

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

ANÁLISE TEMPORAL DA RESPOSTA DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E DO NÍVEL DE METAIS TRAÇOS NA OSTRA NATIVA *Crassostrea rhizophorae*, (GUILDING, 1828) CULTIVADAS NO COMPLEXO ESTUARINO DE LAGUNA, SC

Mestrando: Oc. Franklin R. A. S. Lopes  
Orientador: Profa. Dra Maria Risoleta F. Marques  
Co-Orientador: Prof. Dr. Afonso C.D. Bainy

**Florianópolis  
2002**

Lopes, Franklin Rodolfo Aguiar Silveira

Análise temporal da resposta de biomarcadores bioquímicos e do nível de metais traços na ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, (Guilding, 1828) cultivadas no complexo estuarino de Laguna, SC

48 páginas

Dissertação de Mestrado em Aqüicultura. Centro de Ciência Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

2001

Orientadora: Maria Risoleta F. Marques

Co-orientador: Prof. Dr. Afonso C.D. Bainy

Palavras chaves: biomarcadores; ostras; metais

**Análise temporal da resposta de biomarcadores bioquímicos e do nível de metais traços na ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, (Guilding, 1828) cultivadas no complexo estuarino de Laguna, SC.**

Por

FRANKLIN RODOLFO AGUIAR SILVEIRA LOPES

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 Aqüicultura.

---

Prof. Jaime Fernando Ferreira, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dra. Maria Risoleta Freire Marques - *Orientadora*

---

Dr. Alcir Luiz Dafre

---

Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana

## Agradecimentos

Este agradecimento começou antes do fim deste trabalho, antes de escrever, de acabar de ler e acertar a parte estatística deste trabalho, começou a partir dos resultados brutos e assim gostaria de agradecer aos meus tios e a minha família.

Existiram condições especiais para realizar este trabalho, o esmero e profissionalismo das pessoas da EPAGRI com quem trabalhei, especialmente do Sr. Sergio Wincler da Costa e toda a comunidade envolvida no município de Laguna, especialmente do Presidente da comunidade de pescadores Sr. Noerts e a Secretaria de Agricultura da Prefeitura de Laguna por ter auxiliado neste projeto, pelo apoio dos técnicos Pedro e Jeferson. Obrigado pessoal.

Quanto ao laboratório existem muitas coisas que gostaria de agradecer, mas a primeira vai ser para as mulheres, eu gostei muito de trabalhar com elas Existiu a suavidade para falar, o sorriso meigo, e não vi nenhuma discussão durante todo este tempo, realmente uma maravilha, que vou até falar os nomes: a pequena Taise, a delicada Poliana, Isabel e seu sorriso A Daniela Power pró, Eliana, a mãe de todas Riso, a nova geração Lucélia que se foi, Fernanda, Anna a Manuela, a Juliana e a Angela.

Por sua vez, os homens é totalmente diferente, ao teimoso Juliano, ao positivista Manuel, ao sorridente Glauber, ao Rafael que sumiu sem dar pistas aquele tapinha nas costas pessoal.

A meu chefe gostaria de colocar em metáforas meus agradecimentos, eu já vi muitos habitantes da torre de marfim e suas falsas medidas, mas nunca vi ninguém grato pela situação que se encontra, e ele é bom pesquisador. Eu agradeço pela sua tolerância com todos mas especificamente por mim, me perdoe por tanta bobagem que falei, quanto mais leio mais percebo que meu campo foi mais especulativo, filosófico que científico.

Aos homens do mar que aportaram nesta ilha e deram guia ao caminho Luiz Magô, César Capi, Renato, Fluido, Liliam, Pieter. Suzana e a única mulher habitantes deste mares Gabriela

Queria agradecer aos meus antepassados que foram escravos neste país, que viviam com medo da separação e da dor, aos inconformados que morreram de banzu, o lamento triste que levava a morte, aos rebeldes que foram levados gentilmente ao tronco, aos corajosos considerados criminosos que arriscavam a vida para chegar aos quilombos, a criatividade que levou à capoeira, agradecer aos milhões de negros e mulatos, mestiços pois nós carregamos o mesmo sangue. Possa este agradecimento se transformar na aceitação e perdão por nossos medos e desejos nos dias de hoje para que os brancos, os negros, mestiços, índios, amarelos todos sem exceção se libertem deste sentimento de separação, percebendo que tudo é um.

Ó minha rainha, a minha esperança é que a minha felicidade seja a sua felicidade e a sua felicidade seja a minha felicidade e assim possamos crescer juntos em direção a bem aventura, possamos assim na mais completa liberdade ainda permanecer juntos aprendendo um com os olhos do outro e sem peso sem obrigações simplesmente nos alegrarmos em cada encontro.

LISTA DE ABREVIATURAS

---

AChE	Acetilcolinesterase
Ag	Prata
As	Arsênio
AtChI	Iodeto de acetiltiocolina
Bar	Barranceira
CAT	Catalase
Cd	Cádmio
CDNB	1-cloro 2,4 dinitrobenzeno
Cr	Cromo
CV	Campos Verdes
Cu	Cobre
DTT	Ditiotreitol
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
GPx	Glutaciona peroxidase
GST	Glutaciona S-transferase
GR	Glutaciona redutase
Hg	Mercúrio
Mn	Manganês
mM	miliMolar
MG	Morro Grande
mU	miliUnidades
NADPH	Nicotinamida Adenina dinucleotídeo fosfato: forma reduzida
Ni	Níquel
NTB	Íon nitrotiobenzoato
Pb	Chumbo
PMSF	Fluoreto de Fenilmetilsulfonil
SAL	Santo Antonio de Lisboa
Se	Selênio

SOD	Superoxido dismutase
SM	Santa Marta
ton	Tonelada
V	Vanádio
Zn	Zinco
$\mu\text{mol}$	micromol

FIGURAS E TABELAS

---

Fig. 1 Mapa da região de estudo. SAL-Santo Antonio de Lisboa, Bar. – Barranceira, MG.- Morro Grande, SM.- Santa Marta.

Fig. 2 Comprimento das ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae* coletadas nas regiões de cultivo em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril e destinadas para as análises bioquímicas. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos respectivamente.

Fig.3 Atividades das enzimas acetilcolinestrerase(AChE), Catalase(CAT) e glutathione s-transferase (GST) nas brânquias das ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos respectivamente.

Fig. 4 Determinação dos metais traços nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

Fig. 5. Determinação dos metais traços nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

Fig. 6 Determinação dos metais traços nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

Tab I Análise de parâmetros físico-químicos do meio aquático no momento da coleta.

Tab. II Certificação das determinações dos metais.

## Resumo

Visando implementar a utilização de biomarcadores de contaminação aquática com a ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* no estado de Santa Catarina, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade das enzimas catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) e acetilcolinesterase (AChE) nas brânquias de animais cultivados durante 7, 9 e 11 meses em três locais no complexo estuarino lagunar (Barranceira, BAR; Morro Grande, MG; Santa Marta, SM) em Laguna, SC e em uma região referência (Santo Antônio de Lisboa, SAL) no município de Florianópolis, SC, bem como determinar a concentração de metais-traço (As, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb, Sn, V e Zn) nas partes moles destes mesmos animais. No complexo lagunar, foram encontrados níveis mais elevados para os metais Cd, Cu, Zn e Mn em todos os períodos de estudo, sendo que para o metal traço Mn, as maiores concentrações foram observadas somente em SM, nos períodos correspondentes a 7, 9 e 11 meses de cultivo, e em BAR no período de 11 meses. As atividades da CAT, GST e AChE foram maiores na região referência SAL nos períodos de 9 e 11 meses de cultivo, quando comparadas àquelas determinadas para as ostras cultivadas nas diferentes unidades da região do complexo estuarino no mesmo período. Nos períodos de 7 e 11 meses, as concentrações mais elevadas de metais-traço Cd, Cu, Mn e Zn nas partes moles dos animais foram associadas a uma menor atividade das enzimas estudadas. A ausência de diferença de atividade da CAT e GST entre a região referência e os pontos do complexo lagunar no período de 9 meses foi associada às diferentes necessidades de osmoconformação entre os animais, uma vez que o maior índice pluviométrico foi observado dez dias antes da coleta deste período, fato que contribuiu para a diminuição da salinidade em todos os pontos de coleta em relação ao período anterior. Por outro lado, outros fatores podem estar relacionados com as atividades enzimáticas encontradas, uma vez que as maiores atividades destas enzimas estão associadas às maiores salinidades apontadas na região referência e aos maiores comprimentos dos animais, e ainda, às maiores concentrações dos metais As, Cr, Sn e V nas partes moles dos animais na região referência no período de 7 meses. Considerando que a influência dos fatores ambientais, dos fatores endógenos e da biodisponibilidade de metais traço sobre os mecanismos bioquímicos que modulam a atividade das enzimas biomarcadoras é ainda pouco conhecida, a necessidade de estudos sobre estes parâmetros é enfatizada. Desta forma, a ausência de variação na atividade das enzimas analisadas ao longo do experimento nas unidades do complexo estuarino de Laguna poderia ser interpretada dentro de um contexto molecular integrado, visando não só compreender a inter-relação destes parâmetros e as necessidades de osmoconformação dos animais, como também otimizar o uso de biomarcadores nesta espécie de molusco.

## Abstract

In order to establish the use of biochemical biomarkers with the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* in Santa Catarina state, the activity of the enzymes catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) and acetylcholinesterase (AChE) was evaluated in gills of specimens cultivated for 7, 9 and 11 months in three different sites (Barranceira, BAR; Morro Grande, MG, Santa Marta, SM) of an estuarine complex in Laguna, SC, as well as in animals maintained in a reference site (Santo Antônio de Lisboa, SAL) in Florianópolis, SC for the same time intervals. The levels of trace metals (As, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb, Sn, V and Zn) in soft tissues of the same animals were also determined. In the estuarine complex, Cu, Zn and Mn were the metals for which more elevated concentrations were determined. For the latter, this result was seen in SM in the periods corresponding to 9 and 11 months and in BAR for the 11-month period. The activities of CAT, GST and AChE were higher in the reference site SAL in the periods of 9 and 11 months when compared to those determined for the oysters cultivated in the different sites of the estuarine complex in the same time intervals. Lower levels of enzyme activities, as determined in the periods corresponding to 7 and 11 months, were related with more elevated concentrations of trace metal in soft tissues. On the other hand, increased enzyme activities were related to higher values of salinity as well as with the length of the animals harvested along the experiment. Considering that the influence of environmental and endogenous parameters as well as trace metal bioavailability upon the biochemical mechanisms which modulate the activity of biomarker enzymes is not fully understood, the relevance of further studies on the subject is emphasized. Therefore, the lack of variation in the activity of the different enzymes analyzed in the present study could be discussed in an integrated molecular context, in order to understand the relationship among these parameters with the necessity of the animals for osmoconformation and to better establish the use of biomarkers in this species of mollusk.

## INTRODUÇÃO

O estado de Santa Catarina é o principal produtor de moluscos marinhos no Brasil, atingindo a produção de 7.500 ton/ano de mexilhões da espécie *Perna perna* e 208.783 dúzias de ostras, restritas à espécie *Crassostrea gigas*, no ano de 1997 (POLI & LITTLEPAGE, 1998.). Neste ano, a atividade atingiu um rendimento médio de R\$ 4.5 milhões de reais, empregando cerca de 2000 pessoas.

O desenvolvimento da maricultura em Santa Catarina iniciou-se no período entre 1971 e 1972 com a tentativa isolada da implantação de cultivos da “ostra-do-mangue”, *Crassostrea rhizophorae*. Em 1983, os esforços para cultivar a referida espécie foram retomados, através do desenvolvimento do projeto “Viabilidade do cultivo de ostra consorciado com camarão”, projeto executado pelo Departamento de Aqüicultura, CCA, UFSC. Entretanto, novamente não foram obtidos resultados satisfatórios. Visando incrementar a atividade no estado, em 1987, foi introduzida no litoral catarinense, a espécie exótica “ostra japonesa” ou “ostra do pacífico”, *Crassostrea gigas*. Paralelamente ao cultivo da ostra-do-pacífico, o cultivo do mexilhão *Perna perna* foi também se desenvolvendo por iniciativa dos próprios pescadores locais e, posteriormente, pelo apoio técnico fornecido pelo Departamento de Aqüicultura da UFSC, da Associação Catarinense de Pesca (ACARPESC) e da Agência Canadense de Desenvolvimento Internacional (CIDA) que auxiliaram o processo de expansão da atividade ao longo de todo estado (POLI & LITTLEPAGE, 1998).

Vale ressaltar que parte do sucesso da expansão do cultivo de mexilhões no Estado foi devido, em grande parte, à facilidade de obtenção de sementes de *P. perna* no ambiente. O mesmo não ocorreu com as ostras, visto que esta produção tem como um dos pontos de estrangulamento a incerteza quanto a obtenção de sementes no Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos, CCA, UFSC (COSTA *et al.*, 1998).

Outro fator limitante ao cultivo da “ostra do pacífico” é a sensibilidade desta espécie às elevadas temperaturas que ocorrem nos meses de verão (dezembro a março) ao longo de todo o litoral de Santa Catarina, ocasionando índices expressivos de mortalidade (PEREIRA *et al.*, 1998).

Face às necessidades de mercado, a exemplo do que já ocorre em outros estados brasileiros (Pernambuco, Maranhão, São Paulo, Espírito Santo, Paraná e outros), tornou-se oportuno tentar viabilizar o cultivo de *C. rhizophorae* no estado de Santa Catarina. Para tanto, foi firmado um convênio entre a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. (EPAGRI), a Associação Catarinense de Aqüicultura (ACAq), o Governo Canadense (CIDA), a FAPEU/UFSC e a Associação de Pescadores e Maricultores, o qual possibilitou a instalação de 17 unidades produtivas experimentais (UPEs) com sementes de ostra-do-mangue ao longo do litoral catarinense. O principal objetivo deste convênio foi analisar o crescimento, a mortalidade e a viabilidade do consumo das ostras mantidas por um período de doze meses nestas UPEs.

No entanto, algumas UPEs foram instaladas no complexo lagunar do sul do estado de Santa Catarina, uma região em que existe um intenso conflito sócio-ambiental (GERCO, 1997). Os principais problemas ambientais nesta região estão

relacionados à contaminação hídrica que está associada à atividade mineradora de carvão nos municípios de Capivari de Baixo e Tubarão, além da importante atividade agrícola, particularmente da rizicultura intensiva, que existe em toda região de entorno do complexo lagunar. Enquanto a primeira atividade é constante ao longo do ano, a segunda é intensificada nas épocas do plantio e colheita do arroz (setembro a março).

O Rio Tubarão drena a área de mineração, desaguando por fim no complexo lagunar no sul do estado de Santa Catarina. Este rio apresenta grande quantidade de metais pesados nas proximidades do município de Tubarão (e.g Fe, Al, Zn e Mn) e baixos valores de pH (4,5), tendo sido considerado, em 1991, em fase de extinção biológica (PRÓVIDA, 1991).

Dados mais consistentes e recentes sobre o aporte de metais pesados na região lagunar são inexistentes. Da mesma forma, não existem dados sobre o aporte de pesticidas aplicados na rizicultura que são lixiviados para o sistema hídrico. Apenas existem registros sobre os principais pesticidas utilizados na rizicultura nesta região, tais como os inseticidas Furadan<sup>®</sup>, Decais<sup>®</sup>, Sumition<sup>®</sup> e Gamit<sup>®</sup> e os herbicidas Sirius<sup>®</sup>, Ally<sup>®</sup>, Facet<sup>®</sup>, Rondstar<sup>®</sup>, Goal<sup>®</sup>, Satanil<sup>®</sup>, Rondup<sup>®</sup> (LOPES, 1998)

A inexistência de dados que comprovem a relação entre a contaminação e os efeitos tóxicos associados nos organismos mantidos nestes locais, tornou oportuna a realização de um programa de biomonitoramento.

Os moluscos bivalves marinhos (ostras e mexilhões) são muito utilizados como bioindicadores de contaminação em programas de monitoramento ambiental.

Isso é devido às suas características biológicas, pois são organismos sésseis, filtradores, cosmopolitas, abundantes, resistentes às variações ambientais e concentram grande quantidade de contaminantes (e.g. pesticidas, metais pesados, hidrocarbonetos) (PHILLIPS, 1986; VIARENGO *et al.*, 1991; RAND, 1995; NOAA, 1995).

É importante ressaltar que os valores de bioacumulação nos animais não necessariamente refletem o estado de saúde dos mesmos (PELLERIN-MASSICOTTE, 1994). O Conselho Internacional para a Exploração do Mar (ICES) tem recomendado que os programas de biomonitoramento marinho utilizem biomarcadores como metodologia complementar que possa expressar os efeitos tóxicos causados pelos poluentes nos organismos (BURGEOT *et al.*, 1996).

Os biomarcadores são definidos por WALKER *et al.* (1996) como alterações biológicas a nível molecular, celular e fisiológico que expressam os efeitos tóxicos causados pelos poluentes. Entre os biomarcadores, os bioquímicos ou moleculares, detectam a primeira alteração biológica frente à presença de um xenobiótico (WALKER, 1998).

O ICES e o Programa de Biomonitoramento do Mediterrâneo Nordeste (MED-POL) recomendam o uso de alguns biomarcadores específicos (BURGEOT *et al.*, 1996). Dentre estes, estão as enzimas de defesa antioxidante e de conjugação de xenobióticos, pois fornecem informações importantes a respeito da capacidade de defesa dos organismos, bem como da capacidade de excreção dos compostos tóxicos (BURGEOT *et al.*, 1996).

Durante a biotransformação de xenobióticos pode ocorrer a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como o radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o radical hidroxil ( $\cdot OH$ ) que podem oxidar biomoléculas, causando a morte celular (TIMBREL, 1991). Estas ERO podem ser inativadas pelos sistemas de defesas antioxidantes enzimáticos celulares, representados pela superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx) (SIES, 1993). Caso estas enzimas estejam com baixa atividade, pode ser estabelecido um desequilíbrio pró-oxidante celular, denominado estresse oxidativo. O estresse oxidativo está associado a vários processos mutagênicos e carcinogênicos e pode comprometer o metabolismo dos organismos aquáticos (SIES *et al.*, 1992), podendo ainda provocar uma diminuição no seu crescimento ou mesmo a sua morte, o que poderia afetar seriamente o rendimento de um cultivo.

Diversos trabalhos têm demonstrado a relação entre a exposição a contaminantes (e.g. pesticidas metais pesados, hidrocarbonetos, entre outros) e a alteração da atividade das enzimas (PELLERIN-MASSICOTTE, 1994; CANCIO *et al.*, 1997; REGOLI, 1998).

Os compostos derivados dos xenobióticos e produzidos durante a biotransformação podem ser ligados a moléculas endógenas, através de reações de conjugação. Este mecanismo bioquímico de defesa serve para aumentar a hidrossolubilidade dos compostos e dessa maneira facilitar a sua excreção. Uma das enzimas importantes neste processo, também proposta como biomarcadora pelo ICES e MED-POL, é a glutathiona transferase (GST). Esta enzima conjuga os

produtos da biotransformação do citocromo P450 com o substrato endógeno glutathiona reduzida (GSH).

Outro biomarcador muito utilizado em vertebrados, assim como em invertebrados, é a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta enzima é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina que é liberado nas sinapses nervosas ou na junção neuromuscular. Sua inibição pode resultar em uma transmissão contínua e desordenada de impulsos nervosos (STEGEMAN *et al.*, 1992). Quando os organismos são expostos a pesticidas organofosforados e carbamatos, a AChE é inibida, o que provoca sérias conseqüências aos organismos expostos. Portanto, o grau de inibição da AChE é proposto como um biomarcador de exposição e efeito (GALGANI *et al.*, 1992).

O presente trabalho tem como objetivo analisar a atividade das enzimas CAT, GST e AChE nas brânquias da ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* das UPES localizadas no complexo lagunar no município de Laguna e em uma UPE referência, localizada na praia de Santo Antônio de Lisboa no município de Florianópolis.

Visando fornecer informações adicionais sobre a resposta dos biomarcadores analisados nos animais mantidos nas diferentes UPES, este estudo foi complementado com a determinação de alguns parâmetros físicos e químicos da água e a determinação da concentração de metais traços nas partes moles dos animais nos diferentes locais de estudo.

Este trabalho será submetido para a publicação no periódico Environmental Toxicology and Chemistry, tendo as normas para a publicação deste periódico anexadas neste trabalho.

**Manuscrito**

1 **Biomarcadores e metais traços em *Crassostrea rhizophorae***

2

3 Afonso Celso Dias Bainy

4

5 Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica,

6 Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal

7 de Santa Catarina

8 Florianópolis, SC, Brasil 88040-900

9 Tel ++55 48 3316561

10 Fax ++55 48 3319672

11 e-mail: bainy@mbox1.ufsc.br

12

13

14 Número total de palavras no texto e referências: 5249

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

1 **Análise temporal da resposta de biomarcadores bioquímicos e do nível de**  
2 **metais traços na ostra nativa *Crassostrea rhizophorae* cultivadas no complexo**  
3 **estuarino de Laguna, SC, Brasil**

4  
5 Franklin Rodolfo Aguiar Silveira Lopes<sup>†</sup>, Edson Luiz Seibert<sup>‡</sup>, Sérgio Winckler da  
6 Costa<sup>§</sup>, Adilson José Curtius<sup>‡</sup>, Maria Risoleta Freire Marques<sup>†</sup> e Afonso Celso Dias  
7 Bairy<sup>†\*</sup>

8  
9 <sup>†</sup>Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica,  
10 Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, <sup>‡</sup>Laboratório de  
11 Química Analítica, Departamento de Química, Centro de Ciências Físicas e  
12 Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900, <sup>§</sup>Empresa de  
13 Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Florianópolis, SC,  
14 Brasil.

15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22 \*

---

\* Para quem a correspondência deverá ser enviada Email [bainy@mbox1.ufsc.br](mailto:bainy@mbox1.ufsc.br)

## 1 **Resumo**

2 O objetivo do presente trabalho foi determinar a concentração de metais  
3 traços (As, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb, Sn, V e Zn) nas partes moles da *Crassostrea*  
4 *rhizophorae* e avaliar a atividade das atividade das enzimas catalase (CAT),  
5 glutationa S-transferase (GST) e da acetilcolinesterase (AChE) nas brânquias do  
6 referido animal após 7, 9 e 11 meses de cultivo em três locais no complexo  
7 estuarino lagunar (Barranceira, BAR; Morro Grande, MG, Santa Marta, SM) em  
8 Laguna, SC e em uma região referência (Santo Antônio de Lisboa, SAL) no  
9 município de Florianópolis, SC. Em todos os períodos analisados foi determinado na  
10 região do complexo lagunar maiores concentrações dos metais Cu, Cd, Mn e Zn  
11 comparados com a região referencia. As maiores taxas pluviométricas ocorreram no  
12 período de 9 meses o que determinou uma diminuição da salinidade em todos os  
13 pontos de coleta. A ausência de diferenças na atividade nas enzimas GST e CAT  
14 entre todos os pontos de coleta foi associada as diferentes necessidades de  
15 osmoconformação em nossos animais. As maiores atividades de AChE na região  
16 referencia neste período foi associada a influencia dos metais pesados na região do  
17 complexo estuarino e produtos anticolinesterasicos carregados pelos altos índices  
18 pluviométricos neste período. Por outro lado, na região referencia observamos em  
19 todos os períodos os maiores comprimentos dos animais e maiores salinidades  
20 evidenciando a necessidade de conhecimentos específicos sobre os mecanismos  
21 bioquímicos associados as enzimas estudadas, frente aos contaminantes orgânicos  
22 e inorgânicos, variáveis ambientais e berm como a influencia de fatores endógenos  
23 na atividade destes biomarcadores

## 1 **Introdução**

2           Nos últimos anos, a ostreicultura tem se constituído em uma importante  
3 atividade sócio-econômica para o Estado de Santa Catarina, sul do Brasil [1].  
4 Grande parte da produção de ostras neste Estado está associada a espécie  
5 introduzida *Crassostrea gigas*. Por outro lado, a produção da ostra nativa, ou ostra  
6 do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, tem sido incentivada, uma vez que esta  
7 espécie parece apresentar uma melhor adaptação e crescimento em temperaturas  
8 da água mais elevadas, como as registradas nos meses de verão, neste litoral [1].

9           No período de maio de 2000 a julho de 2001, estações experimentais de  
10 cultivo da ostra nativa foram implementadas em diferentes locais do litoral de Santa  
11 Catarina. Entre estes, está a região do complexo estuarino do município de Laguna.  
12 Esta área pertence a uma bacia hidrográfica que drena resíduos da maior usina  
13 termelétrica do Brasil, associada com uma intensa atividade mineradora de carvão  
14 e intensa atividade agrícola no entorno do complexo estuarino, o que confere, assim,  
15 um potencial risco de contaminação por metais traços e pesticidas para aos  
16 organismos cultivados.

17           Estudos realizados com a ostra nativa na região do estuário do Rio Potengi  
18 (Natal, Rio Grande do Norte, Brasil) [2] e na Baía de Todos os Santos (Salvador,  
19 Bahia, Brasil) [3] mostraram que esta espécie pode ser utilizada em programas de  
20 avaliação e monitoramento ambiental, utilizando-se tanto animais coletados  
21 diretamente no local de interesse, como animais transplantados de uma região não  
22 contaminada para zonas que apresentem uma maior contaminação.

23           Vários trabalhos têm sugerido a possibilidade de utilizar biomarcadores  
24 bioquímicos em bivalves para avaliar o impacto causado por contaminantes no

1 ambiente [4,5,6,7]. No entanto, fatores bióticos [8], parâmetros ambientais [9] e  
2 variações sazonais [9,10] podem promover alterações fisiológicas importantes no  
3 organismos, acarretando modificações na atividade de certas enzimas e, desta  
4 maneira, interferir na resposta bioquímica dos organismos em regiões contaminadas.  
5 Uma forma de minimizar a interferência destes parâmetros sobre as respostas  
6 bioquímicas dos animais é através da utilização de organismos de uma mesma  
7 população, com a mesma idade, e transplantá-los para os locais de interesse [11].

8 Neste trabalho, sementes de ostras *C. rhizophorae* produzidas em laboratório  
9 foram colocadas em três regiões do complexo estuarino de Laguna e em uma região  
10 referência localizada na Ilha de Santa Catarina. Após 7, 9 e 11 meses de cultivo,  
11 análises de metais traços e de biomarcadores bioquímicos foram realizadas para  
12 avaliar a possibilidade de contaminação destes organismos. Os biomarcadores  
13 analisados neste estudo foram a atividade das enzimas catalase (CAT), glutathione S-  
14 transferase (GST) e acetilcolinesterase citosólica (AChE) em brânquias de *C*  
15 *rhizophorae*. A CAT é uma enzima antioxidante que tem a função principal de  
16 decompor o peróxido de hidrogênio produzido durante o metabolismo e assim,  
17 contribuir na prevenção do estabelecimento de um estresse oxidativo celular [12]. As  
18 GST são uma família de enzimas que catalisam a conjugação do tripeptídeo  
19 glutathione com compostos endógenos ou xenobióticos, facilitando assim sua  
20 excreção da célula [13]. As colinesterases são isoenzimas que têm sido  
21 extensivamente utilizadas como biomarcadores de efeito e exposição a  
22 organofosforados e carbamatos, desde mamíferos até invertebrados [14,15].  
23 Recentemente, a colinesterase presente em brânquia de *C. rhizophorae* foi  
24 caracterizada como acetilcolinesterase e que esta enzima é inibida por carbamatos,

1 como furadan e eserina [16,17].

2 O objetivo do presente trabalho é analisar a atividade de biomarcadores  
3 bioquímicos (AChE, CAT e GST) e o nível de metais traços na ostra nativa  
4 *Crassostrea rhizophorae*, (Guilding, 1828) cultivadas no complexo estuarino  
5 potencialmente contaminado em Barranceira, Morro Grande e Santa Marta no  
6 município de Laguna e na região referencia em Santo Antonio de Lisboa no  
7 município de Florianópolis. SC

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

## 1 **Material e métodos**

### 3 *Coleta e manutenção das ostras*

4 Sementes de ostras *C. rhizophorae* foram produzidas no Laboratório de  
5 Cultivo de Moluscos Marinhos, CCA, UFSC, e transplantadas para as regiões  
6 denominadas como Barranceira (BAR), Morro Grande (MG) e Santa Marta (SM) no  
7 complexo estuarino do município de Laguna, sendo um grupo de animais mantidos  
8 na região considerada como referência, Santo Antônio de Lisboa (SAL)  
9 (Florianópolis) (Fig. 1). Durante 7, 9 e 11 meses, dezembro de 2000, fevereiro e abril  
10 de 2001, respectivamente, os animais foram mantidos em lanternas, onde  
11 mensalmente passavam pelo procedimento de castigo para a retirada da fauna  
12 acompanhante. Em cada período de coleta foram retirados aleatoriamente 20  
13 animais, sendo 10 para a realização das análises bioquímicas e 10 para a  
14 determinação das concentrações dos metais traços.

15 As análises de temperatura, salinidade e turbidez da água, realizadas  
16 concomitantemente aos períodos de coleta nos diferentes locais, foram realizadas  
17 de acordo com métodos convencionais, utilizando-se termômetro, refratômetro e  
18 disco de Secchi, respectivamente.

### 20 *Análises biométricas e preparação dos extratos de brânquia*

21 O comprimento do eixo maior de cada animal foi medido utilizando-se um  
22 paquímetro manual. As brânquias de cada ostra foram dissecadas, pesadas e  
23 congeladas em nitrogênio líquido (-186°C) para a preservação de suas propriedades  
24 bioquímicas.

1 As brânquias foram homogeneizadas na relação 1:4 (p/v) em tampão Tris-HCl  
2 20 mM, EDTA 1 mM, sacarose 0,5 M, DTT 1mM, PMSF 0,1M, pH 7,6 em  
3 homogeneizador "Tissue tearor" (Biospec Prod. INC.) O homogeneizado foi  
4 centrifugado a 9.000 x g por 30 minutos a 4°C e o sobrenadante armazenado a -  
5 85°C. Nesta fração foi realizada a análise da atividade das enzimas CAT, GST e  
6 AChE.

### 8 *Análises bioquímicas*

9 A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com o método  
10 proposto por Aebi [18], que quantifica o desaparecimento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto, a 240  
11 nm a 30°C. Os valores de atividade foram expressos em unidades de catalase por  
12 minuto por miligrama de proteína, utilizando-se o coeficiente de extinção milimolar de  
13 0,04 mM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>[18].

14 A atividade da GST foi quantificada pelo método proposto por Keen *et al.* [13],  
15 com as modificações propostas para *P. perna* por Medeiros [19] que sugere a  
16 utilização de uma concentração de 2 mM de 1-cloro, 2,4 dinitrobenzeno (CDNB) e de  
17 2 mM glutationa reduzida (GSH), pH 7,0, no ensaio enzimático. A variação de  
18 absorvância foi registrada a 340 nm a 30°C ( $\epsilon=9,6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )[13].

19 A análise da atividade da AChE foi realizada de acordo com o método de  
20 Ellman *et al* [20], o qual se baseia na reação entre o produto da hidrólise do  
21 substrato artificial (acetiltiocolina), tiocolina, com o ácido 5,5'-ditio-(2-nitrobenzoico)  
22 (DTNB). Esta reação origina um produto de cor amarela que é quantificado durante 2

1 minutos a 412 nm, a 25°C ( $\epsilon=0,062 \times 10^{-4}$ ) [20]. Os resultados foram expressos em  
2 nmol por minuto por miligrama de proteína.

3 Todas as análises enzimáticas foram realizadas pelo menos em duplicata em  
4 espectrofotômetro Ultrospec 3000 (Pharmacia) com aquecimento Peltier e unidade  
5 controladora de temperatura.

6 A determinação da concentração de proteínas presentes na fração citosólica  
7 foi realizada de acordo com a técnica descrita por Peterson [21], utilizando-se  
8 albumina de soro bovina como padrão.

#### 9 10 *Análise de metais traços nas ostras*

11 Para a determinação de metais traços nos tecidos, HNO<sub>3</sub> bidestilado foi  
12 adicionado a 1,5 g de massa úmida em um reator de politetrafluoretileno (PTFE),  
13 sendo a amostra digerida por 3 horas a 110°C. A determinação do conteúdo  
14 metálico total nas ostras foi realizada através da técnica de ICP-MS ou por  
15 espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS). A  
16 exatidão dos métodos foi comprovada pela análise de amostra certificada (Oyster  
17 Tissue) pelo "National Institute of Standards and Technology (NIST)" e "Antarctic  
18 Krill" [22].

#### 19 20 Tratamento estatístico dos dados

21 Os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. A normalidade  
22 dos valores de atividade das enzimas CAT, GST e AchE foi testada através do  
23 teste de Bartlett para  $p<0,05$  [23]. Os mesmos foram comparados através de uma

1 análise variância de duas vias (Two-Way ANOVA), tendo sido considerado os  
2 fatores local e período de coleta. As comparações entre os grupos foi realizada  
3 utilizando-se o teste de Tukey HSD para amostras de n iguais ou diferentes,  
4 quando foi o caso. Foi adotado o nível de significância mínimo de 5 % para todas  
5 as análises estatísticas.

6 Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Software  
7 Statistica® for Windows versão 5.1.

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

## 1 **Resultados**

### 3 *Análise dos parâmetros físicos e químicos na água do mar durante a coleta*

4 A temperatura média da água nos locais de coleta variou de 25,6°C, em  
5 dezembro de 2000, para 31°C em fevereiro de 2001 e 23,5°C em abril de 2001  
6 (Tabela 1). Nenhum dos locais de coleta apresentou um padrão consistente que  
7 demonstrasse uma tendência de maiores ou menores temperaturas ao longo do  
8 período experimental. No entanto, as maiores temperaturas foram observadas em  
9 fevereiro de 2001, particularmente no MG e na BAR (Tabela 1). Nestes locais, bem  
10 como em SM, foram observados baixos valores de salinidade.

11 Importante destacar que, no mês de fevereiro a salinidade foi menor também  
12 em SAL, como decorrência da maior intensidade de precipitações pluviométricas.  
13 Neste local foi registrada uma diminuição da transparência da água em relação aos  
14 outros períodos de coleta (Tabela 1).

### 16 *Análise biométrica das amostras*

17 A Figura 2 mostra o comprimento do eixo maior das ostras coletadas. Os  
18 animais de SAL apresentaram um comprimento estatisticamente maior ( $p < 0,05$ ), que  
19 todas as UPEs do complexo lagunar nos três períodos de coleta. Por outro lado, o  
20 comprimento médio dos animais de SM foi menor que o dos demais locais nos  
21 períodos de fevereiro e abril ( $p < 0,05$ ). Os animais dos locais BAR e MG não  
22 apresentaram diferenças estatísticas entre si nos meses de dezembro e fevereiro,  
23 entretanto, na coleta de abril, os animais do MG apresentaram um comprimento  
24 maior que os animais da BAR ( $p < 0,05$ ).

## 1 *Análise da atividade enzimática nas brânquias*

2 A atividade da CAT foi 1,2 a 1,7 vezes maior nas ostras coletadas em SAL  
3 em dezembro e abril, em comparação com os animais dos outros locais (Fig. 3;  
4  $p < 0,05$ ). No período de fevereiro, nenhuma diferença na atividade desta enzima  
5 foi observada. Em abril, as ostras de MG apresentaram uma atividade da CAT em  
6 torno de 50% maior que aquelas encontradas nos animais de dezembro e  
7 fevereiro.

8 A maior atividade da GST foi observada nos animais coletados em SAL no  
9 mês de dezembro (Fig. 3). Neste período os animais de MG também apresentaram  
10 uma atividade da GST maior que os animais da BAR e SM. Um perfil similar de  
11 atividade foi observado nos animais coletados em abril (Fig. 3). No mês de fevereiro,  
12 nenhuma diferença estatística na atividade da GST foi observada entre as ostras dos  
13 diferentes locais, apesar de ter sido observada uma tendência de uma maior  
14 atividade da GST nos animais de SAL.

15 Tanto em dezembro, como em abril, a atividade da AChE solúvel foi maior  
16 nos animais de MG e SAL, em comparação com os demais locais (Fig. 3). Em  
17 fevereiro, apenas os animais de SAL apresentaram uma alta atividade da AChE  
18 solúvel.

19

## 20 *Análise dos metais traços em material certificado e na carne das ostras*

21 As análises dos metais V, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Sn e Pb realizadas no  
22 material certificado estiveram dentro da margem de erro aceitável, considerando o  
23 padrão de qualidade analítica (Tabela 2).

1 O perfil do níveis de V e Cr na carne das ostras, coletadas nos diferentes  
2 locais e períodos, foi semelhante (Fig. 4) sendo que os maiores valores foram  
3 observados em SAL tanto em dezembro, como em abril. Estes dois metais também  
4 mostraram-se mais elevados em BAR e MG no período de dezembro.

5 As ostras que permaneceram em SM apresentaram maiores concentrações  
6 de Mn que nos demais locais, em todos os períodos de coleta (Fig. 4). Além disso,  
7 foi observada uma tendência de aumento nos níveis deste metal nestes animais ao  
8 longo do período experimental. Os níveis de Mn também foram maiores nos animais  
9 mantidos na BAR em abril, em relação aos períodos anteriores.

10 Em dezembro, os níveis de Cu foram maiores nos animais de MG (Fig. 5). Em  
11 fevereiro, este metal foi encontrado em níveis mais elevados em SM e MG, enquanto  
12 que em abril, os maiores teores de Cu foram observados nas ostras de BAR e SM. O  
13 nível de Cu nos animais da região referência foram os menores observados,  
14 respectivamente, em todos os períodos de coleta (Fig. 5). Resultado semelhante foi  
15 observado com os níveis de Zn e Cd (Fig. 5).

16 Nenhuma diferença significativa foi observada entre o teor de Ni das ostras  
17 coletadas em dezembro nos diferentes locais (Fig. 4). No entanto, em fevereiro os  
18 animais de SM apresentaram um aumento nos níveis deste metal, comparado aos  
19 demais grupos. Os animais coletados em SAL em abril apresentaram uma  
20 diminuição dos níveis de Ni, em relação aos meses anteriores (Fig. 4).

21 Os níveis de As foram significativamente maiores nos animais de SAL, região  
22 referência, do que nos outros locais, em todos os períodos de coleta (Fig. 5). De  
23 forma similar, os níveis de Sn dos animais coletados em SAL foram maiores do que

1 nos demais locais, em dezembro e em abril. Em fevereiro, o nível deste metal  
2 também esteve elevado nos animais de SM (Fig. 5).

3 Os teores de Pb nas ostras de BAR e MG coletados em dezembro foram  
4 maiores do que o das ostras de SM e SAL (Fig. 6). Em fevereiro, este metal  
5 permaneceu em maiores concentrações em MG, mas diminuiu significativamente  
6 nos animais coletados na BAR. Por outro lado, neste período, foi observado um  
7 aumento nos níveis de Pb nas ostras de SM e SAL. Em abril, foi observada uma  
8 diminuição dos níveis de Pb nas ostras de MG e SM e um leve aumento nos animais  
9 de BAR e SAL.

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

## 1 **Discussão**

2 Estudos têm sido desenvolvidos visando o estabelecimento de correlações  
3 entre os níveis de contaminantes, as respostas bioquímicas e a qualidade do  
4 alimento cultivado para o consumo humano. No presente trabalho, foi determinada a  
5 concentração de metais traços na carne da ostra nativa *C. rhizophorae* e a atividade  
6 das enzimas AChE, CAT e GST nas brânquias, em animais cultivados durante 7, 9 e  
7 11 meses em regiões potencialmente contaminadas, no complexo estuarino de  
8 Laguna e na região referência situada no município de Florianópolis.

9 Na coleta realizada em dezembro de 2000, os animais da região referência  
10 (SAL) apresentaram atividade das enzimas GST, CAT e AChE significativamente  
11 maiores que nos animais coletados na região do complexo estuarino de Laguna. A  
12 baixa atividade destas enzimas nos animais de Laguna pode estar relacionada com  
13 os maiores níveis de Zn, Cu, Cd e Mn, observado nestes animais, particularmente  
14 em BAR e MG, comparado com os animais da região referência.

15 Certos metais, tais como o Cu e o Fe, são conhecidos por catalisarem a  
16 reação de Fenton promovendo um aumento na peroxidação lipídica, podendo  
17 assim, desestabilizar a estrutura das membranas biológicas. Alguns produtos da  
18 lipoperoxidação podem ser conjugados com a glutathiona, através da GST [24].  
19 Assim, seria de se esperar que os animais da região de Laguna apresentassem  
20 um aumento na atividade da GST, maiores atividades que não foram verificadas  
21 nos animais instalados no complexo estuarino. Entretanto, as respostas deste  
22 biomarcador em moluscos bivalves expostos a ambientes contaminados por  
23 metais tem sido bastante divergentes, sendo observados resultados similares ao  
24 presente trabalho por Regoli [25] que observou uma diminuição da atividade da

1 GST nas brânquias de *Mytillus galloprovincialis*. Por outro lado, foi observado um  
2 aumento na atividade desta enzima em *Mytillus guaynenses* coletada em um  
3 mangue do Itacorubi contaminado por metais [26] e ainda relatos de ausência de  
4 alteração de respostas em *Mytillus galloprovincialis* em estuário contaminado por  
5 metais na Itália [4]. A grande divergência de resultados tem sugerido que o  
6 biomarcador GST apresente uma melhor resposta como biomarcador de  
7 contaminação aquática, particularmente, em ambientes contaminados por  
8 xenobiótico orgânicos [6].

9 A baixa atividade da CAT observada nas ostras mantidas na região  
10 estuarina pode estar associada a maior concentração de alguns metais  
11 detectados nestes animais. A catalase é uma hemoproteína que possui o grupo  
12 heme em sua estrutura catalítica [27]. Certos metais possuem alta afinidade por  
13 grupamentos sulfidríla presentes nas enzimas envolvidas na rota de biossíntese  
14 do grupo heme, tais como a  $\alpha$ -aminolevulinato desidratase (ALAD), causando  
15 assim uma inibição da síntese do grupo heme. Desta forma, haveria um  
16 comprometimento da eficiência catalítica desta enzima, o que poderia explicar os  
17 resultados observados.

18 A inibição da AChE é normalmente associada com a presença de  
19 pesticidas organofosforados ou carbamatos [28], sendo assim considerada como  
20 um biomarcador específico. Entretanto, outras substâncias têm demonstrado  
21 poder de inibição da atividade da AChE, tais como, metais pesados [4,29] e  
22 hepatotoxinas de cianobactérias [30] necessitando cautela na interpretação dos  
23 resultados da atividade deste biomarcador *in situ*. Assim, a baixa atividade da

1 AChE encontrada nas ostras mantidas no complexo lagunar pode estar associada  
2 também às maiores concentrações de alguns metais traços nestes animais.

3 Cabe ressaltar também que existe a possibilidade de que outros fatores  
4 possam também ter afetado a atividade das enzimas analisadas nas ostras mantidas  
5 no complexo estuarino. Neste local, na coleta realizada em dezembro, a salinidade  
6 dos locais de coleta no estuário variou de 12, em SM, até 21, em MG. No local  
7 referência, a salinidade foi de 34. Além disso, os animais referência apresentaram  
8 um comprimento final significativamente maior do que os animais do complexo  
9 lagunar, o que de certa forma reflete a existência de condições ambientais mais  
10 adequadas para o crescimento desta espécie. Assim, as respostas biológicas  
11 analisadas nestes animais possivelmente são um reflexo de uma integração de  
12 diferentes fatores que possam estar afetando a homeostasia e por conseqüente,  
13 uma melhor adaptação às variações ambientais.

14 Dentre o contexto acima, ressalta-se que as maiores determinações nas  
15 concentrações dos metais traços As, Cr, Sn e V nas partes moles dos animais da  
16 região referencia pode estar cooperando para as maiores atividades das enzimas  
17 AChE, CAT e GST neste período.

18 Na coleta realizada em fevereiro, foi observada uma alteração nas condições  
19 oceanográficas das áreas de coleta. Em todos os locais de estudo foi observada  
20 uma elevação da temperatura média da água, associada a predominância de  
21 temperaturas do ar maiores nesta época do ano. Além disso, este aumento de  
22 temperatura coincidiu com baixos valores de salinidade associados ao maior aporte  
23 de água doce, provocado pela maior incidência de chuvas no período que antecedeu  
24 a coleta. Dados fornecidos pelo Climerh-Epagri (SC) mostraram que no período de

1 10 dias que antecederam a coleta de fevereiro foi observada uma precipitação  
2 pluviométrica acumulada de 135,6 mm, cerca de 1,8 vezes maior do que a que foi  
3 observada em dezembro (73,7 mm). Além disso na região de SAL houve uma  
4 diminuição significativa da transparência da água decorrente do maior aporte  
5 antrópico nesta região.

6 Neste período de coleta, os animais amostrados em Laguna apresentaram  
7 maiores níveis de Cu, Zn e Cd que os animais da região referência. Entretanto,  
8 nenhuma diferença significativa foi observada na atividade das enzimas GST e  
9 CAT entre as ostras dos diferentes locais. Por outro lado, a atividade da AChE foi  
10 significativamente maior nos animais de SAL. A ausência de relação entre a  
11 atividade das enzimas CAT e GST com os níveis de Cu, Zn e Cd neste período de  
12 coleta pode estar relacionada com as alterações nas condições ambientais,  
13 principalmente relacionadas com a diminuição da salinidade destes locais.  
14 Importante ressaltar que a região do complexo estuarino de Laguna apresenta  
15 flutuações de salinidade, associadas às variações tidais e ao aporte de água doce  
16 dos rios desta região, enquanto que SAL possui características tipicamente  
17 marinhas com salinidades em torno de 34 a 35. Assim, pode-se especular que  
18 possivelmente os animais mantidos no complexo estuarino de Laguna  
19 apresentassem uma melhor adaptação a flutuações de salinidade do que os  
20 animais da região referência.

21 Entretanto, os mecanismos de regulação osmótica em animais  
22 osmoconformadores, como os bivalves marinhos, são pouco conhecidos, sendo  
23 relatado a possível participação do peptídeo *atrial natriuretic-like*, assim como  
24 ocorre em animais vertebrados e muitos invertebrados, na regulação do

1 metabolismo da água e no transporte iônico na ostra *Crassostrea virginica* [31]. Vale  
2 ressaltar que a influência das diferentes necessidades de osmoconformação nos  
3 animais eurihalinos na atividade de biomarcadores bioquímicos de contaminação  
4 aquática é pouco compreendido.

5 Estudos realizados em campo e em laboratório com a *Crassostrea*  
6 *rhizophorae* para avaliar as taxas de crescimento e ganho de peso em função da  
7 salinidade demonstraram que as maiores taxas de crescimento e ganho de peso  
8 foram observadas nas maiores salinidade [32].

9 Em nosso laboratório foi realizado um estudo *in vivo* com juvenis de *C.*  
10 *rhizophorae* mantidas por 21 dias em salinidades de 7, 15, 25 e 35 ppm em que foi  
11 analisada a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase(CAT),  
12 glutiona redutase (GR), glutiona peroxidase (GPx), acetilcolinesterase solúvel  
13 (AChE-Sol) e acetilcolinesterase solúvel em triton X-100 (AChE-ST) na carne dos  
14 animais. Foi observada uma relação inversa da atividade das enzimas GR e GPx  
15 ( $p < 0,05$ ) com a salinidade e um aumento da atividade na CAT para a salinidade de 7  
16 ppm [33]. Os resultados deste trabalho não são conclusivos em relação a existência  
17 ou não de um estresse oxidativo nos animais mantidos em baixas salinidades. No  
18 entanto, é sugerido que em baixa salinidade haja um maior gasto energético para a  
19 manutenção da homeostasia do animal e isso poderia provocar um aumento no  
20 consumo de oxigênio desencadeando conseqüentemente um aumento nas repostas  
21 antioxidantes.

22 A atividade da AChE no período de fevereiro foi semelhante para todos os  
23 locais do complexo estuarino sendo menores estatisticamente ( $p < 0,05$ ) que a região  
24 SAL. A presença de maiores índices pluviométricos neste período poderia provocar

1 um aumento na lixiviação de pesticidas anticolinesterásicos utilizados na região de  
2 entorno do complexo estuarino. Estudos recentes realizados em nosso laboratório  
3 têm mostrado que a AChE em brânquia de *C. rhizophorae* é inibida pelos  
4 carbamatos furadan e eserina e que esta inibição é mais significativa do que no  
5 mexilhão *P. perna* [16]. No entanto, cabe ressaltar que os altos níveis de metais nas  
6 partes moles dos animais neste período pode também estar contribuindo para esta  
7 diminuição de atividade.

8 Na coleta realizada em abril de 2001, foram observados os menores  
9 índices pluviométricos. Considerando a chuva acumulada durante os 10 dias que  
10 antecederam a coleta foi registrada uma precipitação de 27,9mm (Climerh-Epagri  
11 -SC), aproximadamente 6 vezes menor que o período de fevereiro. Este fato se  
12 refletiu no aumento da salinidade em todos os locais de estudo comparados com  
13 período de fevereiro. Neste período foi observado um perfil semelhante da  
14 atividade das enzimas GST, CAT e AchE na brânquia das ostras dos diferentes  
15 locais, sendo registrado as maiores atividades destas enzimas nos animais de  
16 MG e SAL. Nestes animais foram observados menores níveis de Cu, Zn e Mn.  
17 Assim como observado nos animais coletados em dezembro, é possível que a  
18 diminuição na atividade destas enzimas esteja relacionada com os níveis mais  
19 elevados destes metais.

20 Os baixos índices pluviométricos 10 dias antes da coleta, minimizam os  
21 possíveis efeitos de xenobióticos carregados pelo processo de lixiviação. Por outro  
22 lado, as maiores concentrações dos metais Cu, Mn e Zn encontradas nos animais  
23 em MG em comparação com SAL não foram determinantes para evidenciar menores  
24 atividades das enzimas em MG. As semelhanças do perfil das atividades

1 enzimáticas e do comprimento dos animais evidenciam uma possível influência de  
2 fatores endógenos neste período associada a diferentes necessidades de  
3 manutenção da homeostasia em função do comprimento dos animais.

4 As maiores determinações de metais Cd, Cu, Mn e Zn nos períodos de  
5 dezembro e abril demonstraram uma correlação com as menores atividades das  
6 enzimas estudadas. Por outro lado as maiores atividades encontradas nos animais  
7 da região referência estão associadas aos maiores comprimentos dos animais e as  
8 maiores salinidades comparados com os animais da região do complexo. As  
9 correlações com os mecanismos que influenciam a inibição ou ativação destas  
10 enzimas nesta espécie é pouco compreendida, evidenciando a necessidade de  
11 esforços em laboratório para se reconhecer mecanismos bioquímicos de ativação  
12 ou inibição desta enzima frente a contaminantes orgânicos e inorgânicos, e bem  
13 como as influências de fatores endógenos (e.g.. maturação, ontogenia). Desta  
14 forma, será possível identificar o melhor tecido alvo a ser estudado, as enzimas  
15 mais apropriadas a serem utilizadas como biomarcadores neste animal e  
16 promover assim uma otimização da técnica de biomarcadores bioquímicos para  
17 esta espécie de moluscos.

18 As maiores concentrações dos metais Cd,Cu, Mn e Zn encontradas e  
19 ausência de dados mais consistentes quanto a fonte exata da poluição de metais  
20 evidencia a necessidade de esforços no sentido de se mapear a origem das fontes  
21 poluidoras, a carga destes metais no complexo estuarino na região de Laguna  
22 bem como a dinâmica da circulação para se reconhecer a abrangência de  
23 distribuição destes agentes, bem como seu potencial efeito tóxico neste  
24 ambiente, e assim se obter parâmetros para as devidas medidas de mitigação e

1 tomadas de decisão sobre o desenvolvimento da atividade de cultivo de moluscos  
2 bivalves nesta região.

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

## 1 Referências bibliográficas

- 2 1. Costa SW, Grumann A, Neto FMO, Rockanski M. 1998. Cadeias produtivas  
3 do estado de Santa Catarina: Aquicultura e Pesca. *Boletim Técnico n.97*.  
4 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa  
5 Catarina S.A. Florianópolis. 62 pp.
- 6 2. Silva CAR, Rainbow PS, Smith DB, Santos ZL. 2001. Biomonitoring of trace  
7 metal contamination in the Potengy estuary, Natal (Brazil), using the oyster  
8 *Crassostrea rhizophorae*, a local food source. *Water Res* 35:4072-4078.
- 9 3. Wallner-Kersanach M, Theede H, Eversberg U, Lobo S. 2000. Accumulation  
10 and Elimination of Trace Metals in a Transplantation Experiment with  
11 *Crassostrea rhizophorae*. *Arch Environ Contam Toxicol* 38:40-45.
- 12 4. Regoli F, Principato G. 1995. Glutathione-dependent and antioxidant enzymes  
13 in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and  
14 laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers.  
15 *Aquat Toxicol* 31:143-164.
- 16 5. Burgeot T, Bocquené G, Porte C, Dimeet J, Santella RM, Garcia de la Parra  
17 LM, Pihol-Leszkowicz A, Raoux C, Galgani F. 1996. Bioindicators of pollutant  
18 exposure in the northwestern Mediterranean Sea. *Mar Ecol Prog Ser*  
19 131:125-141.
- 20 6. Fitzpatrik P, O'Halloran J, Sheehan D, Walsh AR. 1997. Assessment of a  
21 glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland  
22 of *Mytilus edulis* (L), as potential organic pollution biomarkers. *Biomarkers*  
23 2:51-56.

- 1 7. Bairy ACD, Almeida EA, Müller IC, Ventura EC, Medeiros ID. 2000.  
2 Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to  
3 contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Mar Environ Res*  
4 50:411-416.
- 5 8. Ringwood AH, Connors DE. 2000. The effects of glutathione depletion on  
6 reproductive success in oysters, *Crassostrea virginica*. *Mar Environ Res* 50:  
7 207-211
- 8 9. Keppler C, Ringwood AH. 2001. Expression of P-glycoprotein in the gills of  
9 oysters, *Crassostrea virginica*: seasonal and pollutant related effects. *Aquat*  
10 *Toxicol* 54:195-204.
- 11 10. Sheehan D, Power A. 1999. Effects of seasonality on xenobiotic and  
12 antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. *Comp Biochem Physiol*  
13 *C* 123:193-199.
- 14 11. Riveros A, Zuniga M, Hernandez A, Camano, A. 2002. Cellular biomarkers in  
15 native and transplanted populations of the mussel *Perumytilus purpuratus* in  
16 the intertidal zones of San Jorge Bay, Antofagasta, Chile. *Arch Environ*  
17 *Contam Toxicol* 42:303-312.
- 18 12. Halliwell B, Gutteridge JMC. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2<sup>nd</sup>  
19 ed, Oxford University Press, Oxford.
- 20 13. Keen JH, Habig WH, Jakoby WB. 1976. Mechanism for several activities of  
21 the glutathione S-transferases. *J. Biol. Chem.* 251:6183-6188.
- 22 14. Mora P, Fournier D, Narbonne J. 1999. Cholinesterase from the marine  
23 mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk. and *M. edulis* L. and from the

- 1 freshwater bivalve *Corbicula fluminea* Müller. *Comp Biochem Physiol C*  
2 122:353-356.
- 3 15. Boquené G, Bellanger C, Cadiou Y, Galgani F. 1995. Joint action of  
4 combination of pollutants of the acetylcholinesterase activity of several marine  
5 species. *Ecotoxicol* 4:266-279.
- 6 16. Alves SRC, Severino PC, Ibbotson DP, Silva AZ, Lopes FRAS, Sáenz LA,  
7 Bairy ACD. 2002. Effects of furadan in the brown mussel *Perna perna* and  
8 in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae*. *Mar Environ Res.* (no  
9 prelo).
- 10 17. Monserrat JM, Bianchini A., Bairy ACD. 2002. Kinetic and toxicological  
11 characteristics of acetylcholinesterase from the gills of oysters (*Crassostrea*  
12 *rhizophorae*) and other aquatic species. *Mar Environ Res* (no prelo).
- 13 18. Aebi H. 1984. Catalase In: Aebi H. *Methods of enzymatic analysis*. Academic  
14 Press, 105:121-126.
- 15 19. Medeiros ID. 2000. *Padronização e validação da metodologia de análise das*  
16 *enzimas catalase e glutathione S-transferase no mexilhão Perna perna.*  
17 *Dissertação de Mestrado em Aquicultura, UFSC, Florianópolis.*
- 18 20. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. 1961. A new and rapid  
19 colorimetric determination of acetylcholinesterase activities. *Biochem*  
20 *Pharmacol* 7:88-95.
- 21 21. Peterson GL. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et  
22 al. which is more generally applicable. *Anal Biochem* 83:346-356.
- 23 22. Wu SL, Feng XB, Wittmeier A. 1997. Microwave digestion of plant and grain  
24 reference materials in nitric acid or a mixture of nitric acid and hydrogen

- 1 peroxide for determination of multi-elements by inductively coupled plasma  
2 mass spectrometry. *J Anal Atom Spectr* 12:797.
- 3 23. Zar JH. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. 718  
4 pp.
- 5 24. Sies, H. 1991. Oxidative stress: From basic research to clinical application.  
6 *American Journal Medicine*, 91C, 32S-38S
- 7 25. Regoli, F. 1998. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and  
8 digestive gland of mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*.  
9 *Environmental Contamination and Toxicology* 34, 48-63.
- 10 26. Torres, MA., Testa, PC., Gáspari, C., Masutti, MB., Panitz, CM., Curi-  
11 Pedrosa, M., Almeida, EA., Di Mascio, P., Wilhelm Filho, D. Oxidative stress in  
12 the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina  
13 island, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* (No Prelo).
- 14 27. Bairy, ACD, 1990. Assimilação de cádmio e chumbo no sangue e tecidos de  
15 *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae) e seu efeito sobre a alfa-  
16 aminolevulinato desidratase eritrocitária. Porto Alegre, 1990. Dissertação de  
17 mestrado. Departamento de Bioquímica, instituto de biociências, Universidade  
18 federal do Rio Grande do Sul.
- 19 28. Mohamed Dellali, Mauricette Gnassia Barelli, Michèle Romeo and Patricia  
20 Aissa 2001. The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus*  
21 and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon.  
22 *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology &*  
23 *Pharmacology*, 130, 227-235

- 1 29. Najimi, S, Bouhaimi, A., Daubeze, M., Zekhnini, A., Pellerin, J., Narbone, JF.,  
2 Moukrin, A. Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus*  
3 *galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (south of  
4 Morocco). *Bulletim Environmental Contamination and Toxicology*. 58, 901-  
5 908.
- 6 30. MONSERRAT, J M, YUNES, J S, BIANCHINI, A. Inhibition of cholinesterase  
7 of aquatic species by extracts of cyanobacteria (*Anabaena spiroides*). In:  
8 THIRD SETAC WORLD CONGRESS, 2000, Brighton. Brighton:Society of  
9 environmental Toxicology and Chemistry.
- 10 31. Palmer,PA, Friedl, FE, Giordano AT, Vesely, DL.1995. Alterartion of  
11 environmental salinity modulates atrial natriuretic peptide concetrations in  
12 the gills of oyster, *Crassostrea virginica*.*Comp. Biochem. Physiol.*110A:171-  
13 178.
- 14 32. Guzenski, J. 1996. *Comparação do efeito da salinidade e concentração de*  
15 *substâncias húmicas no crescimento de Crassostrea rhizophorae (Guilding*  
16 *1828)*.*Dissertação de Mestrado em Aquicultura*, UFSC, Florianópolis.
- 17 33. Zanette, J., Freitas, FA., Ferreira, JF.Guzenski, J. Marques, MRF., Bairy,  
18 ACD.2002. Effects of salinity on oxidative stress related enzymes in the native  
19 Oyster *Crassostrea rhyizophorae* (Guilding, 1828). *Programas e resumos da*  
20 *XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica*.
- 21  
22  
23  
24

## Tabelas

Tabela 1. Tabela dos parâmetros físicos e químicos da água do mar nos dias de coleta nos diferentes locais

Parâmetro	Época/Local de coleta	Dezembro 2000	Fevereiro 2001	Abril 2001
Temperatura da água (°C)	Barranceira	25	31	23
	M. Grande	23,5	35	23
	Sta. Marta	27	29	24
	Sto. Antônio	27	29	24
Salinidade (‰)	Barranceira	20	8	12
	M. Grande	21	5	10
	Sta. Marta	12	5	13
	Sto. Antônio	34	28	35
Transparência (m)	Barranceira	1,8	1,8	1,6
	M. Grande	1,0	1,8	1,9
	Sta. Marta	1,3	1,1	0,8
	Sto. Antônio	1,2	0,8	2,2

\*dado não analisado. \*\* Coleta não realizada nesta estação.

**Tabela2** . Resultados obtidos para *Oyster Tissue* SRM 1566a

(n = 3 replicatas x 3 leituras/replicata)

Elemento	Valor encontrado (mg.kg <sup>-1</sup> )	Valor certificado (mg.kg <sup>-1</sup> )
V	4,67 ± 0,35	4,68 ± 0,15
Cr	1,39 ± 0,24	1,43 ± 0,46
Mn	11,9 ± 1,0	12,3 ± 1,5
Ni	2,06 ± 0,16	2,25 ± 0,44
Cu	63,4 ± 4,2	66,3 ± 4,3
Zn	869 ± 17	850 ± 49
As	15 ± 1,2	14 ± 1,2
Cd	4,50 ± 0,30	4,15 ± 0,38
Sn*	2 ± 0,1	3
Pb	0,400 ± 0,029	0,371 ± 0,014

\* valor informado

## FIGURAS

---

Fig. 1 Mapa da região de estudo. SAL-Santo Antonio de Lisboa, Bar. – Barranceira, MG.- Morro Grande, SM.- Santa Marta.

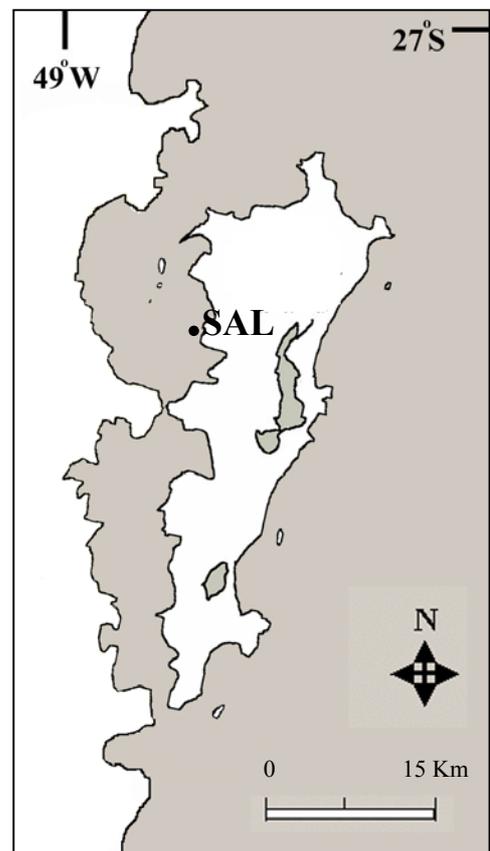
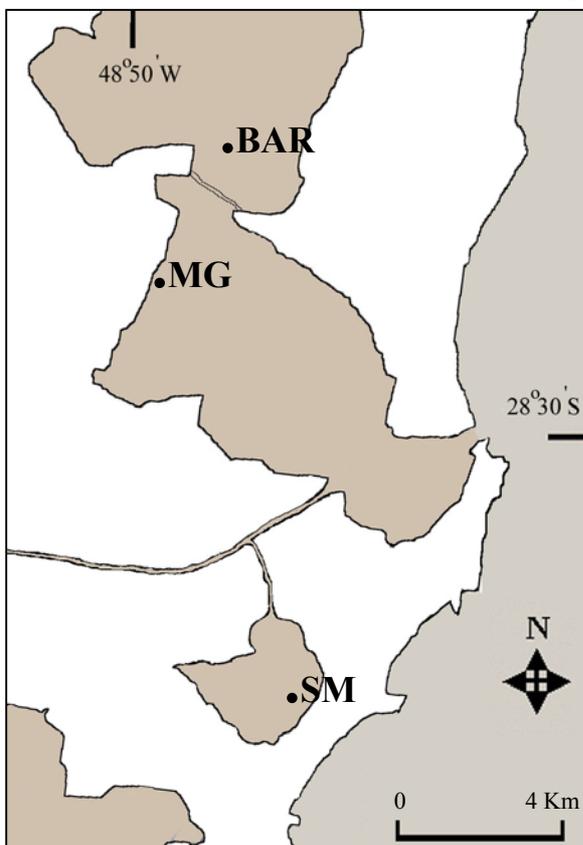
Fig. 2 Comprimento das ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae* coletadas nas regiões de cultivo em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril e destinadas para as análises bioquímicas. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos respectivamente.

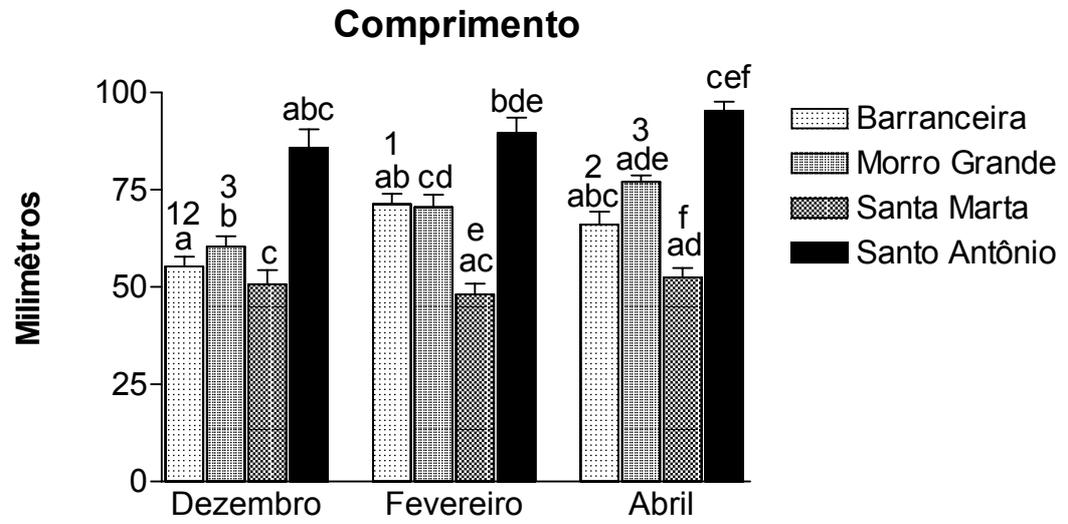
Fig.3 Atividades das enzimas acetilcolinestrases (AChE), Catalase(CAT) e glutathione s-transferase (GST) nas brânquias das ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos respectivamente.

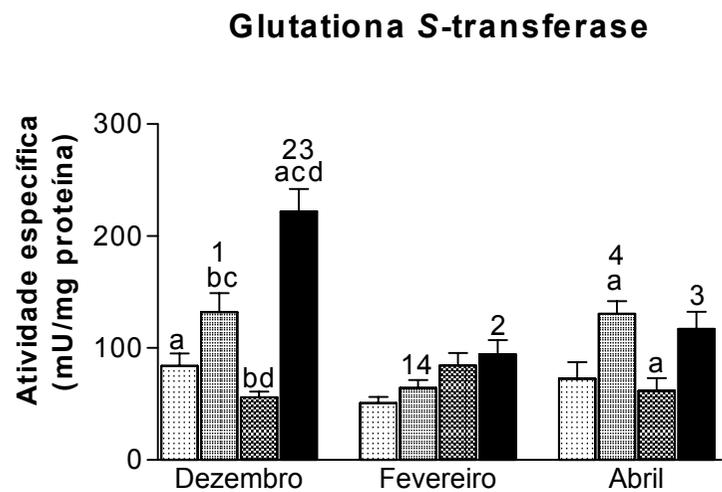
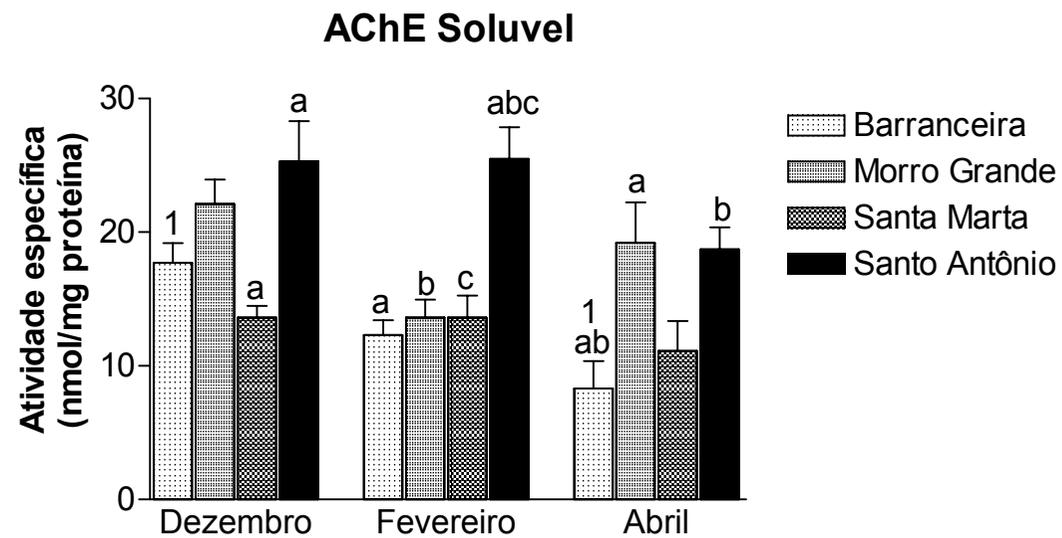
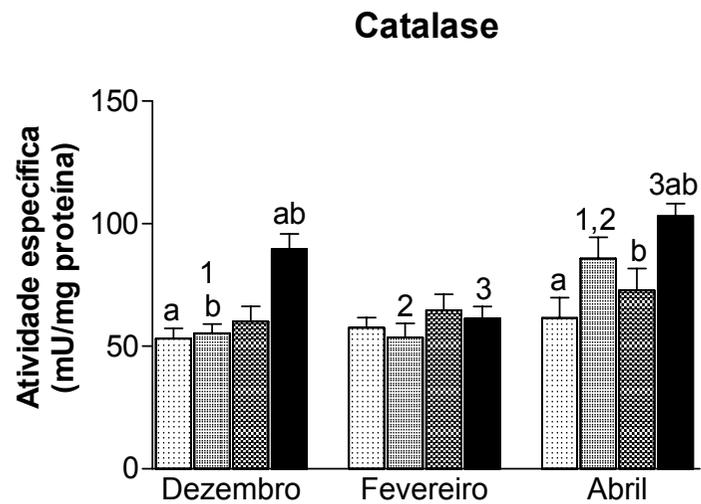
Fig. 4 Determinação dos metais traços vanádio, cromo, manganês e níquel nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

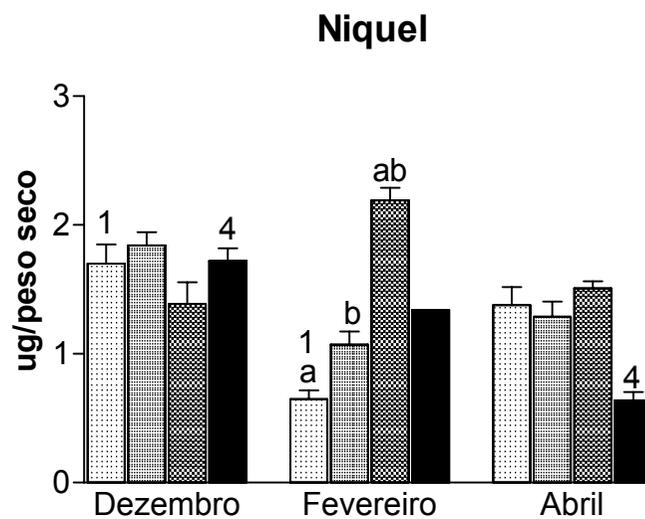
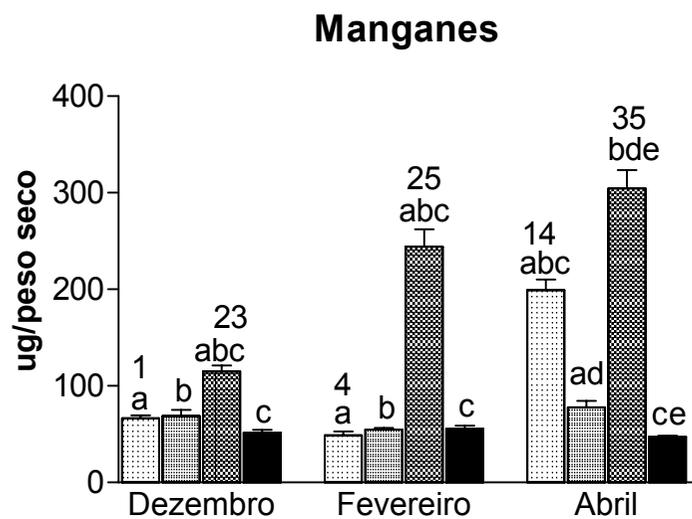
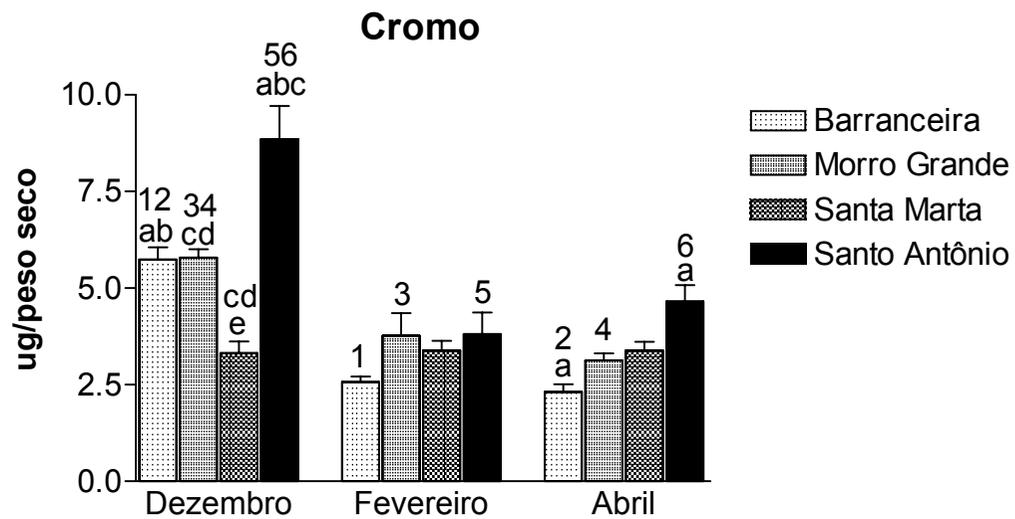
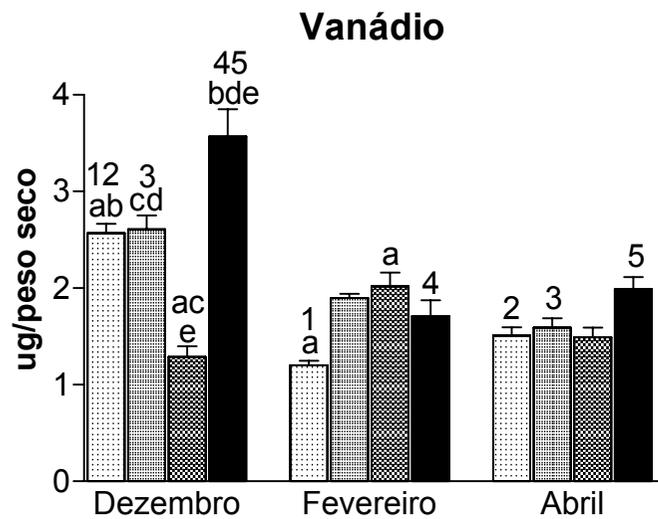
Fig. 5. Determinação dos metais traços cobre, zinco, arsênio e cádmio nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

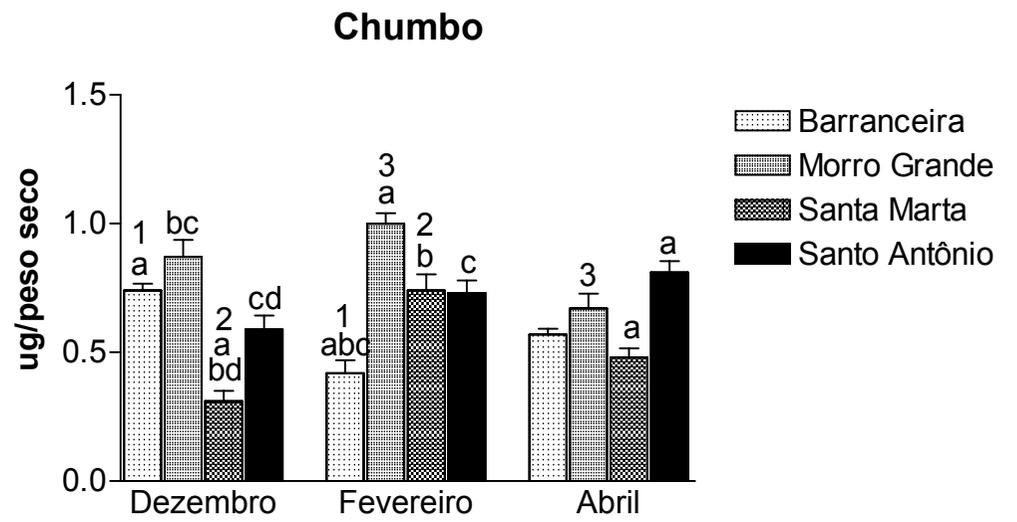
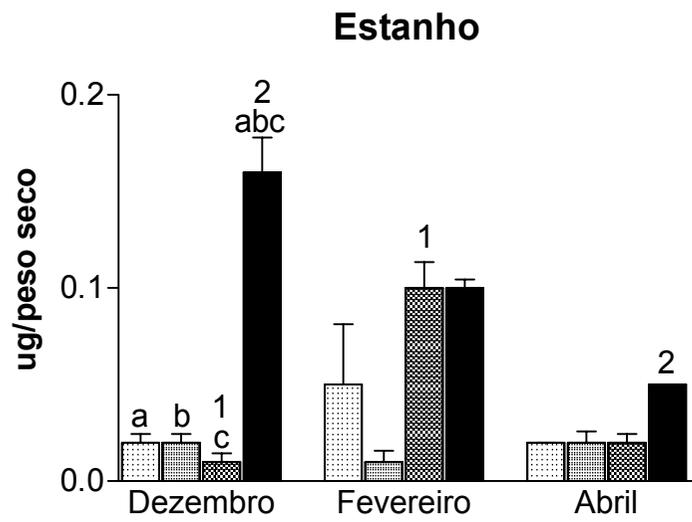
Fig. 6 Determinação dos metais traços estanho e chumbo nas partes moles das ostras *Crassostrea rhizophorae* coletadas em Santo Antonio de Lisboa (SAL), Barranceira (Bar), Morro Grande (MG), Santa Marta(SM) nos períodos de dezembro, fevereiro e abril. Letras e números indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os locais e períodos, respectivamente.

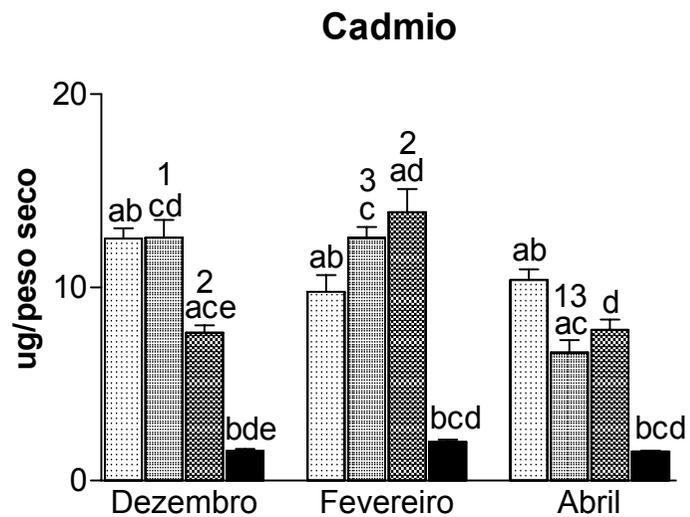
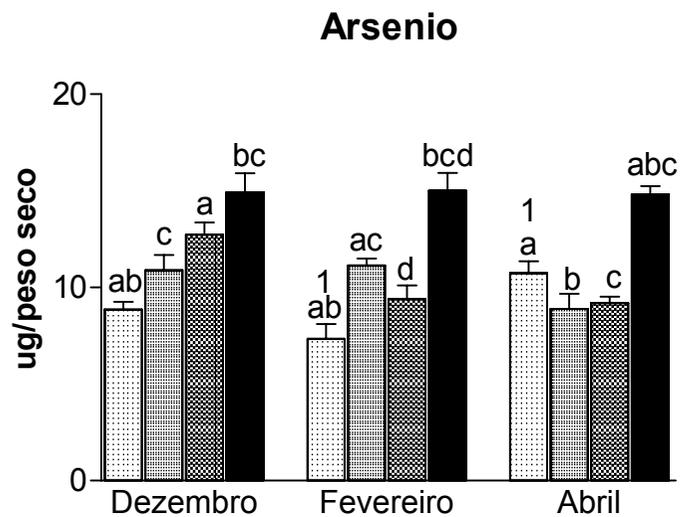
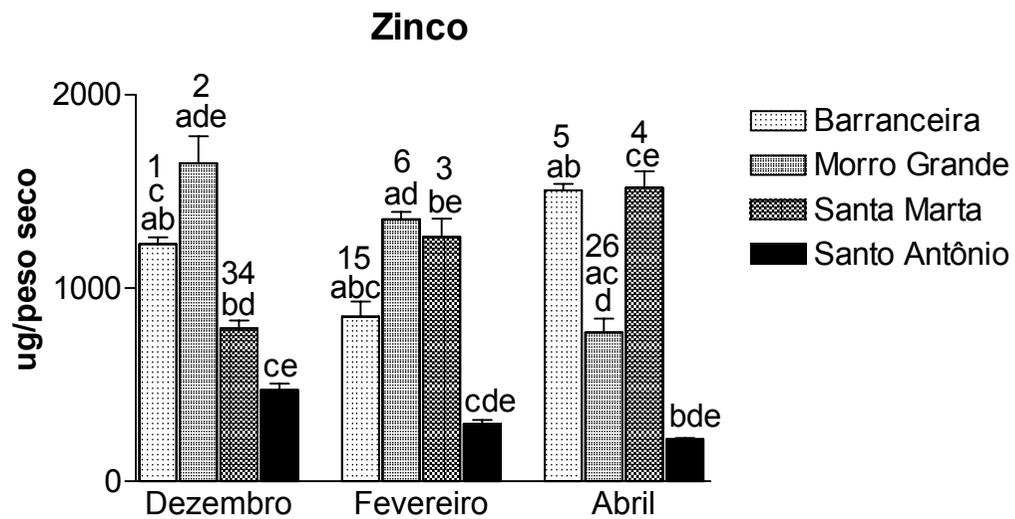
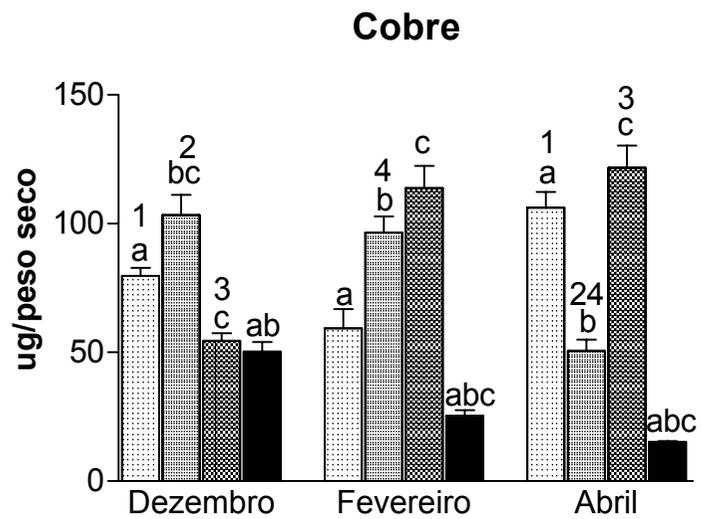












## **Considerações finais**

O crescente desenvolvimento da aquicultura mundial deve obrigatoriamente estar vinculado à constante preocupação com a qualidade de água, a base para o desenvolvimento dos organismos cultivados. No caso do cultivo de moluscos bivalves, existe uma preocupação adicional devido a capacidade destes organismos em bioacumular grande quantidade de xenobióticos orgânicos e inorgânicos em sua partes moles, em concentrações muitas vezes superiores às aquelas encontrados na água circundante.

Considerando o estado de Santa Catarina como o principal produtor de moluscos bivalves do Brasil, tornam-se cada vez mais relevantes estudos que visem determinar os níveis de contaminantes nos moluscos, bem como as respostas bioquímicas e fisiológicas que possam expressar o potencial efeito tóxico de xenobióticos.

No presente trabalho, as determinações de metais nas partes moles dos animais da região do complexo estuarino no município de Laguna mostraram um nível mais elevado para Cd, Cu, Mn e Zn em comparação com os níveis encontrados nas partes moles dos animais da região referência em Santo Antonio de Lisboa. Para alguns metais (e.g Cu e Zn), os níveis determinados foram superiores aos limites permitidos pelas leis brasileiras para os alimentos (pescados ou outros)(Portaria 685/98 da SVS/MS). Os valores encontrados inviabilizariam o comércio destes animais no mercado brasileiro, mas, paradoxalmente, tais determinações não podem ser consideradas conclusivas, dada a natureza pontual do presente trabalho.

Os níveis de metais, particularmente Cu e Zn, encontrados na região do complexo estuarino do município de Laguna podem representar um alerta, no sentido de orientar novos estudos nesta região, visando elucidar de forma mais clara as fontes potenciais de aporte de metais pesados. Estes estudos poderiam incluir ainda a caracterização da dinâmica de circulação das águas na região, de modo a evidenciar as possíveis influências sazonais da presença dos metais traços Cu e Zn no complexo. Estes estudos possibilitariam o estabelecimento de parâmetros mais sólidos para nortear o futuro da atividade de cultivo na região do complexo estuarino do município de Laguna.

As atividades das enzimas estudadas mostraram uma correlação aparentemente negativa com os níveis mais elevados dos metais Cd, Cu, Mn, e Zn nos períodos de dezembro e abril. Por outro lado, níveis mais elevados de atividade das enzimas nestes períodos estão associados aos maiores valores de salinidades, comprimento dos animais e, particularmente no período de dezembro, aos maiores níveis dos metais As, Cr, Sn e V. Tal fato indica a necessidade da realização de mais estudos sobre os mecanismos bioquímicos envolvidos na biossíntese das enzimas estudadas, o que contribuiria para interpretar a inibição e/ou ativação destas enzimas frente a contaminantes inorgânicos e a influência de fatores ambientais e endógenos, objetivando assim, a otimização do uso de biomarcadores bioquímicos nesta espécie de molusco.

Por outro lado, as respostas obtidas em estudos *in situ*, como as do presente trabalho, podem ser vistas como resultado da interação de fatores biológicos e fatores ambientais, além da presença de xenobióticos. Estas interações podem estar promovendo efeitos sinérgico ou antagônico sobre as

respostas bioquímicas dos organismos, o que dificulta a interpretação dos resultados.

Neste contexto, é importante considerar que o emprego de biomarcadores bioquímicos de contaminação ambiental tem sido recomendado e apresentado utilização crescente em programas de biomonitoramento principalmente por representar as primeiras respostas dos organismo frente a presença de xenobioticos. Assim sendo, existe uma constante procura em entender melhor os mecanismos envolvidos nas respostas envolvendo biomarcadores, bem como em padronizar a metodologia empregada e definir as espécies animais cultiváveis que possam ser utilizadas como organismos sentinela em programas de monitoramento ambiental em diferentes regiões.

## BIBLIOGRAFIA

- BURGEOT, T.; BOCQUÉNÉ, G.; PORTE, C.; DIMEET, J.; SANTELLA, R.M.; GARCIA DE LAPARRA, L.M.; PFHOL-LESZKOWICSC, A.; RAOUX C. & GALGANI, F. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** v.131, p.125-141. 1996.
- CANCIO, I ; ORBEA, A.; VOLK, A.; DARIUSH FAHIMI, H. & CAJARAVILLE, M.P. Induction of peroxisomal oxidases in mussels: Comparative effects of lubricant oil and Benzo(a)pyrene structure and function in *Mytilus galloprovincialis*. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 149, p.61-73. 1997.
- COSTA, S.W., GRUMANN A., OLIVEIRA NETO, F. M, & ROCKZANSKI, M. Cadeias produtivas do estado de Santa Catarina: aquícultura e pesca. Florianópolis EPAGRI. 62p. EPAGRI **Boletim Técnico** 97. 1998.
- EPAGRI, 2000. Projeto de cultivo de ostras -do-mangue (*Crassostrea rhizophorae*) junto às comunidades pesqueiras artesanais de Santa Catarina. 14pp.
- GALGANI, F., BOCQUENE,G., TRUQUET, P., BURGEOT, T., CHIFOLLEAU,J.F. & CLAISSE, D. Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the French coasts. **Oceanol. Acta** 5 v.4, p.355-364. 1992.
- GERCO (PROJETO GERENCIAMENTO COSTEIRO). **Diagnóstico ambiental do litoral de Santa Catarina: Caracterização sócio-econômica da Zona Costeira de Santa Catarina . Florianópolis:** Secretaria do Estado do Desenvolvimento Econômico e Integração ao Mercosul/IBGE, pp.52. 1997.

- LOPES, J.L. Rizicultura e poluição por metais pesados em águas da bacia do rio D'una-SC. Dissertação de mestrado desenvolvida no Departamento de Geociências, Curso de Geografia da Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC, 134p. 1994.
- NOAA (NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION.) **Technical Memorandum International Mussel Watch. Initial Implementation. Final Phase Report.** Maryland U.S.A, 63 p. 1995.
- PELLERIN-MASSICOTE, J. Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. **J. Aquat. Eco. Hlth.** v.3, p.101-111. 1994.
- PEREIRA, A; TEIXEIRA, A.L.; POLI, C.R.; BROGNOLI, F.F.; SILVA, F.C. da; RUPP, G. S.; SILVEIRA JR, N. & ARAÚJO S.C. **Biologia de cultivo de ostra.** Florianópolis-UFSC pp.70. 1998.
- POLI, C.R.& LITLLEPAGE J. Desenvolvimento do cultivo de moluscos no estado de Santa Catarina. In: **Anais do I congresso Sul Americano de aquicultura; X Simpósio Brasileiro de aquicultura; V Simpósio Brasileiro sobre cultivo de Camarão; II Feira de tecnologia e Produtos para aquicultura.** Recife, Brasil v.1, p.163-182. 1998.
- PHILIPS, D.J.H. Use of bioindicators in monitoring conservative contaminants program design imperative. **Mar. Pollut. Bull.** v.17, p.10-17. 1986.
- PROVIDA. Relatório final das medições hidráulico-sedimentológicas, físico-químicas e biológicas do complexo lagunar sul catarinense. Executor Instituto de Pesquisas Hidroviárias (INPH),v.1, 178p. 1994.
- RAND, G.M.; WELLS, P.G. & McCARTY, L.S.. Introduction to aquatic toxicology. In: Rand G. M. (Ed.) **Fundamentals of aquatic toxicology (Effects,**

- environmental fate, and risk assessment**). Taylor & Francis , Washington, U.S.A., pp. 1/66. 1995
- REGOLI, F. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v.34, p.48-63. 1998.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **Eur. J. Biochem.** v. 215, p. 213-219.1993.
- STEGEMAN, J.J.; BROUWER, M.; DI GIULIO, R.T.; FÖRLIN, L; FOWLER, B.A.; SANDERS, B.M. & VAN VELD, P.A. Molecular responses to enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: HUGGET, R.J.; KIMERLE, R.A.; MEHRLE JR., P.M. & BERGMAN, H.L. **Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological markers of Anthropogenic Stress**. Chelsea: SETAC/Lewis Publishers, c.6, p. 235-335. 1992.
- TIMBRELL, J.A **Principles of biochemical toxicology**. Ed. J.A. Timbrell. Taylor & Francis, Londres. 1991.
- VIARENGO, A. & CANESI, L. Mussels as biological indicators of pollution. **Aquaculture**. v. 94, p. 225-243. 1991.
- WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P., SIBLY, R.M. & PEAKALL, D.B. **Principles of ecotoxicology**. Taylor & Francis, Londres. pp.321. 1996.
- WALKER, C.H. Biochemical biomarkers and potentiation of toxicity. **Biotherapy**. v.11, p. 113-117 1998.