSP70 em hemócitos de ostras *C. gigas*, expostas ao dinoflagelado

*Alexandrium minutum* e sua toxina, a saxitoxina (STX) (MELLO et al, 2013). Flores-Nunes (2013) evidenciou mudanças nas transcrições de *HSP70* em brânquias de ostras *C. gigas* expostas a LABs e ao esgoto sanitário, sugerindo que tais alterações pudessem estar relacionadas com o estresse geral causado pela interação dos LABs com regiões hidrofóbicas das proteínas, possivelmente pela disponibilidade do contaminante no ambiente celular.

Na pesquisa de Lüchmann e colaboradores (2011) foi avaliada a transcrição do *HSP60* nas brânquias de ostras *Crassostrea gasar* (= *C. brasiliana*) expostas por 96 horas a diferentes concentrações de fração de óleo diesel acomodada em água (FAA), sendo os resultados obtidos o inverso daqueles registrados para o *HSP90*. Lüchmann e colaboradores (2015), no transcriptoma de *Crassostrea gasar*, identificaram 53 *contigs* atribuídos à família *HSP70*, entre eles aqueles correspondentes a *HSP70*, *HSC71*, *HSP70 B2*, *HSP70 mt*, *GRP7*, *68kDa*, *HSP70-12*, com 12 genes e, *HSP70-12B* com 8 genes. Assim registraram-se alterações nos níveis de transcritos dos genes identificados como pertencentes à família *HSP70* frente à exposição ao óleo diesel, fenantreno e esgoto doméstico. No estudo, foram registrados maiores níveis de transcritos do *HSP70* em brânquias de ostra de *C. gasar* nas amostras de CAM, tendo os mesmos apresentado diferença estatística na comparação com os demais pontos de amostragem de água do mar. A transcrição de *HSP70* registrada foi semelhante aos resultados de BITTENCOURT (2013), que registrou altos níveis de transcritos de *HSP70* em ostras expostas em ambiente (manguezal) impactado por esgoto sanitário em 24h e 96h, em duas épocas do ano diferentes. As transcrições do gene *HSP70* em CAM podem estar relacionadas às concentrações de contaminantes orgânicos específicos bioacumulados nos tecidos das brânquias *C. gasar* que poderiam ter induzido o *HSP70*. Os níveis de transcritos em BAR, menores, não mostraram, aparentemente, diferença estatística com os demais grupos, mas deve ser observado o alto grau aparente de variabilidade entre os indivíduos deste grupo. Dado que as outras amostras apresentaram maiores níveis de contaminantes e não apresentaram indução deste mesmo gene, isto poderia estar relacionado ao tempo de exposição, indicando ainda a necessidade de que mais estudos sejam realizados, visando trazer informações complementares quanto às relações dos contaminantes orgânicos específicos e a transcrição dos *HSP70* como biomarcador de estresse ambiental, de choque térmico e/ou como parte integrada ao sistema imune das ostras. Assim, os resultados apresentados descrevem a importância do gene que codifica a *HSP70* como biomarcador em tecidos de ostras *C. gasar*

expostas em ambientes com impacto do esgoto sanitário e reafirmam sua utilidade como biomarcador molecular de contaminação aquática. De acordo com Clark e Peck (2009), a grande flexibilidade do gene *HSP70* significa que o mesmo pode ser usado como um biomarcador ambiental, assim como muitos membros desta família devem ser estudados sob uma série de condições agudas e crônicas em diferentes escalas de tempo. Este requisito não é específico para a família de *HSP70*, preconizando-se, ainda, que, na verdade, qualquer biomarcador molecular potencial precisa ser rigorosamente testado, tanto em laboratório, como em condições de campo.

## 8. CONCLUSÕES

A qualidade de água, os contaminantes orgânicos presentes nos sedimentos e bioacumulados nas ostras *Crassostrea gasar* expostas por 24 horas a águas do mar, coletadas na Enseada de Balneário Camboriú e em áreas de cultivo de moluscos ali existentes forneceram evidências do impacto antropogênico que a região enfrenta, reforçando a necessidade de se estabelecer mais estudos e ações contínuas na região, mediante, por exemplo, de um programa de biomonitoramento para dimensionar melhor as causas e efeitos nos recursos biológicos, na qualidade de água nas áreas de cultivo de moluscos e no ecossistema marinho-costeiro como um todo.

A análise microbiológica dos níveis de coliformes em CAM e MAR evidenciaram o impacto do esgoto sanitário nestes locais, derivado das atividades antropogênicas, enquanto os níveis de fósforo em CAM e na área aquícola de BAR, superaram os limites estabelecidos pela RES 357/ CONAMA para fins de cultivo de moluscos bivalves.

Surge a necessidade de realizar mais estudos contínuos, associados a programas de biomonitoramento que contemplem ainda a qualidade de água e a dinâmica das águas na Foz do Rio Camboriú e área de cultivo de BAR, e de modo especial a influência das águas do Canal de Marambaia na enseada de Balneário Camboriú.

As maiores concentrações de  $\Sigma$ HPAs,  $\Sigma$ PCBs,  $\Sigma$ LABs nos sedimentos de CAM evidenciam a influência e impacto das atividades antropogênicas na Foz do Rio Camboriú.

Os níveis de concentração de  $\Sigma$ DDTs nos sedimentos da área de cultivo LAR podem ser relacionados com a presença de pesticidas de uso antrópico na área aquícola. O processo de bioacumulação de contaminantes orgânicos nos sedimentos na região deve ser avaliado continuamente, mediante estudos hidrodinâmicos e da dinâmica geoquímica do ecossistema.

Os esteroides fecais, colesterol e copostranol presentes em maiores concentrações nos sedimentos de CAM evidenciam sua utilidade como marcadores geoquímicos de contaminação fecal de origem antrópica.

A bioacumulação de  $\Sigma$ HPAs,  $\Sigma$ PCBs,  $\Sigma$ LABs e  $\Sigma$ DDTs nos tecidos das ostras *C. gasar* em LAR não mostraram, aparentemente, relações diretas com os níveis de transcritos de biomarcadores moleculares.

Os níveis de transcritos de *SOD* e *GPx* em MAR reiteram seu papel como primeira linha de defesa antioxidante em águas impactadas por esgoto sanitário.

Os níveis de transcritos dos genes *ALAd*, *HSP70* e *FABP* em CAM e MAR confirmam a importância de sua utilização como biomarcadores moleculares de exposição, indicando alterações na homeostase celular, em ambientes aquáticos com impacto antrópico.

O gene *CAT* do sistema antioxidante, e os genes do sistema de biotransformação de xenobióticos da Fase I (*CYP2A1-like*) e da Fase II (*GST-omega-like* e *SULT1C-1 like*) não mostraram diferenças significativas nos níveis de transcritos.

Na ostra *Crassostrea gasar*, mais uma vez, o importante papel exercido pelo tecido branquial no processo de bioacumulação de xenobióticos fica comprovado e, conseqüentemente, sua utilização como tecido alvo para análise de biomarcadores moleculares.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado procurou estabelecer relações que permitissem associar o processo de bioacumulação de contaminantes orgânicos e respostas envolvendo biomarcadores moleculares de contaminação aquática em brânquias de ostras *Crassostrea gasar* em condições controladas em laboratório, reduzindo assim possíveis interferências das condições ambientais, como a precipitação pluviométrica, oscilações de temperatura e as características físico-químicas de qualidade da água (oxigênio, temperatura, salinidade, concentração de contaminantes orgânicos e inorgânicos, metais, etc) e dos sedimentos, entre outros fatores. A influência potencial dos parâmetros ambientais nas respostas associadas a biomarcadores em estudos desenvolvidas com a mesma espécie de ostra expostas/mantidas em ambientes naturais, áreas de cultivo de moluscos e em ambientes naturais com impacto de esgoto sanitário têm sido evidenciada. Nesse contexto, surge a questão de se procurar integrar as abordagens de estudo em condições de laboratório e de campo, buscando melhor compreender o impacto decorrente da ação de xenobióticos nos diferentes tecidos e órgãos dos moluscos bivalves, utilizados como organismos bioindicadores. Desta forma, este estudo buscou trazer uma contribuição adicional para o conhecimento e a aplicação de biomarcadores moleculares específicos na avaliação do grau de contaminação aquática, focando em uma região para a qual a adoção de um programa de biomonitoramento local ou estadual possa vir a catalisar interesses comuns, no sentido de buscar e fundamentar o estabelecimento de ações e políticas de conservação ambiental para o desenvolvimento sustentável.

Os resultados referentes à qualidade de água, contaminantes orgânicos nos sedimentos e os níveis de bioacumulação de contaminantes orgânicos nas brânquias, aparentemente, não mostraram correlação significativa com o aumento dos níveis de transcritos gênicos de todos os genes alvo aqui analisados e integrantes do sistema de defesa antioxidante e de biotransformação. Alterações relacionadas à indução (*up-regulation*) foram observadas. Por outro lado, a repressão (*down-regulation*), representada pela diminuição dos níveis de transcritos de um ou mais genes, encontra de forma análoga relevância como resposta em nível de biomarcador molecular. Ademais, alguns outros fatores podem ter contribuído para as respostas observadas, como o sinergismo entre os compostos presentes nas amostras de água do mar e/ou a presença eventual de outros componentes/compostos que não tenham sido alvo das presentes análises.

Os resultados apresentados ampliam o leque do conhecimento e as informações relativas ao padrão e à dinâmica das respostas celulares envolvendo biomarcadores moleculares, particularmente no tecido branquial de ostras *Crassostrea gasar*. Ademais, os resultados abrem perspectivas para novos estudos integrados no sentido de contribuir para minimizar e/ou prevenir o impacto antropogênico nos ecossistemas costeiros, levando em consideração as atividades produtivas da pesca e da maricultura de moluscos bivalves e a respectiva qualidade e segurança alimentar, como é o caso do município costeiro de Balneário Camboriú, importante polo turístico e econômico do Estado de Santa Catarina.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA, D. M. S. et al. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 8, p. 875-885, 2005.

AISEMBERG, J. et al. Comparative study on two freshwater invertebrates for monitoring environmental lead exposure. **Toxicology**, v. 210, p. 45-53, 2005.

ALBERS, P. Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Hoffman, D. J.; Rattner, B. A.; Burton, G. A.; Cairns, J. (Eds.). **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis publishers, p. 330-355, 1995.

ALMEIDA, E.A. **Avaliação de variações bioquímicas em moluscos bivalves em resposta ao estresse ambiental**. 2003. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

ALMEIDA, E.A.; BAINY, A.C.D.; DAFRE, A.L.; GOMES, O.F. ; MEDEIROS, M.H.G.; DI MASCIO, P. Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel (*Perna perna*) exposed to air and re-submersed. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol**, v. 318, p. 21-30, 2005.

APRAIZ, I.; MI, J.; CRISTOBAL, S. Identification of proteomic signatures of exposure to marine pollutants in mussels (*Mytilus edulis*). **Mol. Cell. Proteomics** v.5, p. 1274-85, 2006.

ARUKWE, A.; NORDTUG, T.; KORTNER, T.M.; MORTENSEN, A.S.; BRAKSTAD, O.G. Modulation of steroidogenesis and xenobiotic biotransformation responses in zebra fish (*Danio rerio*) exposed to water-soluble fraction of crude oil. **Environmental Research**, v. 107 n. 3, p. 362-370, 2008.

BAINY, A.C.D.; ALMEIDA, E.A.; MÜLLER, I.C.; VENTURA, E.C.; MEDEIROS, I.D. Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Mar. Environ. Res.**, v. 50, p. 411-416, 2000.

BAINY, A.C.D.; MARQUES, M.R.F. Global Analysis of Biomarker Responses in Aquatic Organisms Exposed to Contaminants. **Comments on Toxicology**, v. 9, n. 5-6, p. 271-278, 2003.

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; MICHON, Q.; GARRIGUES, P.; BURGEOT, T.; BELLOCQ, J. Origin and bioavailability of PAHs in the 83 Mediterranean Sea from mussel and sediment records. **Estuar. Coast. Shelf. S.**, v. 47, p.77-90, 1998.

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; GARRIGUES, P.; DIZER, H.; HANSEN, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variations. **Mar Environ Res**, v. 47, p. 17–47, 1999.

BAYIR, M.; BAYIR, A.; WRIGHT, J.M.; Divergent spatial regulation of duplicated fatty acid-binding protein (FABPs) genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part D. v. 14, p. 26–32, 2015.

BÉGUEL et al. Study of the antioxidant capacity in gills of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in link with its reproductive investment. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 157, p.63–71, 2013.

BÍCEGO, M. C. **Alguns aspectos sobre a degradação fotoquímica e a deterioração de hidrocarbonetos de petróleo no ambiente marinho**. Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

BÍCEGO, M; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G; MONTONE, R.; SILVA, D.; LOURENÇO, L.; MARTINS, C.; SASAKI, S.; PELLIZARI, V.; WEBER, R. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 1804–1816, 2006.

BITTENCOURT, A. **Avaliação da transcrição diferencial de genes alvo em *Crassostrea brasiliiana* expostas in situ no manguezal do Itacorubi, Florianópolis, SC**. 2013. 81 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) -Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

BOARD, P.G. The omega-class glutathione transferases: structure, function, and genetics. **Drug Metab. Rev.**, v. 43, p. 226–235, 2011.

BOARD, P.G.; COGGAN, M.; CHELVANAYAGAM, G.; EASTEAL, S.; JERMIIN, L.S.;SCHULTE, G.K.; DANLEY, D.E.; HOTH, L.R.; GRIFFOR, M.C.; KAMATH, A.V.;ROSNER, M.H.; CHRUNYK, B.A.; PERREGAUX, D.E.; GABEL, C.A.; GEOGHEGAN, K.F.; PANDIT, J. Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. **The Journal of biological chemistry**, v. 275 n. 32, p. 24798-806, 2000.

BOITSOV, S.; JENSEN, J.; KLUNGSØYR, J. Natural background and anthropogenic inputs of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in sediments of South-Western Barents Sea. **Marine Environmental Research**, v. 68, n. 5, p. 236–245., 2009.

BOUTET, I.; TANGUY, A.; ROUSSEAU, S.; AUFFRET, M.; MORAGA, D. Molecular identification and expression of heat shock cognate 70 (hsc70) and heat shock protein 70 (hsp70) genes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Cell Stress Chaperon**, v. 8, p. 76-85, 2003.

BOUTET, I; TANGUY, A.; MORAGA, D. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. **Gene**, v. 329 p. 147–157, 2004.

BOUTET, I; TANGUY,A.; MORAGA, D. Characterization and expression of four mRNA sequences encoding glutathione S-transferases pi, mu, omega and sigma classes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to hydrocarbons and pesticides. **Mar. Biol.**, v. 146, p. 53–64, 2004.

BRAGA, E.S.; BONETTI, C.; BURONE, L.; BONETTI FILHO, J. Eutrophication and Bacterial Pollution Caused by Industrial and Domestic Wastes at the Baixada Santista Estuarine System-Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 2, p. 165–173, 2000.

BUSTIN, S. A; BENES, V.; GARSON, J. A; et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611–22, 2009.

CAJARAVILLE, M. P.; BEBIANNO, M.J.; BLASCO, J.; et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, v. 247, n. 2-3, p. 295–311, 2000.

CANESI, L.; CIACCI, C.; BETTI, M.; SCARPATO, A.; CITTERIO, B.; PRUZZO, C. ET AL. Effects of PCB congeners on the immune function of *Mytilus* hemocytes: alterations of tyrosine kinase-mediated cell signaling. **Aquatic Toxicol**, v. 63, p. 293–306, 2003.

CARDELLICCHIO, N.; BUCCOLIERI, A.; GIANDOMENICO, S.; LOPEZ, L.; PIZZULLI, F.; SPADA, L. Organic pollutants (PAHs, PCBs) in sediments from the Mar Piccolo in Taranto (Ionian Sea, Southern Italy) **Mar Pollut Bull**, v. 55, p. 451–458, 2007.

CARREIRA, R.S.; WAGENER, A.L.R.; READMAN, J.W. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space–time variations. **Estuar. Coast. Shelf Sci.** 60, 587–598, 2004.

CELLURA, C.; TOUBIANA, M.; PARRINELLO, N.; ROCH, P. HSP70 gene expression in *Mytilus galloprovincialis* hemocytes is triggered by moderate heat shock and *Vibrio anguillarum*, but not by *V. splendidus* or *Micrococcus lysodeikticus*. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 30, p. 984–997, 2006.

CEPAL - COMISIÓN ECONÓMICA PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE / ONU. **Anuario Estadístico de América Latina y el Caribe**, 2015 (LC/G.2656-P), Santiago, 2015.

CHANDURVELAN, R.; MARSDEN, I.D.; GLOVER, C.N.; GAW, S. Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: Relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. **Science of The Total Environment**, v. 511, n. 1, p. 663–675, 2015.

CHOI, C.Y.; AN, K.W.; AN, M.I. Molecular characterization and mRNA expression of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase during osmotic stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 149, p. 330–337, 2008.

CIRCU, M.; AW, T. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 48, n. 6, p.749–762, 2010.

CLARK, M.S.; PECK, L.S. Triggers of the HSP70 stress response: environmental responses and laboratory manipulation in an Antarctic marine invertebrate (*Nacella concinna*). **Cell Stress Chaperon**, v. 14, n. 649–660, 2009.

COMPANY, R.; SERAFIM, A.; LOPES, B.; CRAVO, A.; SHEPHERD, T.J.; PEARSON, G.; BEBIANNO, M.J. Using biochemical and isotope geochemistry to understand the environmental and public health implications of lead pollution in the lower Guadiana River, Iberia: A freshwater bivalve study. **Sci. Total Environ.** v.405, p.109-119, 2008.

COMPANY, R.; SERAFIM, A.; LOPES, B.; CRAVO, A.; KALMAN, J.; RIBA, I.; DELVALLS, T.A.; BLASCO, J.; DELGADO, J.; SARMIENTO, A.M.; NIETO, J.M.; SHEPHERD, T.J.; NOWELL, G.; BEBIANNO, M.J. Source and impact of lead contamination on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase activity in several marine bivalve species along the Gulf of Cadiz. **Aquat. Toxicol.** v.101, p.146-154, 2011.

CONAMA.CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Brasil. Resolução n°357, 17 de março de 2005.

CRAVO, A.; LOPES, B.; SERAFIM, A.; COMPANY, R.; BARREIRA, L.; GOMES, T.; BEBIANNO, M.J. A multibiomarker approach in *Mytilus galloprovincialis* to assess environmental quality, **J. Environ. Monit**, v. 11, p. 1673–1686, 2009.

DIAS, J; CEARRETA, A; ISLA, F; MICHAELOVITCH, M. Anthropogenic impacts on Iberoamerican coastal areas: Historical processes, present challenges, and consequences for coastal zone management. **Ocean & Coastal Management**. n. 77, p. 80-88, 2013.

DOI, S.A. **Estudo da qualidade microbiológica da água e das ostras *Crassostrea sp* nas áreas aquícolas do município de Cananéia, SP.** 2012. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca, Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de

Agricultura e Abastecimento. São Paulo, 2012.

EEA. European Environment Agency. **State of Environment Report (SOE)**, v. 1, p. 120-121, 2005.

ENCOMIO V. G.; CHU, F.L.E. Heat shock protein (Hsp70) expression and thermal tolerance in sublethal heat shocked eastern oysters (*Crassostrea virginica*) infected with the parasite *Perkinsus marinus*. **Diseases in Aquatic Organisms**, v. 76, p. 252-260, 2007.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Potential Pollutants, Their Sources and Their Impacts. Em Sciortino, J.A.; Ravikumar, R. (Ed.) Fishery harbour manual on the prevention of pollution. **FAO**, Rome (Italy). Fisheries Dept., 173 p. 1999.

\_\_\_\_\_. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Global Aquaculture Production database updated to 2013 – Summary information**. 2015.

FARCY, E.; SERPENTINI, A.; FIÉVET, B.; LEBEL, J.M. Identification of cDNAs encoding HSP70 and HSP90 in the abalone *Haliotis tuberculata*: Transcriptional induction in response to thermal stress in hemocyte primary culture. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 146, n. 4, p. 540–550, 2007.

FERNANDES, D.; LOI, B.; PORTE, C. Biosynthesis and metabolism of steroids in molluscs. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 127 p. 189–195, 2013.

FLORES, L. C. S.; CAVALCANTE, L. S.; RAYE, R. L. Marketing turístico: estudo sobre o uso da tecnologia da informação e comunicação nas agências de viagens e turismo de Balneário Camboriú (SC, Brasil). **Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo**, v. 6, n. 3, p. 322-339, 2012.

FLORES-NUNES, F. **Avaliação de respostas bioquímicas, moleculares e de expressão proteômica em ostras *Crassostrea gigas* expostas ao esgoto sanitário**. 2013. 183 p. Tese (Doutorado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da

Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2013.

FLORES-NUNES, F.; GOMES, T.; COMPANY, R.; MORAES, R.; SASAKI, S.; TANIGUCHI, S.; BICEGO, M.; MELO, C.; BAINY, A.; BEBIANNO, M. Changes in protein expression of pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed in situ to urban sewage. **Environ. Sci. Pollut. Res. Intern.** 2014. DOI 10.1007/s11356-014-3821-8.

FLORES-NUNES, F.; MATTOS, J.J.; ZACCHI, F.L.; SERRANO, M. A.S.; PIAZZA, C.E.; SASAKI, S.T.; TANIGUCHI, S.; BICEGO, M.C.; MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D. Effect of linear alkylbenzene mixtures and sanitary sewage in biochemical and molecular responses in pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Environ. Sci. Pollut. Res. Intern.** 2015. DOI:10.1007/s11356-015-4486-7.

FOLMER, V.; SANTOS, F. W.; SAVEGNAGO, L.; BRITO, V. B.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. High sucrose consumption potentates the sub-acute cadmium effect on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase but not on delta-aminolevulinatase dehydratase in mice. **Toxicol. Lett.** v. 153, p. 333-41, 2004.

FRENCH, P. W. **Coastal defences: processes, problems and solutions.** London: Taylor & Francis, 384p, 2001.

FUJIWARA, T.; HARIGAE, H.; TAKAHASHI, S.; FURUYAMA, K.; NAKAJIMA, O.; SUN, J.; IGARASHI, K.; YAMAMOTO, M.; SASSA, S.; KAKU, M.; SASAKI, T. Differential gene expression profiling between wild-type and ALAS2-null erythroblasts: Identification of novel heme-regulated genes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 340, p. 105-110. 2006.

GARCÍA-LAGUNAS, N.; ROMERO-GERALDO, R.; HERNÁNDEZ-SAAVEDRA, N.Y. Genomics Study of the Exposure Effect of *Gymnodinium catenatum*, a Paralyzing Toxin Producer, on *Crassostrea gigas*' Defense System and Detoxification Genes. **PLoS One**, v. 8, n. 9, e72323. 2013.

GOMES, R.P. **Transcrição de genes citocromo p450 em ostra *Crassostrea gigas*.** 2013, 109 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; ALBENTOSA, M.A.; CAMPILLO J.A.; VIÑAS, L.; ROMERO, D.; FRANCO, A.; BELLAS, J. Effect of nutritive status on *Mytilus galloprovincialis* pollution biomarkers: Implications for large-scale monitoring programs. **Aquatic Toxicology**, v. 167, p. 90–105, 2015.

GONZÁLEZ, J.A. El coprostanol como biomarcador de la contaminación fecal. Una revisión de sus aplicaciones en el medio marino. **Revista de la Sociedad Química de México**, v. 46, n. 4, p. 341-348, 2002.

GOSLING, E. **Bivalve Molluscs Biology**, Ecology, and Culture. Blackwell Publishing, Oxford, p.495, 2003.

GREEN, G.; NICHOLS, P.D. Hydrocarbons and sterols in marine sediments and soils at Davis Station, Antarctica: a survey for human-derived contaminants. **Antarc. Sci.**, v. 7, p. 137-144, 1995.

GRIMALT, J.O.; FERNANDEZ, P.; BAYONA, J.; ALBAIGES, J. Assessment of fecal sterols and ketones as indicator of urban sewage inputs to coastal waters. **Environmental Science Technology**, v. 24, p. 357-363, 1990.

GUPTA, S.C.; SHARMA, A.; MISHRA, M.; MISHRA, R.K.; CHOWDHURI, D.K. Heat shock proteins in toxicology: How close and how far? **Life Sciences**, v. 86, p. 377–384, 2010.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press, 2007.

HAMADEH, H.K.; BUSHEL, P.R.; JAYADEV, S.; MARTIN, K.; DISORBO, O.; SIEBER, S.; BENNETT, L.; TENNANT, R.; STOLL, R.; BARRETT, J.C.; BLANCHARD, K.; PAULES, R.S.; AFSHARI, C.A. Gene expression analysis reveals chemical-specific profiles. **Toxicological Sciences**, v. 67, p. 219-231, 2002.

HANDY, R.D., GALLOWAY, T.S., DEPLEDGE, M.H. A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. **Ecotoxicology**, v. 12, p. 331-343, 2003.

HERMES-LIMA M. **Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals**. In: Storey KB (Ed) *Functional metabolism: regulation and adaptation*. Wiley, New York, pp 319–368, 2004.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. United Nations Environment Programme-Oficina Regional para América Latina y el Caribe. **Relatório Perspectivas do Meio Ambiente para o Brasil – GEO Brasil 2002**. Brasília: IBAMA, v. 1, 447p, 2002.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico -2010**. Rio de Janeiro, p.1-239, 2010.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal (PPM) – 2014**. Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores de desenvolvimento sustentável -2015**. Rio de Janeiro, 352p. 2015.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estimativas da população residente no Brasil e unidades da federação com data de referência em 1º de julho de 2015**. Em: [www.ibge.gov.br/home/estatistica/estimativas2015](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/estimativas2015)

ISOBE, T.; TAKADA, H.; KANAI, M.; TSUTSUMI, S.; ISOBE, K.O.; et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and phenolic endocrine disrupting chemicals in South and Southeast Asian mussels. **Environ Monit and Assess**, v. 135 p. 423–440, 2007.

JAFFE, E. K.; ALI, S.; MITCHELL, L. W.; TAYLOR, K. M.; VOLIN, M.; MARKHAM, G. D. Characterization of the role of the stimulatory magnesium of *Escherichia coli* porphobilinogen synthase. **Biochem**, v. 34, p.244-51, 1995.

JAMES, M.O. Steroid catabolism in marine and freshwater fish. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 127, p. 167–175, 2011.

JANER, G.; LAVADO, R.; THIBAUT, R.; PORTE, C. Effects of 17 $\beta$ -estradiol exposure in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: a possible regulating role for acyltransferases. **Aquat. Toxicol.** v. 75 p. 32–42, 2005.

JORGENSEN, B. B. **Material Flux in the Sediment. In: Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems.** B. B. Jorgensen and K. Richardson (Eds), American Geophysical Union, Washington, D. C. p. 115-135, 1996.

KAMMANN, U. et al., Biological effect monitoring in dab (*Limanda limanda*) using gene transcript of CYP1A1 or EROD, A comparison, **Environmental Science and Pollution Research**, v. 15, n. 7, p. 600-605, 2008.

KARACIK, B; OKAY , O; HENKELMANN, B; BERNHÖFT, S; SCHRAMM, K. Polycyclic aromatic hydrocarbons and effects on marine organisms in the Istanbul Strait. **Environment International**, v. 35, n. 3, p.599–606, 2009.

KATSUMUTI, A.; DOMINGOS, F.; AZEVEDO, M.; SILVA, M.; DAMIAN, R.; ALMEIDA, I.; ASSIS, H.; CESTARI, M.; RANDI, M.; RIBEIRO, C.; FREIRE, C. An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after the Vicuña Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. **Environ. Monit. Assess.** v.152, n.1-4, p.209-222, 2008.

KENNISH, M.J. **Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects.** London: CRC Press, p. 494, 1991.

KUROSHIMA, K.N.; BARREIROS, M.A.B.; LAÇAVA, L.A.; COSTÓDIO, P.F.S. The influence of dioxide chloride on water quality of Balneário Camboriú beach, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 129, p. 179-187, 2007.

KUROSHIMA, K.; BARREIROS, M.A.B.; RÖRIG, L.R.; SCHERER, P.F.; TERNES, C.F.; FASANARO, R.; SCHROEDER, R.A. & L. RIBEIRO. **Avaliação das Características Físicas e Químicas da Enseada de Camboriú-SC. Brasil.** In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre. PUC (1 C.D.) 9 pp. 2000.

KWON, H.; LEE, C.; JUN, B.; YUN, J.; WEON, S.; KOOPMAN, B. Recycling waste oyster shells for eutrophication control. **Resources, Conservation and Recycling** v. 41, p. 75–82, 2004.

LACHAPELLE, G.; RADICIONI, S.M.; STANKIEWICZ, A.R.; MOSSER, D.D. Acute acidification or amiloride treatment suppresses the ability of Hsp70 to inhibit heat-induced apoptosis. **Apoptosis**, v. 12, n. 8, p. 1479–1488, 2007.

LAGADIC L.; CAQUET, T.; AMIARD, J.C. **Biomarqueurs en écotoxicologie: Principes et définitions**. In: Lagadic L, Caquet T, Amiard JC, Ramade F, editors. *Biomarqueurs en écotoxicologie: aspects fondamentaux*. Londres: Masson; 1997.

LANG, V. Review: polychlorinated biphenyls in the environment. **J. Chromatog**, v. 595, p. 1-43, 1992.

LAPÈGUE, S., BOUTET, I., LEITÃO, A., HEURTEBISE, S., GARCIA, P., THIRIOTUIE-VREUX, C., E BOUDRY, P. Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. **Biological Bulletin**, v. 202 p. 232-242, 2002.

LAVADO, R.; JANER, G.; PORTE. C. Steroid levels and steroid metabolism in the mussel *Mytilus edulis*: the modulation effect of dispersed crude oil and alkylphenols. **Aquat. Toxicol**, v. 78, p. 65–72, 2006.

LAZOSKI, C.; GUSMÃO, J.; BOUDRY, P.; SOLÉ- CAVA, A.M. 2011 Phylogeny and phylogeography of Atlantic oyster species: evolutionary history, limited genetic connectivity and isolation by distance. **Marine Ecology**, v. 426, p. 197–212, 2011.

LI, F. ; WU, H. ; WANG, Q. Glutathione S-transferase (GST) gene expression profiles in two marine bivalves exposed to BDE-47 and their potential molecular mechanisms. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 33, n. 3, p. 705-713, 2015.

LIVINGSTONE, D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, p. 656 – 666, 2001.

LÜCHMANN, K.H.; MATTOS, J.J.; SIEBERT, M.N.; et al. Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliiana* following exposure to diesel fuel wáter accommodated fraction. **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 3-4,

p. 652–60, 2011.

LÜCHMANN, K.H. **Respostas bioquímicas e moleculares em ostras do mangue, *Crassostrea brasiliiana*, expostas a diferentes contaminantes ambientais.** 2012. 178 p. Tese (Doutorado em Bioquímica), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2012.

LÜCHMANN, K. H.; MATTOS, J. J.; SIEBERT, M. N.; et al. Suppressive subtractive hybridization libraries prepared from the digestive gland of the oyster *Crassostrea brasiliiana* exposed to a diesel fuel water-accommodated fraction. **Environmental toxicology and chemistry** / SETAC, v. 31, n. 6, p. 1249–53, 2012.

LÜCHMANN, K.H.; DAFRE, A.L.; TREVISAN, R.; CRAFT, J.A.; MENG, X.; MATTOS, J.J.; ZACCHI, F.L.; DORRINGTON, T.S.; SCHROEDER, D.C.; BAINY, A.C.D. A light in the darkness: New biotransformation genes, antioxidant parameters and tissue-specific responses in oysters exposed to phenanthrene. **Aquat. Toxicol.**, v. 162, p. 324–334, 2014.

LÜCHMANN, K.H.; CLARK, M.S.; BAINY, A.C.D.; GILBERT, J.A.; CRAFT, J.A.; CHIPMAN, J.A.; THORNE, M.A.S.; MATTOS, J.J.; SIEBERT, M.N.; SCHROEDER, D.C. Key metabolic pathways involved in xenobiotic biotransformation and stress responses revealed by transcriptomics of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliiana*. **Aquatic Toxicology**, v. 166, p. 10–20, 2015.

LUSHCHAK, L.; SEMCHYSHYN, H. **Oxidative Stress.** In: Molecular Mechanisms and Biological Effects. Dr. Volodymyr Lushchak (Ed.), InTech, v. 1, p. 1-11, 2012.

MACKAY, D.; FRASER, A. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. **Env. Pollution.** v. 110, p. 375-391. 2000.

MAIOLI, O.; RODRIGUES, K.; KNOPPERS, B.; AZEVEDO, D. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from two Brazilian Estuarine Systems. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, p. 1543–1551, 2010.

MARCHAND, M.; ABARNOU, A.; MARCAILLOU-LEBAUT, C. Les polychlorobiphényles (PCB) en milieu marin, biogéochimie et écotoxicologie. 148 **Rapport Scientifiques Techniques IFREMER**, 18, SDP, Brest, 1990, *apud* Thompson *et al.*, 1999.

MARKOV, G.V.; LAUDE, V. Origin and evolution of the ligand-binding ability of nuclear receptors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 334 p. 21–30, 2011.

MARTINS, C.C.; ENKATESAN, M.I.; MONTONE, R.C. Sterols and linear alkybenzenes in marine sediments from Admiralty Bay, Antarctica. **Antarctic Science**, v. 14, n. 3, p. 244-252, 2002.

MARTINS, C.C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhas de sedimento do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho.** Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia do Instituto Oceanográfico de Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MARTINS, C.C.; BÍCEGO, M.C.; FIGUEIRA, R.C.L.; et al. Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil). **Sci. Total Environ**, v. 417 - 418, p. 158-168, 2012.

MARTINS, M.; COSTA, P.; FERREIRA, A.; COSTA, A. Comparative DNA damage and oxidative effects of carcinogenic and non-carcinogenic sediment-bound PAHs in the gills of a bivalve. **Aquatic Toxicology**, v. 142–143, p. 85–95, 2013.

MARTINS, C.C.; CABRAL, A.C.; BARBOSA-CINTRA, S.C.T.; DAUNER, A.L.L.; SOUZA, F.M. An integrated evaluation of molecular marker indices and linear alkylbenzenes (LABs) to measure sewage input in a subtropical estuary (Babitonga Bay, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 188, p. 71-80, 2014.

MATOS, M.A.C.; WEBER, R.R. **Estudos dos níveis de contaminação por pesticidas organoclorados e bifenilos policlorados em sedimento marinho do complexo estuarino-lagunar de Cananéia (SP).** In:

REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23, 2000, Poços de Caldas. Livro de resumos, v. 3, AB-013

MEADOR, J.P.; STEIN, J.E.; REICHERT, W. L.; VARANASI, U. Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Organisms. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.143, p. 79-165, 1995.

MEDEIROS, I.D.; SIEBERT, M.N.; TOLEDO-SILVA, G.; MORAES, M.O.; MARQUES, M.R.F.; BAINY, A.C.D. Differential gene expression in oyster exposed to sewage. **Mar. Environ. Res.**, v. 66, p. 156–157, 2008.

MEDEIROS, I. D.; SIEBERT, M. N.; TOLEDO-SILVA, G.; et al. Induced gene expression in oyster *Crassostrea gigas* exposed to sewage. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 26, n.3, p. 362–365, 2008.

MEDEIROS, P.; BÍCEGO, M. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP–Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 761–769, 2004.

MEDEIROS, A. O. et al. Microbial Quality of Freshwater Ecosystems of South America. In: **Water Quality: Physical, Chemical and Biological**. Editor: Kudert Ertuo and Ilker Mirza. Nova Science Publishers, 2009.

MELLO, D.F.; DA SILVA, P.M.; BARRACCO, M.A.; SOUDANT, P.; HÉGARET, H. Effects of the dinoflagellate *Alexandrium minutum* and its toxin (saxitoxin) on the functional activity and gene expression of *Crassostrea gigas* hemocytes. **Harmful Algae**, v.26, p. 45-51, 2013.

METZGER, D.; PRATT, P.; ROBERTS, S. Characterizing the effects of heavy metal and vibrio exposure on HSP70 expression in *Crassostrea gigas* gill tissue. **Journal of Shellfish Research**, v. 31, n. 3, p. 627–630, 2012.

MONIRITH, I.; UENO, D.; TAKAHASHI, S.; NAKATA, H.; SUDARYANTO, A.; SUBRAMANIAN, A.; KARUPPIAH, S.; ISMAIL, A.; MUGHTAR, M.; ZHENG, J.; RICHARDSON, B. J.;

PRUDENTE, M.; HUE, N. D.; TANA, T. S.; TKALIN, A. V.; TANABE, S. Asia-Pacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries. **Mar. Pollut. Bull.** v. 46, p. 281-300, 2003.

MOREIRA, A.M.O. **Frequência dos polimorfismos genéticos ALAD (MspI) e VDR (BsmI), envolvidos na toxicocinética do Chumbo, numa população portuguesa.** 2010. Dissertação de Mestrado em Contaminação e Toxicologia Ambientais, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. Porto, 127p. 2010.

MPA. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Mapas de Licitação de Parques Aquícolas Santa Catarina não onerosas.** 2011.

NAKATA, H.; SAKAI, Y.; MIYAWAKI, T.; TAKEMURA, A. Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystems of the Ariake Sea, Japan. **Environ Sci Technol**, v. 37, n. 16; p. 3513-21, 2003.

NAKATA, H.; UEHARA, K.; GOTO, Y.; FUKUMURA, M.; SHIMASAKI, H.; TAKIKAWA, K.; MIYAWAKI, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs, dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 99, p. 61–68, 2014.

NARBONNE, J.F.; DJOMO, J.E.; RIBERA, D.; FERRIER, V.; GARRIGUES, P. Accumulation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed to sediment by the mollusk *Corbicula fluminea*. **Ecotoxicol. Environ.** v. 42, p. 1–8, 1999.

NEBERT, D.W.; DALTON, T.P.; OKEY, A.B.; GONZALEZ, F.J. Role of aryl hydrocarbon receptor-mediated induction of the CYP1 enzymes in environmental toxicity and cancer. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 23, p. 23847–23850, 2004.

NEFF, J. **Polycyclic aromatic hydrocarbons.** In: Rand, G. M.; Petrocelli, S. R. (Ed.). *Fundamentals of aquatic toxicology.* New York: Hemisphere Publishing Company, p. 416- 454, 1985.

OWADA, Y. Fatty Acid Binding Protein: Localization and Functional Significance in the Brain. **Tohoku J. Exp. Med**, v. 214, p. 213-220, 2008.

PAMPLONA, R.; COSTANTINI, D. Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol**, v. 301, p. 843–863, 2011.

PENTEADO, J.C.P.; EL SEOUD, O.A.; CARVALHO, L.R.F. **Linear alkylbenzene sulfonates: Chemistry, environmental impact and analysis**, Alquilbenzeno sulfonato linear: Uma abordagem ambiental e analítica, v. 29, n. 5, p. 1038-1046, 2006.

PEREIRA, C.D.S.; ABESSA, D.M.; BAINY, A.C.D.; et al. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 462–469, 2007.

PIATTO, L; POLETTE, M. Análise do Processo de Artificialização do Município de Balneário Camboriú, SC, Brasil. **Revista da Gestão Costeira Integrada**, v. 12, Ed 1, p. 79-90, 2012.

PORTZ, L. **Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos em amostras ambientais do estuário da Lagoa dos Patos, RS**. 2005. Monografia de Graduação. Departamento de Oceanografia. Fundação Universidade Federal do Rio Grande. 2005.

RAMDINE, G.; FICHET, D.; LOUIS, M; LEMOINE, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadeloupe: Levels, bioavailability, and effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 79, p. 80–89, 2012.

RAMESHTHANGAM, P; RAMASAMY, P. Antioxidant and membrane bound enzymes activity in WSSV-infected *Penaeus monodon Fabricius*. **Aquaculture**, v. 254, p. 32–39, 2006.

READMAN, J.; FILLMANN, G.; TOLOSA, I.; BARTOCCI, J.; VILLENEUVE, J.; CATINNI, C.; Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Mar Pollut Bull**, v. 44, p. 48–62, 2002.

REGOLI, F.; GIULIANI, M.E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. **Mar. Environ. Res.**, v.93, p. 106–117, 2014.

REIS, I. **Histopatologia e hibridação in situ de citocromo p450 (CYP2A1) em ostras *Crassostrea brasiliana* expostas ao fenantreno.** 2014. 102p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

RENAULT, T. Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 46, n. 1, p. 88-93, 2015.

REWITZ, K.; STYRISHAVE, B.; LØBNER-OLESEN, A.; ANDERSEN, O. Marine invertebrate cytochrome P450: emerging insights from vertebrate and insect analogies. **Comp. Biochem. Physiol. C.**, v.143, p.363-381, 2006.

RHEE, J.S.; LEE, Y.M.; HWANG, D.S.; WON, E.J.; RAISUDDIN, S.; SHIN, K.H.; LEE, J.S. Molecular cloning, expression, biochemical characteristics, and biomarker potential of theta class glutathione S-transferase (GST-T) from the polychaete *Neanthes succinea*. **Aquat. Toxicol.**, v. 83, p. 104–115, 2007.

RISEBROUGH, R. W.; DE LAPPE, B. W.; YOUNGHANS-HAUG, C. PCB and PCT contamination in Winter Quarters Bay Antarctica. **Mar. Pollut. Bull.** v. 21, n. 11, p.523-529, 1990.

RODRIGUES, M.A. **Diagnóstico da malacocultura catarinense em apoio à gestão costeira: Subsídios ao zoneamento da atividade, ordenamento pesqueiro, licenciamento ambiental e a autorização de uso do espaço físico marinho em águas de domínio da União.** 2007. 478 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade de Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

RUIZ, Y.; SUAREZ, P.; ALONSO, A.; LONGO, E.; VILLAVERDE, A.; SAN JUAN, F. Environmental quality of mussel farms in the Vigo estuary: Pollution by PAHs, origin and effects on reproduction. **Environment Pollution**, v. 159, n. 1, p. 250–265, 2011.

RUPP, G.S., DE OLIVEIRA NETO, F.M. Y GUZENSKI, J. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en la región sudeste-sur de Brasil. En A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. **Taller Técnico Regional de la FAO**. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. n. 12. Roma, FAO. p. 77–89. 2008.

SALANKI, J.; FARKAS, A.; KAMARDINA, T.; ROZSA, K.S. Molluscs in biological monitoring of water quality. **Toxicology Letters**, v. 140-141, p. 403-410, 2003.

SANTUR. **SECRETARIA DE TURISMO DO ESTADO DE SANTA CATARINA**. <http://turismo.sc.gov.br/cidade/balneario-camboriu/>. Acesso 04/03/2015.

SASAKI, S. **Marcadores orgânicos moleculares como ferramentas no monitoramento ambiental: Avaliação da distribuição de Alquilbenzenos Lineares (LABs) em organismos e sedimentos, como indicativo de exposição ao esgoto em áreas costeiras**. 2012. 217 p. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

SCHACHTRUP, C.; SCHOLZEN, T.E.; GRAU, V.; LUGER, T.A.; SORG, C.; SPENER, F.; et al. L-FABP is exclusively expressed in alveolar macrophages within the myeloid lineage: evidence for a PPAR alpha-independent expression. *Int. J Biochem Cell Biol*. v. 36, p. 2042-2053, 2004.

SCHERER, P.F. **Distribuição de nutrientes inorgânicos e bactérias no estuário do rio Camboriú/SC**. 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 2003.

SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. **Nature Protocols**, v. 3, p. 1101-1108, 2008.

SCHRAMM, M. **Ocorrência de toxinas amnésicas, paralisantes e diarreicas na carne de moluscos cultivados em Santa Catarina:**

**segurança alimentar e saúde pública.** 2008. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SCHROEDER, F.; PETRESCU, A.D.; HUANG, H.; ATSHAVES, B.P.; MCLINTOSH, A.L.; MARTIN, G.G.; HOSTETLER, H.A.; VESPA, A.; LANDROCK, D.; LANDROCK, K.K.; PAYNE, H.R.; KIER, A.B. Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. **Lipids**, v. 43, p. 1–17, 2008.

SECTURBC. SECRETARIA DE TURISMO E DESENVOLVIMENTO ECONOMICO DE BALNEARIO CAMBORIU. **Revista de Turismo Balneário Camboriú.** v. 1, p. 2, 2015.

SERAFIM, A. LOPES, B. COMPANY, R. FERREIRA, A.M. BEBIANNO, M.J. Comparative petroleum hydrocarbons levels on biochemical responses in mussels from hydrothermal vents (*Bathymodiolus azoricus*) and coastal environments (*Mytilus galloprovincialis*). **Marine Pollution Bulletin** v. 57, p, 529-537, 2008.

SERRANO, M. A. S.; GONZALEZ-REY, M.; MATTOS, J.J.; FLORES-NUNES, F.; MELLO, Á.C.P.; ZACCHI, F.L.; PIAZZA, C.E.; SIEBERT, M.N.; PIAZZA, R.S.; ALVAREZ-MUÑOZ, D.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D.; BEBIANNO, M.J.; GOMES, C.H. A. M.; MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D. Differential gene transcription, biochemical responses, and cytotoxicity assessment in Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to ibuprofen. **Environ. Sci. Pollut. Res.** v. 22, n. 22, p. 17375-17385, 2015.

SERRAZENETTI, G. P.; ARTUSI, R.; PAGNUCCO, C. **Aliphatic hydrocarbons, linear alkybenzenes and highly branched isoprenoids in molluscs of the Adriatic Sea, Italy.** In EGANHOUSE, R. P. (Ed.). *Molecular markers in Environmental Geochemistry.* Washington: American Chemical Society, p. 276-290, 1997.

SHERBLOM, P.M.; GSCHWEND, P. M.; EGANHOUSE, R. P. Aqueous solubility, vapor pressure, and n-octanol-water partition coefficients for C9-179 C14 linear alkylbenzenes. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 37, p. 394-399, 1992.

SILVA, A.; GONÇALVES, R. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, v.40, n.4, p.994-1002, 2010.

SILVA, T.R.; LOPES, S.R.P.; SPÖRL, G.; KNOPPERS, B.A.; AZEVEDO, D.A. Evaluation of anthropogenic inputs of hydrocarbons in sediment cores from a tropical Brazilian estuarine system. **Microchemical Journal**, v. 109, n. 178–188, 2013.

SONG, L.; WU, L.; NI, D.; CHANG, Y.; XU, W.; XING, K. The cDNA cloning and mRNA expression of heat shock protein 70 gene in the haemocytes of bay scallop (*Argopecten irradians*, Lamarck 1819) responding to bacteria challenge and naphthalin stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 21, n. 4, p. 335–345, 2006.

SOUZA, D.S.M.S.; RAMOS, A.P.D.; NUNES, F.F.; MORESCO, V.; TANIGUCHI, S.; LEAL, D.A.G.; SASAKI, S.T.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE, R.C.; DURIGAN, M.; TEIXEIRA, A.L.; PILOTTO, M.R.; DELFINO, N.; FRANCO, R.M.B.; MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D.; BARARDI, C.R.M. Evaluation of tropical water sources and mollusks in Southern Brazil using microbiological, biochemical and chemical parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p.153-161, 2012.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1973.

SUMICH, J.L.; MORRISSEY, J.F. **Introduction to the biology of marine life**. Tenth Edition. 449p, 2004.

TAN, S.; ZHANG, X.; JIN, X.; LI, W.W.; LI, J.Y.; WANG, Q. Fatty acid binding protein FABP3 from Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* participates in antimicrobial responses. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 43, n. 1, p. 264–274, 2015.

TANIGUCHI, S. **Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos e organoclorados em diferentes compartimentos do ambiente marinho do estado do Rio de Janeiro**. Tese (Doutorado em Química). 2002. Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

TISCHER, V.; ESPINOZA, E; MARENZI, R. Indicadores socio ambientales aplicados en la gestión de ambientes costeros. Caso de estudio Santa Catarina, Brasil. Investigaciones Geográficas, **Boletín del Instituto de Geografía, UNAM.** n. 86, p. 53-66, 2015.

TOLEDO-SILVA, G.; SIEBERT, M. N.; MEDEIROS, I. D.; et al. Cloning a new cytochrome P450 isoform (CYP356A1) from oyster *Crassostrea gigas*. **Marine environmental research**, v. 66, n. 1, p. 15–18, 2008.

TRAVERS, M.A.; MEISTERTZHEIM, A. L.; CARDINAUD, M.; FRIEDMAN, C.; HUCHETTE, S.; MORAGA, D.; PAILLARD, C. Gene expression patterns of abalone, *Haliotis tuberculata*, during successive infections by the pathogen *Vibrio harveyi*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 105, n. 3, p. 289–297, 2010.

TREVISAN, R. **Mecanismos de defesas celulares relacionados a defesas antioxidantes e de biotransformação em mexilhões *Perna perna* e ostras *Crassostrea gigas* expostas a agentes oxidantes e eletrofilicos.** 2014. Tese (Doutorado em Bioquímica). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

TREVISAN, R.; FLORES-NUNES, F.; DOLORES, E.; MATTOS, J.; PIAZZA, C.; SASAKI, S.; TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.; BICEGO, M.; DOS REIS, I.; ZACCHI, F.; OTHERO, B.; BASTOLLA, C.; MELLO, D.; FRAGA, A.P.; WENDT, N.; TOLEDO-SILVA, G.; RAZZERA, G.; DAFRE, A.; MELO, C.; BIANCHINI, A.; MARQUES, M.; BAINY, A. Thiol oxidation of hemolymph proteins in oysters *Crassostrea brasiliiana* as markers of oxidative damage induced by urban sewage exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2016.

TURJA, R.; HÖHER, N.; SNOEIJIS, P.; BARŠIENĖ, J.; BUTRIMAVIČIENĖ, L.; KUZNETSOVA, T.; KHOLODKEVICH, S.; DEVIER, M.H.; BUDZINSKI, H.; LEHTONEN, K. A multibiomarker approach to the assessment of pollution impacts in two Baltic Sea coastal areas in Sweden using caged mussels (*Mytilus trossulus*). **Sci. Total Environ.** v. 473, p. 398–409, 2014.

TSUTSUMI, S.; YAMAGUCHI, Y.; NISHIDA, I.; AKIYAMA, K.; ZAKARIA, M. P.; TAKADA, H. Alkybenzenes in mussels from South and South East Asian coasts as a molecular tool to assess sewage impact. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, n. 1-12, p. 325-331, 2002.

UNEP - United Nations Environment Programme. Determinations of petroleum hydrocarbons in sediment. **Reference methods for marine pollution studies**. n. 20, p. 97, 1991.

URBAN, S.R. **Uso do solo na bacia hidrográfica do rio Camboriú (SC) e sua influência sobre a qualidade da água**. 2008. 112 p. Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade do Vale Do Itajaí - UNIVALI, Itajaí, 2008.

VALENZUELA-CASTILLO, A.; SÁNCHEZ-PAZ, A.; CASTRO-LONGORIA, R.; LÓPEZ-TORRESA, M.A.; GRIJALVA-CHON, J.M. Seasonal changes in gene expression and polymorphism of HSP70 in cultivated oysters (*Crassostrea gigas*) at extreme temperatures. **Marine Environmental Research**, v. 110, p. 25–32, 2015.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ. Toxicol Pharmacol**. v. 13, p. 57–149. 2003.

VENTURINI, N.; TOMMASI, L. Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychaete assemblages in sediments of Todos os Santos Bay, Northeastern, **Brazil, Mar. Pollut. Bull.**, v. 48, p. 97–107, 2004.

VIARENGO, A; CANESI, L. **Mussels as biological indicators of pollution**. *Aquaculture*. v. 94, p. 225–243. 1991.

WAN, Q.; WHANG, I.; LEE, J.S.; LEE, J. Novel omega glutathione S-transferases in disk abalone: Characterization and protective roles against environmental stress. **Comparative Biochemistry and Physiology. C**, v. 150, n. 4, p. 558–568, 2009.

WANG J.; ZHANG, K.; LIANG, B. Tracing urban sewage pollution in Chaohu Lake (China) using linear alkylbenzenes (LABs) as a molecular marker. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 356–363, 2012.

WANG, L.; YANG, C.; SONG, L. The molluscan HSP70s and their expression in hemocytes. **ISJ**, v. 10, p. 77-83, 2013.

WEINSHILBOUM, R.M.; OTTERNESS, D.M; AKSOY, I.A.; WOOD, T.C.; HER, C.; RAFTOGIANIS. R.B. Sulfation and sulfotransferases I: sulfotransferase molecular biology: cDNAs and genes. **FASEB J.**, v. 11, p. 3-14, 1997.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Safe Management of Shellfish and Harvest Waters**. Edited by G. Rees, K. Pond, D. Kay, J. Bartram and J. Santo Domingo. IWA Publishing, London, UK. 2010.

WOO, S.; KIM, S.; YUM, S.; YIM, U.H.; LEE, T.K. Comet assay for detection of genotoxicity in blood cells of flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to sediments and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Mar. Pollut. Bull.**, v.52, p.1768-1775, 2006.

WOOD, L.G.; SCOTT, H.A.; GARG, M.L.; GIBSON, P.G. Innate immune mechanisms linking non-esterified fatty acids and respiratory disease. **Prog Lipid Res**, v. 48, p. 27-43, 2009.

WRITER, J.H.; LEENHEER, J.A.; BARBER, L.B.; AMY, G.L.; CHAPRA, S.C. Sewage contamination in the upper Mississippi River as measured by the fecal sterol, coprostanol. **Water Res.**, v. 29, p. 1427-1436, 1995.

YAQOOB P. Fatty acids as gatekeepers of immune cell regulation. **Trends Immunol**, v. 24, p. 639-645, 2003.

YOSHIMINE, R.V.; CARREIRA, R.S.; SCOFIELD, A.L.; WAGENER, A.L.R. Regional assessment of PAHs contamination in SE Brazil using brown mussels (*Perna perna* Linnaeus 1758). **Mar. Pollut. Bull.**, v.64, p.2581-2587, 2012.

YOUNG, D.R.; McDERMOTT-EHRLICH, D.; HEESEN, T.C. Sediments as sources of DDT and PCB. **Mar. Pollut. Bull**, v. 8, n. 11, p. 254-257, 1977.

ZACCHI, F.L. **Respostas bioquímicas e moleculares em *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) coletadas em duas baías do Sul do Brasil**. 2013. 104p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa

de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 2, p. 187-195. 2006.

ZANETTE, J. **Identificação e caracterização de marcadores moleculares para estudos ecotoxicológicos em moluscos bivalves e peixes**, 2009. 172 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

ZANETTE, J.; GOLDSTONE, J.V.; BAINY, A.C.D.; STEGEMAN, J.J. Identification of CYP genes in *Mytilus* (mussel) and *Crassostrea* (oyster) species: First approach to the full complement of cytochrome P450 genes in bivalves. **Mar. Environ. Res.**, v.69, p.S1-S3, 2010.

ZHANG, G., FANG, X., GUO, X., LI, L., LUO, R., XU, F., YANG, P., ZHANG, L., et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. **Nature**, v. 490, p. 49–54, 2012.

ZHANG, Y.; SUN, J.; MU, H.; LI, J.; ZHANG, Y.; XU, F.; XIANG, Z.; QIAN, P.; QIU, J.W.; YU, Z. Proteomic Basis of Stress Responses in the Gills of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. **J. Proteome Res.**, v. 14, p. 304–317, 2015.

ZHOU, Q.; ZHANG, J.; FU, J.; SHI, J.; JIANG, G. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chemical Acta**, v. 606, n. 2, p. 135–150, 2008.

ZIMMERMAN, A.W.; VEERKAMP, J.H. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 59, p. 1096–1116, 2002.

ZUYKOV, M.; PELLETIER, E.; HARPER, D.A.T. Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. **Chemosphere**, v. 93, p. 201–208, 2013.

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS INTRODUÇÃO GERAL

ABES-SC. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – Santa Catarina. **Saneamento em Santa Catarina x Investimento PAC**. 29p. 2008.

ABESSA, D.M.S. et al. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 8, p. 875-885, 2005.

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR (7229-1993).

ANGELL, C. L. The biology and culture of tropical oysters. **International Center for Living Aquatic Resources Management, Studies and Reviews**. Manila, Philippines, v. 13, p. 42, 1986.

ARMSTRONG, R.N. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. **Chem. Res. Toxicol**, v. 10, p. 2–18, 1997.

BAINY, A.C.D.; MARQUES, M.R.F. Global Analysis of Biomarker Responses in Aquatic Organisms Exposed to Contaminants. **Comments on Toxicology**, v. 9, n. 5-6, p. 271-278, 2003.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. Trad. Angeles M. 2.ed. Porto Alegre. Bookman. 2002.

BALNEÁRIO CAMBORIÚ. Prefeitura Municipal de Balneário Camboriú. **Plano Municipal de Saneamento Básico de Balneário Camboriú (PMSB)**. Balneário Camboriú, p. 35, 2012.

\_\_\_\_\_. Prefeitura Municipal de Balneário Camboriú. **Relatório de Impacto Ambiental – RIMA da Alimentação Artificial da Praia Central de Balneário Camboriú**. Balneário Camboriú, p.11, 2014.

BEEBY, A. What do sentinels stand for? **Environmental Pollution**, v. 112, n. 2, p. 285-298. 2001.

BERKHOLZ, D.S; FABER, H.R.; SAVVIDES, S.N.; KARPLUS, P.A. Catalytic cycle of human glutathione reductase near 1 Å resolution.

**Journal of Molecular Biology**, v.382, p. 371-384, 2008.

BÍCEGO, M. C. **Alguns aspectos sobre a degradação fotoquímica e a deterioração de hidrocarbonetos de petróleo no ambiente marinho**. Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

BISHOP, P.L. **Marine Pollution and its Control**. New York. McGraw-Hill.p. 358.1983.

BITTENCOURT, A. **Avaliação da transcrição diferencial de genes alvo em *Crassostrea brasiliiana* expostas in situ no manguezal do Itacorubi, Florianópolis, SC**. 2013. 81 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) -Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

BOARD, P.G.; COGGAN, M.; CHELVANAYAGAM, G.; EASTEAL, S.; JERMIIN, L.S.; SCHULTE, G.K.; DANLEY, D.E.; HOTH, L.R.; GRIFFOR, M.C.; KAMATH, A.V.; ROSNER, M.H.; CHRUNYK, B.A.; PERREGAUX, D.E.; GABEL, C.A.; GEOGHEGAN, K.F.; PANDIT, J. Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. **The Journal of biological chemistry**, v. 275 n. 32, p. 24798-806, 2000.

BOLONG, N.; ISMAIL, A.; SALIM, M.; MATSUURA, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, n. 1-3, p. 229-246. 2009.

BOUAYED, J.; BOHN, T. Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 3, n. 4, p. 228-237, 2010.

BOUTET, I; TANGUY, A.; MORAGA, D. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. **Gene**, v. 329 p. 147–157, 2004.

BRAGA, E.S.; BONETTI, C.; BURONE, L.; BONETTI FILHO, J. Eutrophication and Bacterial Pollution Caused by Industrial and Domestic Wastes at the Baixada Santista Estuarine System-Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 2, p. 165–173, 2000.

BRASIL. Decreto Presidencial nº 4.895, de 22 de novembro de 2003. **Dispõe sobre a autorização de uso de espaços físicos de corpos d'água de domínio da União para fins de aquicultura, e dá outras providências.** Em:

[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2003/D4895.htm#art21](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2003/D4895.htm#art21).

Acesso em 14/05/2015.

BURMEISTER, C.; LÜERSEN, K.; HEINICK, A.; HUSSEIN, A.; DOMAGALSKI, M.; WALTER, R.D.; LIEBAU, E. Oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*: protective effects of the Omega class glutathione transferase (GSTO-1). **The FASEB Journal**, v. 22, n. 2, p. 343-54, 2008.

BURSZTYN, M; BURSZTYN, M.A. **Fundamentos de política e gestão ambiental: os caminhos do desenvolvimento sustentável.** Rio de Janeiro: Garamond Ltda, 612 p. 2012.

CAJARAVILLE, M.P.; BEBIANNO, M.J.; BLASCO, J.; et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, v. 247, n. 2-3, p. 295–311, 2000.

CALISI, A.; LIONETTO, M.G.; CARICATO, R. Morphometric alterations in *Mytilus galloprovincialis* granulocytes: a new biomarker. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 27, p. 1435–1441, 2008.

CALLISTO, M; GONÇALVES, J.F. J.; MORENO, P. **Invertebrados Aquáticos como Bioindicadores.** Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Ecologia de Bentos, Belo Horizonte, MG, 2003.

CAMACHO, R.X.S. **Análise do Método do Programa Quality Coast: Estudo de Caso no Município de Balneário Camboriú, SC.** 2010. 131p. Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI, Itajaí, 2010.

CANESI, L.; CIACCI, C.; BETTI, M.; SCARPATO, A.; CITTERIO, B.; PRUZZO, C. ET AL. Effects of PCB congeners on the immune function of *Mytilus* hemocytes: alterations of tyrosine kinase-mediated cell signaling. **Aquatic Toxicol**, v. 63, p. 293–306, 2003.

CAVALLI, R.O.; FERREIRA, J. F. O futuro da pesca e da aquicultura no Brasil: a maricultura. **Cien. Cult.** v. 62, n. 10, p. 38-39, 2010.

CHAPMAN, R. W.; MANCIA, A.; BEAL, M.; et al. The transcriptomic responses of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, to environmental conditions. **Molecular ecology**, v. 20, n. 7, p. 1431–49, 2011.

CHOI, C.Y.; AN, K.W.; AN, M.I. Molecular characterization and mRNA expression of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase during osmotic stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Comp. Biochem. Physiol.** v. 149, p. 330–337. 2008.

CONAMA. **CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE.** Brasil. Resolução nº357, 17 de março de 2005.

COSTA, S.W. da; GRUMANN, A.; OLIVEIRA NETO, F.M. de. ROCKZANSKI, M. **Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: Aquicultura e Pesca.** EPAGRI. Boletim Técnico, v. 97, 62p, 1998.

DOS REIS, I.M.M.; MATTOS, J.; GARCEZC, R.C.; ZACCHI, F.L.; MIGUELÃO, T.; FLORES-NUNES, F.; TOLEDO-SILVA, G.; SASAKI, S.T.; TANIGUCHI, S.; BÍCEGO, M.C.; CARGNIN-FERREIRA, E.; BAINY, A.C.D. Histological responses and localization of the cytochrome P450 (*CYP2A11*) in *Crassostrea brasiliana* exposed to phenanthrene. **Aquatic Toxicology**, v. 169, p. 79–89, 2015.

EGANHOUSE, R.P.; BLUMFIELD, D.L.; KAPLAN, I.R. Long-chain alkylbenzenes as molecular tracers of domestic wastes in the marine environment. **Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 9, p. 523-530, 1983.

EISLER, R. Polychlorinated Biphenyl Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review. **Contaminant Hazard Reviews Biological Reporter**, v. 85, n. 7, 1986.

EMASA. EMPRESA MUNICIPAL DE ÁGUA E SANEAMENTO. **Diagnóstico do Plano Municipal de Saneamento Básico de Balneário Camboriú.** 2012.

EPAGRI. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa

Catarina. **Síntese Informativa da Maricultura 2011**, 9p. 2012.

\_\_\_\_\_. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese Informativa da Maricultura 2012**, 7p. 2012.

\_\_\_\_\_. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese Informativa da Maricultura 2013**, 7p, 2014.

\_\_\_\_\_. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese Informativa da Maricultura 2014**, 8p, 2015.

ESTEVES, A.; EHRLICH, R. Invertebrate intracellular fatty acid binding proteins. Comparative biochemistry and physiology. **Toxicology & pharmacology : CBP**, v. 142, n. 3-4, p. 262–74, 2006.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Selected papers on mollusc culture. **FAO**. Roma, 1990.

\_\_\_\_\_. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. Enfoque ecosistémico a la acuicultura: Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable, v. 5, ed. 4. Roma, **FAO**. 35p. 2011.

\_\_\_\_\_. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The State of World Fisheries and Aquaculture. Opportunities and challenges. **FAO**. 80 p. 2014.

FARCY, E.; SERPENTINI, A.; FIÉVET, B.; LEBEL, J.M. Identification of cDNAs encoding HSP70 and HSP90 in the abalone *Haliotis tuberculata*: Transcriptional induction in response to thermal stress in hemocyte primary culture. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 146, n. 4, p. 540–550, 2007.

FERREIRA, J.F.; SILVA, F.C.; GOMES, C.H.A.M; FERREIRA, F.M. Produção programada e rastreabilidade de larvas e sementes de

moluscos em SANTA CATARINA. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, p.1992-1997. 2011.

FLORES, L.C.S.; CAVALCANTE, L.S.; RAYE, R.L. Marketing turístico: estudo sobre o uso da tecnologia da informação e comunicação nas agências de viagens e turismo de Balneário Camboriú (SC, Brasil). **Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo**, v. 6, n. 3, p. 322-339, 2012.

FLORES-NUNES, F. **Avaliação de respostas bioquímicas, moleculares e de expressão proteômica em ostras *Crassostrea gigas* expostas ao esgoto sanitário**. 2013. 183 p. Tese (Doutorado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2013.

FLORES-NUNES, F.; GOMES, T.; COMPANY, R.; MORAES, R.; SASAKI, S.; TANIGUCHI, S.; BICEGO, M.; MELO, C.; BAINY, A.; BEBIANNO, M. Changes in protein expression of pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed in situ to urban sewage. **Environ. Sci. Pollut. Res. Intern.** 2014. DOI 10.1007/s11356-014-3821-8.

FURUHASHI M.; HOTAMISLIGIL, G.S. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v.7, n.6, p. 489, 2008.

GODOI, A. F. *et al.* Fast chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aerosol samples from sugar cane burning. **Journal of Chromatography A**, v. 1027, n. 1-2, p. 49–53, 2004.

GOMES, R.P. **Transcrição de genes citocromo p450 em ostra *Crassostrea gigas***. 2014, 109 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GONÇALVES, F. B.; SOUZA, A. P. **Disposição oceânica de esgotos sanitários: história, teoria e prática**. Rio de Janeiro. 325 p., 1997.

GOSLING, E. **Bivalve Molluscs Biology**, Ecology, and Culture. Blackwell Publishing, Oxford, p.495, 2003.

GRIMMER, G. Environmental carcinogens polycyclic aromatic

hydrocarbons: chemistry occurrence, biochemistry, carcinogenicity, **CRC Press**, 1983.

GUPTA, S.C.; SHARMA, A.; MISHRA, M.; MISHRA, R.K.; CHOWDHURI, D.K. Heat shock proteins in toxicology: How close and how far? **Life Sciences**, v. 86, p. 377–384, 2010.

HAHN, M.E.; STEGEMAN, J.J. Regulation of cytochrome P4501A1 in teleosts: sustained induction of CYP1A1 mRNA, protein, and catalytic activity by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in the marine fish *Stenotomus chrysops*. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.127 p. 187–198, 1994.

HAYES, J.D.; FLANAGAN, J.U.; JOWSEY, V. Glutathione transferases. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** v. 45, p. 51–88, 2005.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press, 2007.

HANDSCHIN, C.; MEYER, U. A. Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors. **Pharmacol Rev.** v. 55, p. 649–673, 2003.

HIDRO K ENGENHARIA. Estudo de concepção da adequação e ampliação da estação de tratamento de esgoto do sistema de esgotamento sanitário do município de Balneário Camboriú. Florianópolis, 2007.

HÖEHR, N.F.; JÚNIOR, L.R.; KUBOTA, L.T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos electroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p.112-119, 2001.

HUGGETT, R; KIMERLE, R.; MEHRLE, P.; BERGMAN, H. **Biomarkers: biochemical, physiological e histological markers of anthropogenic stress**. SETAC, Lewis Publishers. 347p. 1992.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. United Nations Environment Programme - Oficina Regional para América Latina y el Caribe. **Relatório Perspectivas do Meio Ambiente para o Brasil – GEO Brasil 2002**. Brasília: IBAMA, v. 1, 447p, 2002.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico -2010**. Rio de Janeiro, p.1-239, 2010.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores Desenvolvimento Sustentável Brasil 2010**. Rio de Janeiro, 2010.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores de desenvolvimento sustentável - 2015**. Rio de Janeiro, 352p. 2015.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estimativas da população residente no brasil e unidades da federação com data de referência em 1º de julho de 2015**. Em: [www.ibge.gov.br/home/estatistica/estimativas2015](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/estimativas2015).

IBUSP. **Textos Educativos: Costões rochosos**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2011.

ICES - INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE EXPLORATION OF THE SEA. **Biological effects of contaminants: Quantification of  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity in fish blood**. By K. Hylland. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, Copenhagen, n. 34, 9 p., 2004.

ICES. **Report of the Study Group on Integrated Monitoring of Contaminants and Biological Effects (SGIMC)**, 14–18 March 2011, Copenhagen, Denmark. 2011.

INPH. Instituto de Pesquisas Hidroviárias. **Estudos para o engordamento da praia de Balneário Camboriú - SC**. Rio de Janeiro: Divisão de Engenharia Hidráulica – DIENGH. 55p. 2000.

ITIS. Integrated Taxonomic Information System. <http://www.itis.gov/index.html>.

IVARSSON, Y.; MACKEY, A.J.; EDALAT, M.; PEARSON, W.R.; MANNERVIK, B. Identification of residues in glutathione transferase capable of driving functional diversification in evolution. A novel approach to protein redesign. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 8733–8738, 2003.

JIANG, J.J.; LEE, C.L.; FANG, M. Emerging organic contaminants in coastal waters: Anthropogenic impact, environmental release and ecological risk. **Marine Pollution Bulletin**, 2014.

KALMAR, B.; GREENSMITH, L. Induction of heat shock proteins for protection against oxidative stress, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, n. 4, p. 310–318, 2009.

KARAKAS, S.E.; ALMARIO, R.U.; KIM, K. Serum fatty acid binding protein 4, free fatty acids, and metabolic risk markers. **Metabolism**, v. 58, n. 7 p. 1002–1007, 2009.

KAUFFMAN, F.C. Sulfonation in pharmacology and toxicology. **Drug Metab. Rev.**, v. 36, p. 823–843, 2004.

KENNISH, M.J. **Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects**. London: CRC Press, p. 494, 1991.

KIMBROUGH, K; JOHNSON, W.E.; LAUENSTEIN, G.G.; CHRISTENSEN, J.D.; APETI, D.A. **An assessment of two decades of contaminant monitoring in the nation's coastal zone**, in: NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS, Silver Spring, MD, 105p, 2008.

KUROSHIMA, K.N.; BELLOTTO, V.R.; BARREIROS, M.A.B.; CHEVARRIA, G.G. Elaboração de um índice para monitoramento da qualidade de água na Enseada de Camboriú-SC. In: Anais do III Simpósio sobre Oceanografia -IOUSP. 1996.

KUROSHIMA, K.; BARREIROS, M.A.B.; RÖRIG, L.R.; SCHERER, P.F.; TERNES, C.F.; FASANARO, R.; SCHROEDER, R.A. & L. RIBEIRO. **Avaliação das Características Físicas e Químicas da Enseada de Camboriú-SC. Brasil**. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre. PUC (1 C.D.) 9p, 2000.

LAFONT, R.; MATHIEU, M. Steroids in aquatic invertebrates. **Ecotoxicology**, v. 16, p. 109–130, 2007.

LAPÈGUE, S., BOUTET, I., LEITÃO, A., HEURTEBISE, S., GARCIA, P., THIRIOTUIE-VREUX, C., E BOUDRY, P. Trans-

Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. **Biological Bulletin**, v. 202 p. 232-242, 2002.

LAYER, G.; REICHELDT, J.; JAHN, D.; HEINZ, D.W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. **Protein Science**, v. 19, p. 1137-1161, 2010.

LAZOSKI, C.; GUSMÃO, J.; BOUDRY, P.; SOLÉ-CAVA, A.M. 2011 Phylogeny and phylogeography of Atlantic oyster species: evolutionary history, limited genetic connectivity and isolation by distance. **Marine Ecology**, v. 426, p. 197–212, 2011.

LEGAT, A.P. **Anestesia e hibridação experimental em laboratório de espécies do gênero *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae)**. 2015. 112 p. Tese (Doutorado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

LOPEZ-BAREA J.; PUEYO, C. Mutagen content and metabolic activation of promutagens by molluscs as biomarkers of marine pollution. **Mutat Res-Fund Mol M.** v. 399, n. 1, p. 3–15, 1998.

LOVATELLI, A.; FARÍAS, A.; URIARTE, I. **Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina**. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. 359p. 2007.

LÜCHMANN, K.H.; MATTOS, J.J.; SIEBERT, M.N.; et al. Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliensis* following exposure to diesel fuel water accommodated fraction. **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 3-4, p. 652–60, 2011.

LÜCHMANN, K.H. **Respostas bioquímicas e moleculares em ostras do mangue, *Crassostrea brasiliensis*, expostas a diferentes contaminantes ambientais**. 2012. 178 p. Tese (Doutorado em Bioquímica), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2012.

LÜCHMANN, K.H.; DAFRE, A.L.; TREVISAN, R.; CRAFT, J.A.; MENG, X.; MATTOS, J.J.; ZACCHI, F.L.; DORRINGTON, T.S.; SCHROEDER, D.C.; BAINY, A.C.D. A light in the darkness: New biotransformation genes, antioxidant parameters and tissue-specific responses in oysters exposed to phenanthrene. **Aquat. Toxicol**, v. 162, p. 324–334, 2014.

LÜCHMANN, K.H.; CLARK, M.S.; BAINY, A.C.D.; GILBERT, J.A.; CRAFT, J.A.; CHIPMAN, J.A.; THORNE, M.A.S.; MATTOS, J.J.; SIEBERT, M.N.; SCHROEDER, D.C. Key metabolic pathways involved in xenobiotic biotransformation and stress responses revealed by transcriptomics of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana*. **Aquatic Toxicology**, v. 166, p. 10–20, 2015.

LUSHCHAK, L.; SEMCHYSHYN, H. **Oxidative Stress**. In: Molecular Mechanisms and Biological Effects. Dr. Volodymyr Lushchak (Ed.), InTech, v. 1, p. 1-11, 2012.

MACEDO, R.S.; RÖRIG, L.R.; URBAN, S.R.; CASTRO-SILVA, M.A. da; PEREIRA-FILHO, J. Avaliação do efeito das águas superficiais dos estuários dos rios Camboriú e Itajaí-açu sobre o crescimento da diatomácea *Skeletonema costatum*. **Brazilian Journal Aquatic Science Technology**, v. 9 n. 2, p. 9-15, 2005.

MANDUZIO, H.; ROCHER, B.; DURAND, F.; GALAP, C.; LÉBOULENGER, F. The point about oxidative stress in molluscs. **Invertebrate Surviv J.**, v. 2, p. 91–104, 2005.

MANZONI, G.C. **Cultivo de Mexilhões *Perna perna*: Evolução da atividade no Brasil e avaliação econômica da realidade de Santa Catarina**, 2005. Tese de Doutorado em Aquicultura, Centro de Aquicultura-CAUNESP. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 255 p. 2005.

MARIGOMEZ, I. et al, Cellular and subcellular distribution of metals in mollusks, **Microscopy Research and Technique**, v. 56, n. 5, p. 358–392, 2002.

MARTÍNEZ, P.; FIGUERAS, A. **Genética y genómica en acuicultura**. Madrid, Mundi Prensa, v. 2, n. 1, p. 551-559, 2012.

MARTINS, C. C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhas de sedimento do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho.** Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia do Instituto Oceanográfico de Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MARTINS, C.C.; BRAUN, J.A.F.; SEYFFERT, B.H.; MACHADO, E.C.; FILMANN, G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). **Mar. Pollut. Bull.** v. 60, p. 2137-2143, 2010.

MARTINS, C.C.; CABRAL, A.C.; BARBOSA-CINTRA, S.C.T.; DAUNER, A.L.L.; SOUZA, F.M. An integrated evaluation of molecular marker indices and linear alkylbenzenes (LABs) to measure sewage input in a subtropical estuary (Babitonga Bay, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 188, p. 71-80, 2014.

MEDEIROS, A.O. et al. **Microbial Quality of Freshwater Ecosystems of South America.** In: Water Quality: Physical, Chemical and Biological. Editor: Kudert Ertuo and Ilker Mirza. Nova Science Publishers, 2009.

MEDEIROS, I.D. **Expressão gênica diferencial em ostras *Crassostrea gigas* expostas a esgoto doméstico.** 2008. Tese de Doutorado. Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Ciências Biológicas, Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, 128 p., 2008.

MEDEIROS, I.D.; SIEBERT, M.N.; TOLEDO-SILVA, G.; MORAES, M.O.; MARQUES, M.R.F.; BAINY, A.C.D. Differential gene expression in oyster exposed to sewage. **Mar. Environ. Res.**, v. 66, p. 156–157, 2008 (a).

MEDEIROS, I. D.; SIEBERT, M. N.; TOLEDO-SILVA, G.; et al. Induced gene expression in oyster *Crassostrea gigas* exposed to sewage. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 26, n.3, p. 362–365, 2008 (b).

MEISTER A.; ANDERSON M.E. Glutathione. **Ann. Rev. Biochemistry**, v. 52, p. 711-760, 1983.

MELO, C.M.R.; SILVA, F.C.; GOMES, C.H.A.M.; SOLÉ-CAVA, A.M.; LAZOSKI, C. ***Crassostrea gigas* in natural oysters Banks in southern Brazil**. Biol. Inv. v. 12, p. 441-449, 2010.

MIGUELÃO, T. **Respostas transcricionais no manto de ostras do mangue, *Crassostrea brasiliiana* exposta a fenantreno**. 2014, 82 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Programa de Pós-graduação em Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

MINISTERIO DAS CIDADES. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. **Plano Nacional de Saneamento Básico – PNSB - 2013**. 173p. 2014.

\_\_\_\_\_. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2013**. 181 p., 2014.

MONTEIRO, D.; ALMEIDA, J.; RANTIN, F.; KALININ, A. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). **Comp Biochem Physiol C**, v. 143, p. 141-149, 2006.

MONTIBELLER, G. F. Maricultura e Meio Ambiente. **Textos de Economia**, v. 8 n. 1, p. 193-206, 2002.

MONTONE, R.C. **Determinação de bifenilos policlorados (PCBs) no ambiente antártico marinho**, 1995. 98 p. Tese (Doutorado em Química Analítica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1995.

MOREIRA, A.M.O. **Frequência dos polimorfismos genéticos ALAD (MspI) e VDR (BsmI), envolvidos na toxicocinética do Chumbo, numa população portuguesa**. 2010. Dissertação de Mestrado em Contaminação e Toxicologia Ambientais, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. Porto, 127p. 2010.

MPA. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Mapas de Licitação de Parques Aquícolas Santa Catarina não onerosas**. 2011.

\_\_\_\_\_. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA, Brasil. **Boletim**

**Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011**. Brasília. 60 p., 2013.

\_\_\_\_\_. **MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Panorama da Pesca e Aquicultura no Brasil – 2014**. v. 1, 129 p. 2014.

MUNRO, A.W.; GIRVAN, H.M.; MCLEAN, K.J.; CHEESMAN, M.R.; LEYS, D. Heme and hemoproteins. In: Warren MJ, Smith AG, Eds. (2009) *Tetrapyrroles: birth, life and death*. Austin: **Landes Bioscience**, p. 160–183, 2009.

MURRAY, R.K. **Metabolismo de xenobióticos**. In: MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. (Org.). Harper: *Bioquímica ilustrada*. 26. ed. São Paulo: Atheneu, p. 626-632, 2006.

NAKATA, H.; SHINOHARA R.; NAKAZAWA, Y.; ISOBE, T.; SUDARYANTO, A.; SUBRAMANIAN, A.; TANABE, S.; ZAKARIA, M.P.; ZHENG, G.J., et al. Asia–Pacific mussel watch for emerging pollutants: Distribution of synthetic musks and benzotriazole UV stabilizers in Asian and US coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 10, p. 2211-2218, 2012.

NAKATA, H.; UEHARA, K.; GOTO, Y.; FUKUMURA, M.; SHIMASAKI, H.; TAKIKAWA, K.; MIYAWAKI, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs, dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 99, p. 61–68, 2014.

O’CONNOR, T. National distribution of chemical concentrations in mussels and oysters in the USA. **Mar. Environ.** v. 53, p. 117–143, 2002.

OECD-FAO. Organization for Economic Co-operation and Development - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2014**. v. 1, p. 191-201, 2014.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. **Mutation Research**, v.567, p. 109–149. 2004.

OKEY, A.B. Enzyme induction in the cytochrome P-450 system. **Pharmacol Ther**, v. 45, p. 241-298, 1990.

PENTEADO, J.C.P.; EL SEOUD, O. A.; CARVALHO, LR.F. Linear alkylbenzene sulfonates: chemistry environmental impact and analysis. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1038-1046, 2006.

PEREIRA, C.D.S.; ABESSA, D.M.; BAINY, A.C.D.; et al. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 462–469, 2007.

PEREIRA, C.D.S.; MARTÍN-DÍAZ, M.L.; CATHARINO, M.G.M.; CESAR, A.; CHOUERI, R.B.; TANIGUCHI, S.; ABESSA, D.M.S.; BÍCEGO, M.C.; VASCONCELLOS, M.B.A.; BAINY, A.C.D.; SOUSA, E.C.P.M.; DELVALLS, T.A. Chronic contamination assessment integrating biomarkers responses in transplanted mussels: a seasonal monitoring. **Environ. Toxicol.** v. 27, p. 257–267, 2012.

PETROVIC, M.; GONZALEZ, S.; BARCELO, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n.10, p.685-696, 2003.

PIAZZA, R.S. **Avaliação da transcrição de genes e respostas enzimáticas em ostra do pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) expostas a efluentes domésticos e depuradas.** 2012. 65p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

POPE, M.L; et al. Assessment of the Effects of Holding Time and Temperature on Escherichia coli Densities in Surface Water Samples. **Appl Environ Microbiol.** v. 69, n.10, p. 6201–6207, 2003.

RAMOS, C.; FERREIRA, J.; MELO, C. Maturation of native oyster *Crassostrea gasar* at different diets in the laboratory. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 107–120, 2013.

REIS, I.M.M. **Histopatologia e hibridação in situ de citocromo p450 (CYP2A1) em ostras *Crassostrea brasiliiana* expostas ao fenantreno.** 2014. 102p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura).

Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

REWITZ, K.; STYRISHAVE, B.; LØBNER-OLESEN, A.; ANDERSEN, O. Marine invertebrate cytochrome P450: emerging insights from vertebrate and insect analogies. **Comp. Biochem. Physiol. C.**, v.143, p.363-381, 2006.

RIBEIRO, A. **Desenvolvimento Sustentável: uma perspectiva econômica-ecológica.** Texto para Discussão, Instituto de Economia - UNICAMP, Campinas, v. 1, n. 195, p. 26, 2011.

RICCIARDI, F.; BINELLI, A.; PROVINI, A. Use of two biomarkers (CYP450 and acetylcholinesterase) in the zebra mussel for the biomonitoring of the Lake Maggiore (Northern Italy). **Ecotoxicological and Environmental Safety**, v. 63, p. 406-412, 2006.

RITTSCHOF D.; MCCLELLAN-GREEN P. Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 369–373, 2005.

ROBERTS, J.R.; RODGERS, D.W.; BAILEY, J.R.; RORKE, M.A. Polychlorinated biphenyls: biological criteria for an assessment of their effects on environmental quality. **Nat. Res. Coun.** Canada, n. 16077, p. 172, 1978.

ROCHER, B.; LE GOFF, J. ; PELUHET, L.; BRIAND, M.; MANDUZIO, H.; GALLOIS, V; DEVIER, M.H.; GEFFARD, O.; GRICOURT, L.; AUGAGNEUR, S.; BUDZINSKI, H.; POTTIER, D.; ANDRÉ, V. ; LEBAILLY, P.; CACHOT. J. Genotoxicant accumulation and cellular defence activation in bivalves chronically exposed to waterborne contaminants from the Seine River. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 1-12, p. 65–77, 2006.

ROCKZANSKI, M.; COSTA, S. W.; BOLL, M. G. & OLIVEIRA NETO, F.M. 2000. A evolução da aquicultura no estado de Santa Catarina – Brasil. **Anais do XI Aquicultura Brasil 2000.** Florianópolis, 9p, 2000.

RODRIGUES, M.A. A Gestão Ambiental e a Zona Costeira: Como operar nesta área complexa, onde se sobrepõem tantos usos e conflitos?

CEPSUL-IBAMA. **Contrapontos**. p. 2-11, 2003.

RODRIGUES, M.A. **Diagnóstico da malacocultura catarinense em apoio à gestão costeira: Subsídios ao zoneamento da atividade, ordenamento pesqueiro, licenciamento ambiental e a autorização de uso do espaço físico marinho em águas de domínio da União**. 2007. 478 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade de Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

RUPP, G.S., DE OLIVEIRA NETO, F.M. Y GUZENSKI, J. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en la región sudeste-sur de Brasil. En A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. **Taller Técnico Regional de la FAO**. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. n. 12. Roma, FAO. p. 77–89. 2008.

SACCO, J.C. **Phase II biotransformation of xenobiotics in polar bear (*Ursus maritimus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*)**. 2006. 170p. Tese (Doctor of Philosophy), University of Florida, Flórida, 2006.

SÁENZ, L.A.; SEIBERT, E.L.; ZANETTE, J.; FIELDER, H.D.; CURTIUS, A J.; FERREIRA, J.F.; ALMEIDA, E.A.; MARQUES, M.R.F.; BAINY, A.C.D. Biochemical biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. **Ecotox. Environ. Safe**, v.73, p.796–804, 2010.

SANTUR. **SECRETARIA DE TURISMO DO ESTADO DE SANTA CATARINA**. <http://turismo.sc.gov.br/cidade/balneario-camboriu>. Acesso 08/06/2015.

SCHÄFER, A. **Fundamentos de Ecologia e Biogeografia das Águas Continentais**. Porto Alegre: Ed. da Universidade UFRGS, 525p. 1984.

SCHERER, P.F. **Distribuição de nutrientes inorgânicos e bactérias no estuário do rio Camboriú/SC**. 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 2003.

SCHETTINI, C.A.F.; CARVALHO, J.L.B.; JABOR, P. Comparative Hydrology and Suspended Matter Distribution of Four Estuaries in Santa Catarina State – Southern 117 Brazil. Proceedings of **Workshop on Comparative Studies of Temperate Coast Estuaries**, p. 29-32. 1996.

SECTURBC. SECRETARIA DE TURISMO E DESENVOLVIMENTO ECONOMICO DE BALNEARIO CAMBORIU. **Revista de Turismo Balneário Camboriú**. v. 1, 56p, 2015.

SERAFIM, C.F S.; HAZIN, F. O ecossistema costeiro. **Geografia: o mar no espaço geográfico brasileiro**, 2005. Brasília.

SERAFIM, A.; LOPES, B.; COMPANY, R.; FERREIRA, A.M.; BEBIANNO, M.J. Comparative petroleum hydrocarbons levels on biochemical responses in mussels from hydrothermal vents (*Bathymodiolus azoricus*) and coastal environments (*Mytilus galloprovincialis*). **Marine Pollution Bulletin** v. 57, p, 529-537, 2008.

SERAFIM A.; LOPES B.; COMPANY R.; CRAVO A.; GOMES T.; SOUSA V.; BEBIANNO M.J. A multi-biomarker approach in cross-transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 8, p.1959-74, 2011.

SERRANO, M. A. S.; GONZALEZ-REY, M.; MATTOS, J.J.; FLORES-NUNES, F.; MELLO, Á.C.P.; ZACCHI, F.L.; PIAZZA, C.E.; SIEBERT, M.N.; PIAZZA, R.S.; ALVAREZ-MUÑOZ, D.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D.; BEBIANNO, M.J.; GOMES, C.H. A. M.; MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D. Differential gene transcription, biochemical responses, and cytotoxicity assessment in Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to ibuprofen. **Environ. Sci. Pollut. Res.** v. 22, n. 22, p. 17375-17385, 2015.

SHERBLOM, P.M.; GSCHWEND, P. M.; EGANHOUSE, R. P. Aqueous solubility, vapor pressure, and n-octanol-water partition coefficients for C9-179 C14 linear alkylbenzenes. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 37, p. 394-399, 1992.

SOARES, J. **La evolución de los destinos turísticos litorales consolidados. Un análisis comparado de Balneário Camboriú (Brasil) y Benidorm (España)**. 2012. 678p. Tesis de Doctorado.

Instituto Universitario de Investigaciones Turísticas de la Universidad de Alicante. Alicante, España. 2012.

SONG, L.; WU, L.; NI, D.; CHANG, Y.; XU, W.; XING, K. The cDNA cloning and mRNA expression of heat shock protein 70 gene in the haemocytes of bay scallop (*Argopecten irradians*, Lamarck 1819) responding to bacteria challenge and naphthalin stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 21, n. 4, p. 335–345, 2006.

SOUZA, D.S.M.S.; RAMOS, A.P.D.; NUNES, F.F.; MORESCO, V.; TANIGUCHI, S.; LEAL, D.A.G.; SASAKI, S.T.; BÍCEGO, M.C.; MONTONE, R.C.; DURIGAN, M.; TEIXEIRA, A.L.; PILOTTO, M.R.; DELFINO, N.; FRANCO, R.M.B.; MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D.; BARARDI, C.R.M. Evaluation of tropical water sources and mollusks in Southern Brazil using microbiological, biochemical and chemical parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p.153-161, 2012.

SOUZA, R.V. de; RUPP, G.S.; CAMPOS, C.J.A. de; LEE, R. **Moluscos bivalves: medidas de controle microbiológico para atender às exigências da União Europeia**. Florianópolis: Epagri, 48p, 2014.

SRIVASTAV, P. Roles of heat – shock proteins in innate and adaptive immunity. **Nature reviews immunology**, v. 2, n. 3, p. 185-194, 2002.

STEGEMAN, J.J., BROUWER, M., RICHARD, T.D.G., FÖRLIN, L., FOWLER, B.A., SANDERS, B.M., VAN VELD, P.A. **Molecular response to environmental contamination: enzyme and protein system as indicators of chemical exposure and effect**. In: Huggett, R.J., Kimerly, R.A., Mehrle, P.M., Jr., Bergman, H.L. (Eds.), *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological markers of Anthropogenic Stress*. Lewis Publishers, Chelsea, M.I., USA, p. 235-335, 1992.

SUN, Y.; YU, H.; ZHANG, J.; YIN, Y.; SHI, H.; WANG X. Bioaccumulation, depuration and oxidative stress in fish *Carassius auratus* under phenanthrene exposure. **Chemosphere**, v. 63, n. 6, p. 1319-1327, 2006.

STROTT. C.A. Steroid sulfotransferases. **Endocrin. Rev.**, v. 17, p. 670–697, 1996.

TAKADA, H.; EGANHOUSE, R. Molecular markers of anthropogenic waste: Their use in determining sources transport pathways and fate of wastes in the environment. In: MEYERS, R. (Ed.). **The Encyclopedia of environmental analysis and remediation**. New York: Wiley and Sons, p. 2883-2940, 1998.

TAPIERO, H., TEW, K.D. The importance of glutathione in human disease. *Biodedecine & Pharmacotherapy*, v. 57 p. 3-4, pp. 145-155, 2003.

TCE.TRIBUNAL DE CONTAS DE SANTA CATARINA. **Relatório do Sistema de Esgotamento Sanitário de Balneário Camboriú**. DAE-79/2010, Diretoria de Atividades Especiais, Florianópolis, 2010.

TIMBRELL, J.A. Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, v. 129, p. 1-12, 1998.

TIMBRELL, J.A. **Principles of Biochemical Toxicology**. Ed.Taylor & Francis, London, 2000.

TISCHER, V; ESPINOZA, E; MARENZI, R. Indicadores socioambientales aplicados en la gestión de ambientes costeros. Caso de estudio Santa Catarina, Brasil. Investigaciones Geográficas, **Boletín del Instituto de Geografía**, UNAM. n. 86, p. 53-66, 2015.

TOLEDO-SILVA, G.; SIEBERT, M. N.; MEDEIROS, I. D.; et al. Cloning a new cytochrome P450 isoform (CYP356A1) from oyster *Crassostrea gigas*. *Marine environmental research*, v.66, n. 1, p. 15-18, 2008.

TOLEDO-SILVA, G. **Análise da expressão gênica diferencial em ostras-do-pacífico *Crassostrea gigas* expostas a esgoto doméstico *in situ***. 2009. 98 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

TRATA BRASIL. **Ranking do Saneamento Instituto Trata Brasil resultados com base no SNIS 2013**. v. 1, 98p. 2015.

TREVISAN, R. **Mecanismos de defesas celulares relacionados a defesas antioxidantes e de biotransformação em mexilhões *Perna***

**perna e ostras *Crassostrea gigas* expostas a agentes oxidantes e eletrofilicos.** 2014. Tese (Doutorado em Bioquímica). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

TREVISAN, R., DELAPEDRA, G., MELLO, D.F., ARL, M., SCHMIDT, E.C., MEDER, F., MONOPOLI, M., CARGNIN-FERREIRA, E., BOUZON, Z.L., FISHER, A.S., SHEEHAN, D., DAFRE, A.L. Gills are an initial target of zinc oxide nanoparticles in oysters *Crassostrea gigas*, leading to mitochondrial disruption and oxidative stress. **Aquat. Toxicol.** 153, 27–38, 2014.

TREVISAN, R.; FLORES-NUNES, F.; DOLORES, E.; MATTOS, J.; PIAZZA, C.; SASAKI, S.; TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.; BICEGO, M.; DOS REIS, I.; ZACCHI, F.; OTHERO, B.; BASTOLLA, C.; MELLO, D.; FRAGA, A.P.; WENDT, N.; TOLEDO-SILVA, G.; RAZZERA, G.; DAFRE, A.; MELO, C.; BIANCHINI, A.; MARQUES, M.; BAINY, A. Thiol oxidation of hemolymph proteins in oysters *Crassostrea brasiliensis* as markers of oxidative damage induced by urban sewage exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2016.

UN-HABITAT. United Nations Human Settlements Programme (UN-HABITAT), **State of the world's cities 2008/2009: Harmonious Cities.** Earthscan Publ., London, U.K. / Sterling, VA, U.S.A. v. 62, 259p, 2008.

UNO, T.; ISHIZUKA, M.; ITAKURA, T. Cytochrome P450 (CYP) in fish. **Environ. Toxicol. Pharmacol**, v. 34, p. 1–13, 2012.

URQUHART, B.L. et al. Implications for Interindividual Variability in Response to Drugs Nuclear Receptors and the Regulation of Drug-Metabolizing Enzymes and Drug Transporters. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, p. 566-578, 2007.

VARELA, E. S., BEASLEY, C. R., SCHNEIDER, H., SAMPAIO, I., MARQUES-SILVA, N. S. E TAGLIARO, H. Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. **Journal of Molluscan Studies**, v. 73 p. 229-234, 2007.

VIARENGO, A.; CANESI, L. **Mussels as biological indicators of pollution**. *Aquaculture*. v. 94, p. 225–243. 1991.

VIARENGO, A.; LOWE, D.; BOLOGNESI, C.; FABBRI, E.; KOEHLER, A. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. **Comp. Biochem. Physiol**, v. 146C, p. 281–300, 2007.

WALKER, C. H.; SIBLY, R. M.; HOPKIN, S. P.; PEAKALL, D. B. **Principles of Ecotoxicology**. London: Taylor & Francis Publishing, 1996.

WANG, L.; YANG, C.; SONG, L. The molluscan HSP70s and their expression in hemocytes. **ISJ**, v. 10, p. 77-83, 2013.

WAN, Q.; WHANG, I.; LEE, J.S.; LEE, J. Novel omega glutathione S-transferases in disk abalone: Characterization and protective roles against environmental stress. **Comparative Biochemistry and Physiology. C**, v. 150, n. 4, p. 558–568, 2009.

WASSERMANN, J. C. **Plano local de desenvolvimento da Maricultura do Estado do Rio de Janeiro (PLDM/RJ)**, 2007.

WESTERHEIDE, S.D.; MORIMOTO, R.I. Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 39, p. 33097–33100, 2005.

WETMUR, J.; BISHOP, D.; CANTELMO, C.; DESNICK, R. J. Human d-Aminolevulinatase Dehydratase: Nucleotide Sequence of a Full-length cDNA Clone. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 83, n. 20, p. 7703-7701, 1986.

WOOD, L.G.; SCOTT, H.A.; GARG, M.L.; GIBSON, P.G. Innate immune mechanisms linking non-esterified fatty acids and respiratory disease. **Prog Lipid Res**, v. 48, p. 27-43, 2009.

WORLD BANK. **Fish to2030: prospects for fisheries and aquaculture**. Report N. 83177-LB. Washington, DC. v. 1, 80p. 2013.

WWF. World Wild Life. **Bivalve Aquaculture Dialogue Standards**. v.

1, 5p., 2010.

ZACCHI, F.L. **Respostas bioquímicas e moleculares em *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) coletadas em duas baías do Sul do Brasil.** 2013. 104p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

ZAMEK-GLISZCZYNSKI, M.J. et al. Integration of Hepatic Drug Transporters and Phase II Metabolizing Enzymes: Mechanisms of Hepatic Excretion of Sulfate, Glucuronide, and Glutathione Metabolites. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, pp. 447–486, 2006.

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 2, p. 187-195. 2006.

ZANETTE, J. **Identificação e caracterização de marcadores moleculares para estudos ecotoxicológicos em moluscos bivalves e peixes**, 2009. 172 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

ZANETTE, J.; GOLDSTONE, J.V.; BAINY, A.C.D.; STEGEMAN, J.J. Identification of CYP genes in *Mytilus* (mussel) and *Crassostrea* (oyster) species: First approach to the full complement of cytochrome P450 genes in bivalves. **Mar. Environ. Res.** v. 69, p.S1-S3, 2010.

ZHANG, G., FANG, X., GUO, X., LI, L., LUO, R., XU, F., YANG, P., ZHANG, L., et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. **Nature**, v. 490, p. 49–54, 2012.

ZHANG, Y.; SUN, J.; MU, H.; LI, J.; ZHANG, Y.; XU, F.; XIANG, Z.; QIAN, P.; QIU, J.W.; YU, Z. Proteomic Basis of Stress Responses in the Gills of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. **J. Proteome Res.**, v. 14, p. 304–317, 2015.

ZUYKOV, M.; PELLETIER, E.; HARPER, D.A.T. Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. **Chemosphere**, v. 93, p. 201–208, 2013.