



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TAYNÁ ARAÚJO DOS SANTOS

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA GLÂNDULA DIGESTIVA DA
OSTRA DO MANGUE *CRASSOSTREA GASAR* DE SISTEMAS DE CULTIVO DE DUAS
RESEX AMAZÔNICAS

BELÉM-PA

2021

TAYNÁ ARAÚJO DOS SANTOS

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA GLÂNDULA DIGESTIVA DA
OSTRA DO MANGUE *CRASSOSTREA GASAR* DE SISTEMAS DE CULTIVO DE DUAS
RESEX AMAZÔNICAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Lílian Lund Amado.
Instituto de Ciências Biológicas ICB-UFPA

BELÉM-PA

2021

TAYNÁ ARAÚJO DOS SANTOS

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA GLÂNDULA DIGESTIVA DA
OSTRA DO MANGUE *CRASSOSTREA GASAR* DE SISTEMAS DE CULTIVO DE DUAS
RESEX AMAZÔNICAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Colegiado do Curso de Licenciatura em
Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da
Universidade Federal do Pará, como requisito
parcial para a obtenção do grau de Licenciatura
em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Lílian Lund Amado

Instituto de Ciências Biológicas ICB-UFPA

Avaliadora: Dra^a Sildiane Martins Cantanhêde

Instituto de Ciências Biológicas ICB-UFPA

Avaliadora: Carla Carolina Miranda dos Santos

Instituto de Ciências Biológicas ICB-UFPA

BELÉM-PA

2021

Dedico este trabalho a minha mãe, porque sem ela eu não teria conseguido chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus por ter me dado forças e paciência para suportar as adversidades que surgiram durante a graduação.

A minha mãe Rozenildes, pela força que teve em ter me auxiliado a entrar na UFPA e por ter me dado todo suporte necessário para que eu conseguisse finalizar a graduação, sem ela teria sido quase impossível entrar e sair deste curso. Devo a minha vida a ela!

A minha irmã Talita, pela compreensão durante meu percurso e por me animar nos meus momentos de tristeza.

A minha tia Gizelle, que sempre acreditou em mim desde a minha infância e continua me apoiando e torcendo pelo meu sucesso profissional.

Aos meus avós, principalmente a minha vó Francisca e meu avô Batista, que cuidaram de mim durante a infância e parte da adolescência. Esses cuidados, contribuíram indiretamente para que eu conseguisse cursar uma universidade pública e me formar.

Ao meu Tio Clo, que é como um pai pra mim.

As minhas amigas da graduação Amanda, Aline, Beatriz, Jamyle e Malena por estarem ao meu lado e sempre dispostas a me ajudar quando precisei. Sou muito grata por ter vocês na minha vida.

Ao meu professor de Muay Thai e velho amigo Edu, e ao Robson, meu professor de Ballet, que foram muito importantes nos meus momentos de estresse, pois a dança e o esporte ajudaram a aliviar os estresses causados pelo curso.

Ao meu ex- Orientador Sued, por ter me concedido a oportunidade de estagiar no PIBID de 2017 à 2020, no qual foi uma experiência que agregou muito na minha formação docente.

A minha Orientadora Lílian, por ter me recebido de braços abertos no laboratório de Ecotoxicologia Aquática em 2018, sendo essencial ao meu desenvolvimento profissional como pesquisadora. Sou muito grata pela forma que me auxiliou na escrita, com disponibilidade para os meus questionamentos, com paciência para os meus atrasos, além de clarear a minha mente quando eu estava perdida, tornando a escrita mais fácil e direcionada. Sem a sua ajuda, seria quase impossível concluir esse TCC. Obrigada!

As minhas amigas do laboratório de Ecotoxicologia Aquática Irina, Sildiane e Clayciane pela amizade que ultrapassou as fronteiras do laboratório. A Irina e Sildiane por toda a ajuda, me ensinando com muita paciência sobre todos os procedimentos realizados no laboratório, desde a retirada dos tecidos dos animais aos cálculos dos biomarcadores, se não fosse por vocês, eu não conseguiria realizar boa parte deste trabalho. Sou muito grata pela participação de vocês na minha trajetória.

Aos motoristas do Curuçambá-UFPA que chegavam rápido na UFPA, impedindo que eu me atrasasse para às aulas e análises do laboratório. E aos os funcionários do R.U que colocavam mais comida no meu prato, pois isso permitiu que eu pudesse ir mais tarde pra casa e me concentrasse melhor nas minhas atividades no turno da tarde.

A todos os meus Professores e Professoras da graduação que tiveram um papel fundamental na minha formação como Bióloga.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	3
3. ARTIGO CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO (Environmental Monitoring Assessment)	6
3.1. Resumo	6
3.2. Introdução	7
3.3. Material e Métodos	9
3.3.1. Amostragem	9
3.3.2. Coletas	9
3.3.3. Variáveis Ambientais	10
3.3.4. Preparação das Amostras	10
3.3.5. Análise dos Biomarcadores	10
3.3.5.1. Homogeneização e preparo das amostras	11
3.3.5.2. Capacidade Antioxidante (ACAP).....	11
3.3.5.3. Peroxidação Lipídica (LPO-TBARS)	11
3.4. Análise Estatística	12
3.5. Resultados	12
3.6. Discussão	15
3.7. Conclusão	17
3.8. Referências Bibliográficas	18
4. ANEXO I	22

LISTA DE SIGLAS

ABAP	2'2'-azobis-2-metilpropilamida dihidroclorato
ACAP	Capacidade Antioxidante Total contra radicais peroxil
ERO'S	Espécies Reativas de Oxigênio
INMETRO	Instituto Nacional de Meteorologia
LPO	Peroxidação Lipídica
LS	Lauro Sodré
MDA	Malondialdeído
NS	Nazaré do Seco
pH	Potencial Hidrogênico
RESEX	Reserva Extrativista
SDA	Sistema de Defesa Antioxidante
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

1. INTRODUÇÃO GERAL

O manguezal é um ecossistema estuarino onde há o encontro de água doce dos rios com a água do mar, havendo transporte de grande quantidade de nutrientes e matéria dos rios para o mar, sendo um dos ecossistemas mais produtivos para o planeta (Schaeffer-Novelli et al., 2000). Essa alta produtividade, favorece a alimentação e a reprodução de muitas espécies, levando este tipo de ecossistema a uma alta biodiversidade (Schaeffer-Novelli, 1995).

Na região amazônica, essas características dos manguezais favorecem atividades econômicas, destacando-se a aquicultura, uma atividade que visa a produção sustentável de organismos aquáticos para o consumo humano (De Souza Sampaio et al., 2019). Neste sentido, o cultivo da ostra-do-mangue *Crassostrea gasar* tem ganhado destaque. As ostras-do-mangue *Crassostrea gasar* são moluscos bivalves, filtradores e osmoconformadores (o líquido extracelular acompanha a variação da salinidade do meio) que habitam as raízes de mangues nos estuários da Região Amazônica (De Melo et al., 2010; David et al., 2018).

No estado do Pará, a aquicultura de ostras é geralmente realizada por pequenas comunidades locais em Reservas Extrativistas (RESEX'S) - categoria de Unidade de Conservação que permite a exploração de recursos naturais de forma sustentável (IBAMA, 2006; Batista & Simonian, 2013). Por conta da esperada maior qualidade ambiental desses locais em relação a áreas que não são protegidas, atrelados ao baixo custo dos materiais, o cultivo tem elevado a produção de ostras no estado e contribuído para a expansão e manutenção da riqueza das espécies (Tenório et al., 2014; De Souza Sampaio et al., 2019).

A RESEX Mãe Grande Curuçá e a RESEX Maracanã estão localizadas no Nordeste Paraense, nos municípios de Curuçá e Maracanã respectivamente, elas possuem o sistema de cultivo em travesseiro, recomendado para áreas de manguezal com variação de marés (Silva, 1995). Esse sistema ocorre por meio de travesseiros de telas sob mesas de madeira que ficam submersas e dispostas horizontalmente (Pereira, et al., 2007), o que faz com que os organismos dos cultivos fiquem totalmente expostos às variações sazonais naturais. Relatos dos aquicultores que atuam nessas RESEX, levantam a hipótese de que a variação sazonal da salinidade, temperatura e pH podem estar interferindo no balanço oxidativo da glândula digestiva das ostras cultivadas nas RESEX. Os trabalhadores observam que as sementes da RESEX Mãe Grande Curuçá,

comunidade Lauro Sodré (Curuçá-PA) não chegam ao tamanho comercial, ao contrário do que ocorre na RESEX Maracanã, comunidade Nazaré do Seco (Maracanã- PA).

As ostras são organismos adaptados à variação anual dos parâmetros físico-químicos (Galvão et al., 2013). Entretanto, intensas variações nesses parâmetros, podem causar distúrbios metabólicos e consequentemente induzir o estresse oxidativo (Matoo et al., 2013). O estresse oxidativo ocorre quando as defesas antioxidantes dos organismos não conseguem combater a geração de espécies químicas reativas derivadas do metabolismo energético, dentre outras fontes, causando o desbalanço entre a produção e a eliminação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), as quais são danosas às biomoléculas (Lushchak, 2010).

Salinidade, pH e temperatura são fatores físico-químicos que influenciam na homeostase das ostras de cultivo. A salinidade é o principal parâmetro abiótico que afeta o metabolismo dos organismos, pois intensas variações na salinidade ambiental causam a necessidade de ajustes na osmolaridade celular. Assim, as células demandam um alto gasto energético para que a concentração de osmólitos se iguale ao ambiente, podendo induzir a uma condição de estresse oxidativo (Carregosa et al., 2014; Pourmozaffar et al., 2019).

A temperatura possui a capacidade de regular a fisiologia e o metabolismo dos organismos, sendo vital aos processos biológicos. Nos bivalves, o nível de variação na temperatura pode afetar negativamente a atividade enzimática que mantém o sistema antioxidante, pois tanto o aumento quanto a diminuição podem induzir ao estresse oxidativo, refletindo na capacidade de detoxificação, crescimento, reprodução (Lushchak, 2010). No meio, variações de temperatura tem o potencial de alterar a disponibilidade de nutrientes no ambiente aquático (Khan et al., 2021).

O pH (Potencial Hidrogênioônico) também é considerado um estressor ambiental que possui uma ampla variação nos ambientes estuarinos, na qual, tende a alterar a estabilidade de proteínas, pois eleva o gasto energético para a manutenção de proteínas funcionais, comprometendo a homeostase energética (Yang et al., 2020, Bednarsek et al., 2021). A variação de pH tem se intensificado devido ao aumento da acidificação dos oceanos, podendo afetar o balanço osmótico da ostra do mangue, visto que, condições estressantes necessitam de um alto custo metabólico para manter a sua capacidade antioxidante e evitar danos celulares (Hu et al., 2015; Sampaio et al., 2020; Khan et al., 2021).

A geração excessiva de EROS diante de condições físico-químicas estressantes tem o potencial de causar danos celulares. Dessa forma, os biomarcadores bioquímicos são ferramentas importantes para o monitoramento da qualidade ambiental, pois podem dar uma resposta preditiva sobre a condição ambiental do ponto de vista biológico, permitindo observar o nível de exposição ao qual os organismos estão submetidos e os efeitos dessa exposição (Khan et al., 2021; Lomartire et al., 2021; Dos Santos et al., 2022).

Para observar as respostas bioquímicas frente a variação dos parâmetros físico-químicos, é necessário a utilização de tecidos alvo. Nesse contexto, a glândula digestiva possui significativa importância, porque apresenta a capacidade de armazenar reservas energéticas na forma de carboidratos e lipídeos que são utilizadas na reprodução e em situações de estresse (Gosling, 2003). Em condições de estresse, essas reservas tendem a ser utilizadas devido ao alto gasto metabólico para a manutenção da homeostase (Khan et al., 2021).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência da variação sazonal da salinidade, temperatura e pH sobre as respostas de estresse oxidativo na glândula digestiva da ostra do mangue *Crassostrea gasar* em dois períodos climáticos (transição seco chuvoso e chuvoso) em duas RESEX Amazônicas por meio da capacidade antioxidante total e danos oxidativos em lipídeos de membrana.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATISTA, I. M. S.; SIMONIAN, L. T. L. Implicações políticas, econômicas e socioambientais da RESEX Mãe Grande de Curuçá: perspectivas de desenvolvimento sustentável no estuário paraense? **Novos Cadernos NAEA**, v. 16, n. 1, p. 203–220, 2013.

BEDNARSEK, N. et al.. Severe biological effects under present-day estuarine acidification in the seasonally variable Salish Sea. **Science of The Total Environment**. Volume 765. 2021

CARREGOSA, V. et al. Physiological and biochemical responses of three Veneridae clams exposed to salinity changes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 177–178, p. 1–9, 2014.

DAVID, D. D. et al. Capacity of tissue water regulation is impaired in an osmoconformer living in impacted estuaries? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, n. September, p. 375–382, 2018.

DE MELO, A. G. C. et al. Molecular identification, phylogeny and geographic distribution of Brazilian mangrove oysters (*Crassostrea*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, n. 3, p. 564–572, 2010.

DE SOUZA SAMPAIO, D. et al. Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 1, p. 88–104, 2019.

DOS SANTOS, F. S. et al. How does the brown mussel *Perna perna* respond to environmental pollution? A review on pollution biomarkers. **Journal of Environmental Sciences**, v. 111, p. 412–428, 2022.

GALVÃO, M.S.N. et al. Molecular identification and distribution of mangrove oysters (*Crassostrea*) in an estuarine ecosystem in Southeast Brazil: implications for aquaculture and fisheries management. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 10, p. 1589–1601, 2013.

GOSLING, E. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture. **Fishing News Books**, 455P, 2003

IBAMA. Plano de Manejo Reserva Extrativista Chico Mendes. **Icmbio**, p. 90, 2006.

KHAN, F. U. et al. Antioxidant responses of the mussel *Mytilus coruscus* co-exposed to ocean acidification, hypoxia and warming. **Marine Pollution Bulletin**, v. 162, n. November 2020, p. 111869, 2021.

LOMARTIRE, S.; MARQUES, J. C.; GONÇALVES, A. M. M. Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. **Ecological Indicators**, v. 122, 2021.

LUSHCHAK, V. I. **Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquatic Toxicology**, 2011. HU, M. et al. Effect of pH and temperature on antioxidant responses of the thick shell mussel *Mytilus coruscus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 46, n. 2, p. 573–583, 2015.

MATOO, O. B. et al. Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*). **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 164, n. 4, p. 545–553, 2013.

PEREIRA, A. M. L. et al. **A criação de ostras para a aquicultura familiar**. Embrapa Meio-Norte, 2007.

POURMOZAFFAR, S. et al. The role of salinity in physiological responses of bivalves. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 3, p. 1548–1566, 2020.

SAMPAIO, D. DE S. et al. Variation in environmental characteristics of waters among amazon coast oyster culture units. **Acta Amazonica**, v. 50, n. 4, p. 295–304, 2020.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. et al. Aquatic Ecosystem Health & Management Brazilian mangroves Brazilian mangroves. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 3, n. 4, p. 561–570, 2000.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo: **Caribbean Ecological Research**. 1995 64p.

SILVA, F. C. Cultivo. In: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Departamento de Aquicultura. **Curso sobre cultivo de ostras**. Santa Catarina. 1995.

TENÓRIO, G. S. et al. Mangrove shrimp farm mapping and productivity on the Brazilian Amazon coast: Environmental and economic reasons for coastal conservation. **Ocean and Coastal Management**, v. 104, p. 65–77, 2015.

YANG, Z. et al. Structure and functional analysis reveal an important regulated role of arginine kinase in *Patinopecten yessoensis* under low pH stress. **Aquatic Toxicology**, v. 222, n. February, p. 105452, 2020.

3. ARTIGO CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO PARA A REVISTA ENVIRONMENTAL MONITORING ASSESSMENT

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA GLÂNDULA DIGESTIVA DA OSTRA DO MANGUE *CRASSOSTREA GASAR* DE SISTEMAS DE CULTIVO DE DUAS RESEX AMAZÔNICAS

Tayná Araújo dos Santos ^a, Irina Sofia Cardoso de Carvalho^a, José Ribamar da Cruz Freitas Júnior ^b, Lílian Lund Amado^a

^aLaboratório de Ecotoxicologia, Instituto de Ciências Biológicas e Laboratório de Pesquisas em Monitoramento Ambiental Marinho, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brazil.

^bLaboratório de Aquicultura, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Castanhal, Pará, Brazil

e-mail: taynaaraujo3042@gmail.com

Resumo

Para observar se ostras *Crassostrea gasar* cultivadas em duas Reservas Extrativistas Amazônicas sob distintas variações físico-químicas naturais são afetadas de forma diferenciada em suas respostas antioxidantes e danos oxidativos, avaliou-se a Capacidade Antioxidante Total (ACAP) e quantificou-se a geração de Peróxidos Lipídicos (LPO) nas glândulas digestivas, além da biometria (peso, comprimento, largura e altura) dos animais de distintas RESEX. As coletas foram realizadas nos períodos transição seco-chuvoso e chuvoso em dois locais de cultivo localizados em regiões estuarinas sob distintos níveis de variação de salinidade, temperatura e pH (baixo estuário–NS e alto estuário–LS). Na transição seco-chuvoso, observou-se uma baixa ACAP nos dois pontos em relação ao período chuvoso e níveis LPO com diferença significativa no período transição ao contrário do chuvoso. No chuvoso, verificou-se um investimento rápido em crescimento em LS quando comparado com NS, sendo o inverso no período transição. A variação natural de parâmetros abióticos nos períodos analisados influencia o sistema de defesa antioxidante (SDA) e a geração de dano oxidativo nas populações de *C. gasar* amostradas. O período chuvoso demonstra ser o mais desafiador para os organismos de ambas as populações, pela necessidade de indução nas defesas antioxidantes nestes animais.

Palavras chave: *Crassostrea gasar*, variação sazonal, Parâmetros físico-químicos, defesa antioxidante, peroxidação lipídica.

Abstract

To observe whether *Crassostrea gasar* oysters cultivated in Amazon Extractive Reserves under different natural physicochemical variations are differently affected in their antioxidant responses and oxidative damage, were evaluated Total Antioxidant Capacity (ACAP) and quantified Lipid Peroxide generation (LPO) in the digestive glands, in addition to biometry (weight, length, width and height) of animals from different RESEX. Samplings were carried out in the dry-rainy and rainy transition periods in two cultivation sites located in estuarine regions under different levels of variation in salinity, temperature and pH (low estuary–NS and high estuary–LS) In the dry-rainy transition, there was a low ACAP in both points in relation to the rainy season and LPO levels with significant differences at dry-rainy transition on the contrary to rain period. In the rainy season, there was a fast-growing investment in LS when compared to NS. The natural variation of abiotic parameters in the analyzed periods influences the antioxidant defense system (ADS) and the generation of oxidative damage in the populations of *C. gasar*. The rainy season proves to be the most challenging for both populations, due to the need to induce antioxidant defenses in these animals.

Keywords: *Crassostrea gasar*, Seasonal Variation, Physical-chemical Parameters, Antioxidant Defense, Lipid Peroxidation.

Introdução

As ostras do gênero *Crassostrea* são organismos bivalves e filtradores, que são cultivados nas regiões estuarinas e de manguezais da Região Amazônica. Os estuários são locais onde há o encontro da água doce dos rios com a água salgada do mar, criando um ambiente de água salobra. Estes ambientes possuem uma alta quantidade de nutrientes, tornando-se favorável ao cultivo de ostras (Oliveira et al., 2018).

O cultivo da ostra-do-mangue em estuários, é uma atividade que gera renda, movimenta a economia local, auxilia na manutenção dos estoques naturais e na conservação do ambiente estuarino (Guimarães et al., 2008). Entretanto, este cultivo pode ser afetado por vários fatores físico-químicos, como a salinidade, a temperatura e o pH.

A salinidade é um dos principais parâmetros abióticos que mais afeta o cultivo, pois o sódio tem um papel fundamental no balanço osmótico dos organismos em função do caráter

osmoconformador das ostras, onde o líquido extracelular acompanha a salinidade do meio, a fim de garantir o equilíbrio com o ambiente aquático (Carregosa et al., 2014; David et al., 2018).

Dessa forma, alterações rápidas ou intensas nos níveis de salinidade, temperatura e pH demandam um alto gasto energético para a manutenção da homeostase. Quando a resposta do sistema de defesa antioxidante não é imediata ou na intensidade apropriada, os organismos podem entrar em uma condição denominada de estresse oxidativo. Tal situação impacta diretamente a regulação de processos fisiológicos destes animais, podendo danificar proteínas, lipídeos e DNA, afetando negativamente a aquicultura de ostras. (Carregosa et al., 2014, Amaro et al., 2019).

No Pará, a ostreicultura é uma atividade que tem mostrado constante crescimento nos últimos anos e costuma ser realizada em reservas extrativistas (RESEX) devido a qualidade ambiental do local (de Souza Sampaio et al., 2017). As sementes (estágio do desenvolvimento em que a ostra se fixa no substrato) podem ser obtidas de coletores instalados ao longo do estuário e sua produção tende a ser variável de acordo com a localidade.

A RESEX Mãe Grande Curuçá (Curuçá-PA) e a RESEX Maracanã (Maracanã-PA), onde estão localizadas a Comunidade Lauro Sodré e Nazaré do seco respectivamente, são Reservas Ambientais Extrativistas Marinhas que foram criadas em 2002 e estão situadas nos estuários do Nordeste paraense. Possuem o cultivo de ostra como uma das atividades extrativistas realizada por associações de aquicultores locais, sendo uma atividade que tem se expandido nos últimos anos. (Trombeta & Sampaio, 2021)

Diante das observações dos aquicultores locais, percebe-se que as sementes mantidas na RESEX Mãe Grande Curuçá não chegam ao tamanho adequado para comercialização, enquanto na RESEX Maracanã alcançam o tamanho comercial.

Neste contexto, acredita-se que a variação dos parâmetros físico-químicos que ocorrem na RESEX Mãe Grande de Curuçá, por ser uma área de variações mais intensas devido a localização geográfica (mais afastada do oceano) poderia estar interferindo no balanço oxidativo dos indivíduos. Isso acarretaria um gasto energético direcionado ao retorno à homeostase em detrimento do crescimento.

Desta forma, o uso de biomarcadores bioquímicos torna-se uma importante ferramenta para monitorar se o estresse oxidativo é um fator limitante no cultivo. O conjunto de respostas biológicas analisadas no contexto dos biomarcadores, permite observar se o nível de variação dos fatores abióticos está sendo negativo e quantificar os possíveis danos celulares, com o

objetivo de atuar na prevenção de danos em níveis biológicos superiores (Zanette et al., 2006; Sardi et al., 2020).

Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência da variação sazonal da salinidade, temperatura e pH sobre as respostas de estresse oxidativo na glândula digestiva da ostra do mangue *Crassostrea gasar* em dois períodos climáticos (transição seco-chuvoso e chuvoso) em duas RESEX Amazônicas por meio da capacidade antioxidante total e danos oxidativos em lipídeos de membrana.

Material e Métodos

Amostragem

A área de estudo é caracterizada por ser rodeada por estuários e baías, onde a descarga dos rios e oceânica causada pela sazonalidade do ciclo de marés, influenciam diretamente na salinidade, temperatura e o pH (Sousa et al., 2020). Dessa forma, foram selecionadas duas Reservas Extrativistas (RESEX) da costa paraense para amostragem (Figura 1): RESEX Mãe Grande Curuçá, localizada na comunidade Lauro Sodré (LS) no alto estuário do município de Curuçá e a RESEX Maracanã, localizada na comunidade Nazaré do Seco (NS) no baixo estuário do município de Maracanã.

Coletas

Foram coletados 15 indivíduos, em cada ponto e período (priorizando-se os maiores de cada ambiente, de acordo com a orientação dos produtores). Os animais foram capturados com coletores artificiais em um banco de sementes e transportados até o laboratório em caixa térmica com gelo para atenuar o estresse.

As coletas ocorreram durante o ano de 2019, nos períodos sazonais: transição seco-chuvoso (Janeiro/19) e chuvoso (Abril/19).

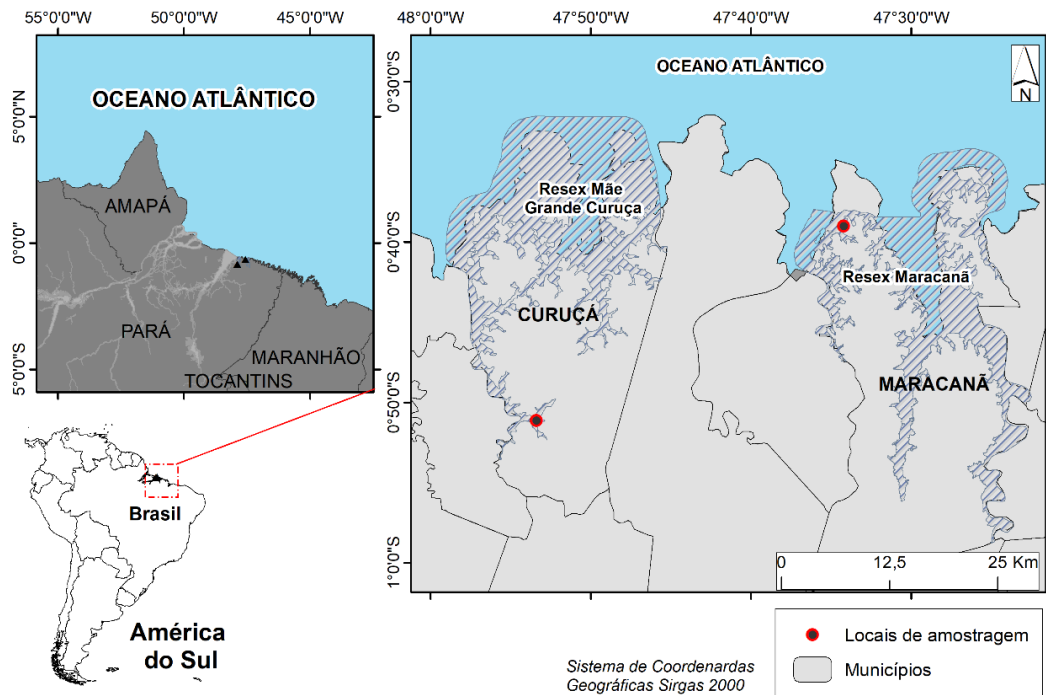


Figura 1: Locais de amostragem são marcados com um ponto, RESEX Mãe Grande Curuçá (LS) e RESEX Maracanã (NS). As áreas de abrangência das RESEX estão marcadas em hachurado.

Variáveis Ambientais

A temperatura, salinidade e pH da água foram mensuradas no local, através de sonda multiparâmetros, em um trecho de cada RESEX. Enquanto os dados da precipitação foram retirados do site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação Salinópolis, por ser a mais próxima dos pontos de coleta, sendo utilizados os meses de Janeiro à Junho de 2019 para delimitar os meses de coleta, considerando a variação sazonal.

Preparação das amostras

No laboratório, foram mensurados os parâmetros biométricos: comprimento total, largura e altura das valvas de cada indivíduo e posteriormente a concha juntamente com a parte mole foram pesados em balança analítica (peso total).

Em seguida, ocorreu a dissecação para retirada de glândulas digestivas, as quais foram acondicionadas em tubos do tipo endorff e armazenadas a -80 C° até às análises bioquímicas.

Análises dos biomarcadores

Homogeneização e preparo das amostras

Para a dosagem dos biomarcadores, as amostras foram homogeneizadas tampão resfriado (20 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, Sacarose 500 mM, KCl 150 mM, DTT 1 mM e PMSF 0,1 mM) com pH 7.6 e na proporção 1:4 (P/V), segundo o método de Bainy et al. (1996). Os homogeneizados foram centrifugados a 20.000 x g por 20 min a 4 °C. Os sobrenadantes resultantes foram aliquotados e mantidos a -80 °C até o momento das dosagens.

O conteúdo de proteínas foi medido com kit comercial (Doles LTDA, Brasil), baseado no teste de Biureto (citrato trissódico 0,114M, carbonato de sódio 0,21M e sulfato de cobre 0,01M) para proteínas, as leituras foram realizadas em leitor de microplacas multimodal (Victor X3, Perkin Elmer) a 550 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de proteínas/mL.

Capacidade Antioxidante (ACAP)

Segundo a metodologia descrita por Amado et al. (2009), esta ferramenta avalia a capacidade de interceptação de EROs das amostras. Desse modo, gera-se *in vitro* radical peróxil pela termodegradação do 2'2'-azobis-2-metilpropilamida dihidroclorato (ABAP). O radical peróxil gerado oxida o composto H₂DCF-DA que se torna fluorescente na forma de DCF⁻. Desta forma, quanto maior a capacidade antioxidante da amostra, menor será a fluorescência detectada.

O protocolo foi seguido conforme descrito por Amado et al. (2009), utilizando-se 0,75mg/mL de proteínas por amostra, conforme padronizações realizadas previamente. As leituras foram realizadas em leitor de microplaca (Victor X3, Perkin Elmer) de fluorescência (485nm e 530nm para excitação e emissão, respectivamente) durante trinta minutos a 37°C. Os resultados foram expressos como inverso da área relativa em relação aos níveis de EROS sem ABAP, que quantificam potenciais pró-oxidantes liberados nas amostras.

Peroxidação lipídica (TBARS)

De acordo com Oakes & Van Der Kraak (2003), o ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) busca quantificar o malondialdeído (MDA), subproduto da terceira fase da peroxidação lipídica. Dessa forma, a partir da padronização, optou-se pela utilização de 30 microlitros de amostras de glândula digestiva. Seguiu-se o protocolo de Oakes & Van Der Kraak (2003), onde as amostras foram centrifugadas a 300 rpm por 10 minutos a 15 °C e posteriormente retirado 150 µL do sobrenadante para montagem da placa. A leitura foi

realizada no espectrofotômetro (Victor X3) a 515nm para emissão e 553nm para excitação. Os resultados foram expressos em nMol MDA/g de tecido úmido.

Análise estatística

Os dados foram testados quanto a normalidade (teste Levene) e homoscedasticidade (teste Shapiro Wilk). Com os pressupostos da análise paramétrica aceitos, foi realizado o teste estatístico Anova two-way com o objetivo de fazer a comparação entre os dois pontos de amostragem (duas RESEX) durante os 2 períodos sazonais (transição seco-chuvoso e chuvoso), seguido do teste post-hoc de Tukey.

As variáveis analisadas desta forma foram os biomarcadores ACAP e LPO e os parâmetros biométricos já descritos. O nível de significância aceito é de 5% (Zar, 1984).

Resultados

A partir dos dados da precipitação pluviométrica média, disponibilizados pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), observou-se que houve uma variação aproximada de 330 mm entre os meses de Janeiro e Abril de 2019 (figura 2). Além disso a quantificação dos parâmetros físico-químicos (tabela 1), revelou variação na salinidade de 8 a 0 ppm em Nazaré do Seco (NS) e 9 a 0 em Lauro Sodré (LS), entre o período transição e chuvoso, respectivamente.

Entre os períodos de coleta, o pH variou de 6.7-8.8 em NS e de 6.3-8.3 em LS, a temperatura 22-29 °C em NS e 20-26.9 °C em LS. (tabela 1). Dessa forma, verifica-se os parâmetros físico-químicos analisados demonstraram variações importantes entre os períodos amostrados, porém de forma relativamente homogênea para ambos os ambientes.

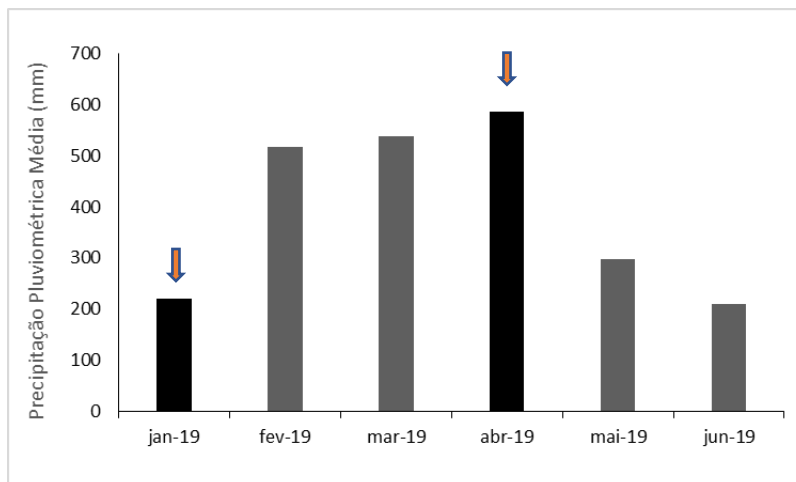


Figura 2: Precipitação registrada para Salinópolis, PA do período de jan/19 a jun/2019 (dados obtidos do site do INMET) <<https://portal.inmet.gov.br/>. As setas e as barras destacadas indicam os meses de coleta dos organismos.

Tabela 1: Salinidade, pH e Temperatura (°C) dos períodos de transição (janeiro/2019) e chuvoso (abril/2019) das comunidades de Nazaré do Seco (NS) e Lauro Sodré (LS).

PERÍODO	LOCAL	SALINIDADE (ppm)	pH	Temperatura (°C)
TRANSIÇÃO	NS	8	8.8	22
	LS	9	8.3	20
CHUVOSO	NS	0	6.7	29.5
	LS	0	6.3	26.9

Levando em consideração as comparações pré-estabelecidas entre períodos em um mesmo ponto e mesmo período em pontos distintos, os dados biométricos (tabela 2) revelaram que acerca do comprimento total e peso total, todas as comparações foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Cabe ressaltar que não foi possível a obtenção dos pesos moles, o que inviabiliza a efetiva comparação entre pesos.

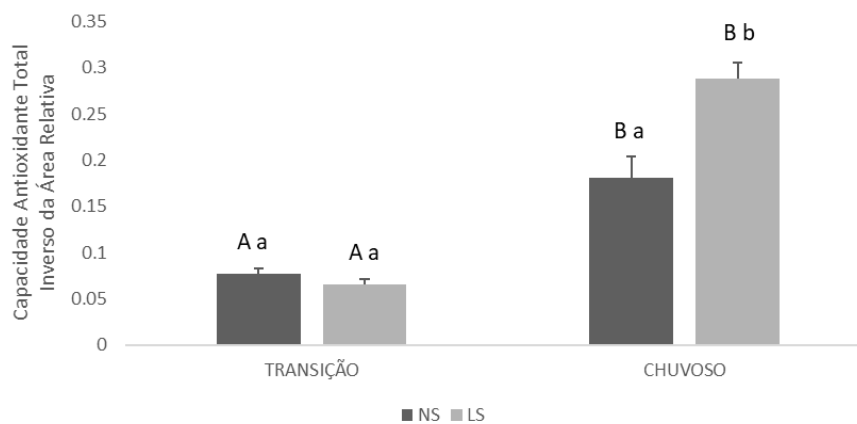
As ostras coletadas em LS aumentaram de peso e cresceram no período chuvoso ($117.2 \pm 2.4g$ e $5.8 \pm 0.1cm$, respectivamente) em relação ao período de transição ($78.0 \pm 3.3g$ e $4.5 \pm 0.8cm$). O oposto foi observado para os animais de NS que aumentaram de peso e cresceram no período transição ($118.4 \pm 5.0g$ e $5.5 \pm 0.1cm$) em relação ao período chuvoso ($84.4 \pm 3.4g$ e $4.9 \pm 0.1cm$). Quanto à largura, as análises estatísticas não mostraram diferenças significativas nas comparações (transição NS: $3.7 \pm 0.1cm$, LS: $3.2 \pm 0.1cm$ e chuvoso NS: $3.2 \pm 0.1cm$, LS: $3.6 \pm 0.2cm$). Em relação à altura, foi observado diferenças significativas entre períodos do ponto NS (transição: $8.4 \pm 0.1cm$ e chuvoso: $6.9 \pm 0.1cm$). No período chuvoso, as alturas diferenciaram-se entre pontos com maiores valores verificados para os organismos de LS ($8.2 \pm 0.3cm$) em relação aos organismos de NS ($6.9 \pm 0.1cm$).

Tabela 2. Biometria de *Crassostrea gasar* para todos os locais de coleta ao longo de dois períodos sazonais, N=15. NS= Nazaré do Seco e LS= Lauro Sodré. Os dados estão expressos em média±desvio padrão. As letras minúsculas diferentes representam diferença ($p < 0,05$) entre os pontos no mesmo período e letras maiúsculas diferentes representam diferença ($p < 0,05$) entre os períodos para um mesmo local.

PERÍODO	LOCAL	COMPRIMENTO TOTAL (cm)	LARGURA (cm)	ALTURA (cm)	PESO TOTAL (g)
TRANSIÇÃO	NS	5.5 ± 0.1 Aa	3.7 ± 0.1 Aa	8.4 ± 0.1 Aa	118.4 ± 5.0 Aa
	LS	4.5 ± 0.8 Ab	3.2 ± 0.1 Aa	8.1 ± 0.1 Aa	78.0 ± 3.3 Ab
CHUVOSO	NS	4.9 ± 0.1 Ba	3.2 ± 0.1 Aa	6.9 ± 0.1 Ba	84.4 ± 3.4 Ba
	LS	5.8 ± 0.1 Bb	3.6 ± 0.2 Aa	8.2 ± 0.3 Ab	117.2 ± 2.4 Bb

Para observar se a variação dos parâmetros físico-químicos entre os períodos transição e chuvoso está influenciando no balanço oxidativo da ostra do mangue *Crassostrea gasar*, realizou-se a avaliação da capacidade antioxidante e de peróxidos lipídicos (figuras 3 e 4). Assim, a capacidade antioxidante mostrou uma baixa indução nos organismos coletados em ambos os pontos no período transição (NS: 0.76±0.00 e LS: 0.65±0.00) em relação ao período chuvoso (NS: 0.18±0.02 e LS: 0.28±0.01) ($p < 0,05$), não apresentando diferença estatística entre os pontos. Já no período chuvoso, a capacidade antioxidante sofreu uma indução nos organismos dos dois pontos (NS: 0.18±0.02 e LS: 0.28±0.01) em relação ao período anterior (NS: 0.76±0.00 e LS: 0.65±0.0), apresentando-se maior ($p < 0,05$) nos indivíduos de LS do que em NS.

a)



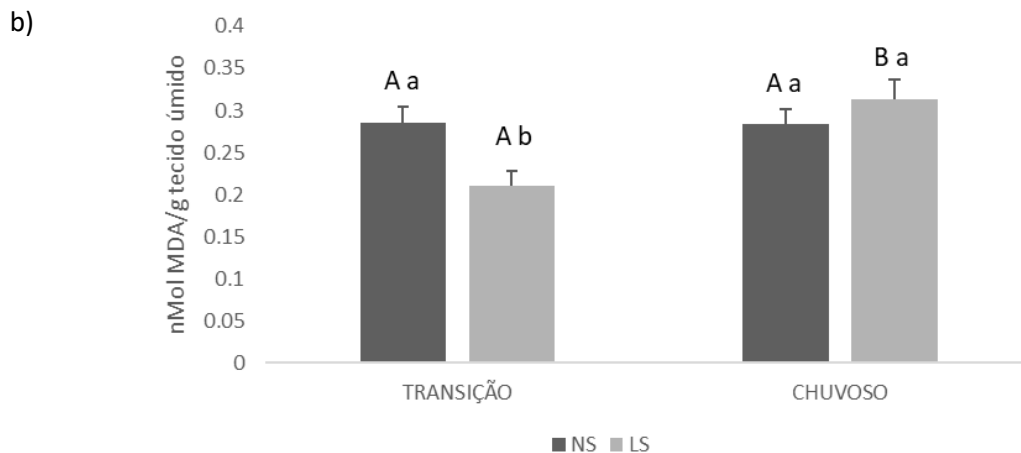


Figura 3: (a) Capacidade Antioxidante Total e (b) Quantificação de Peróxidos Lipídicos (MDA) na glândula digestiva da ostra *Crassostrea gasar* (n= 15). Valores expressos em média \pm erro padrão. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre períodos do mesmo ponto ($p < 0,05$), enquanto as letras minúsculas indicam diferenças significativas no mesmo período em pontos diferentes ($p < 0,05$).

No que se refere a quantificação de peróxidos lipídicos, notou-se uma estabilidade no ponto NS entre o período de transição (0.28 ± 0.01 nMol MDA/g de tecido úmido) para o chuvoso (0.28 ± 0.01 nMol MDA/g de tecido úmido) ($p > 0,05$). Inversamente, o ponto LS apresentou um aumento do LPO do chuvoso (0.31 ± 0.02 nMol MDA/g de tecido úmido) em relação ao período transição (0.21 ± 0.01 nMol MDA/g de tecido úmido) ($p < 0,05$), no entanto, sem se diferenciar do NS. No período transição, observou-se diferenças significativas entre os pontos ($p < 0,05$), pois o ponto NS apresentou uma maior quantificação de LPO (0.28 ± 0.01 nMol MDA/g de tecido úmido) que o ponto LS (0.21 ± 0.01 nMol MDA/g de tecido úmido).

Discussão

O manguezal é um ecossistema estuarino com uma alta produtividade e os organismos residentes nessas áreas são extremamente adaptadas às condições físico químicas do local, como a variação de pH, temperatura e a salinidade que é um dos principais fatores abióticos que controlam os processos fisiológicos desses organismos (Paixão et al., 2013; Wing & Leichter, 2011). Apesar dessa adaptação, situações de alta variabilidade das condições abióticas pode ser estressante metabolicamente, o que favorece a geração de espécies reativas de oxigênio (Luschak, 2010), podendo gerar estresse oxidativo através do gasto energético voltado à recuperação da homeostase

No período chuvoso, o aumento da capacidade antioxidante em relação ao período de transição pode ter sido motivado pelo aumento do aporte de nutrientes, provocado pelo incremento na precipitação. A alta precipitação, tende a amplificar a produtividade, levando ao

aumento da disponibilidade de alimentos, o que propicia a elevação da geração de antioxidantes não enzimáticos e conseqüentemente da capacidade antioxidante (Oliveira et al., 2018; Amaro et al., 2019).

O aumento da capacidade antioxidante nos dois pontos do período chuvoso, também estaria relacionado a baixa salinidade. Visto que, o processo de adaptação dos invertebrados nessa condição hipossalina, incluem alterações na peroxidação lipídica e aumento da demanda do sistema de defesa antioxidante, o que pode interferir na manutenção das funções fisiológicas, pois às células retém íons e transportam aminoácidos da célula para o sangue afim de garantir o equilíbrio osmótico (Amaro et al., 2019; Zhang et al., 2020).

Os níveis de peróxidos lipídicos registrados nos dois períodos podem ter sido causados pelo possível estresse salino, pois a glândula digestiva possui a capacidade de armazenar carboidratos e lipídeos que podem ser utilizados em situações de estresse (Gosling, 2003; Alves de Almeida et al., 2007; Verlecar et al., 2008). Assim, este contexto pode ter interferido no crescimento final das ostras de ambos os locais em decorrência do gasto energético para a manutenção da homeostase.

Os indivíduos de LS apresentaram um maior investimento no crescimento no período chuvoso, algo que não é mantido a longo prazo, pois mostraram um menor crescimento no período transição e são ostras que não chegam ao tamanho comercial. Considerando os trabalhos de Ren & Ross (2005), Bayne (2017) e Hall et al. (2019), acredita-se que o investimento rápido em crescimento ocorre pela eficiência na absorção de energia causada pela abundância de nutrientes neste período atrelada às condições da salinidade.

As ostras de NS são aquelas que alcançam o tamanho comercial. Entretanto, não investiram no crescimento durante o período chuvoso, pois apresentaram um menor tamanho quando comparado ao período transição. Assim, os indivíduos podem ter alocado energia em outras funções nesse período e investido no crescimento ao longo do ano (Ren & Ross, 2005; Oliveira et al., 2018).

O registro pontual da temperatura no período chuvoso não permitiu avaliar a variação ao longo do dia, pois ela pode estar variando de forma diferente em cada local em um mesmo dia. Assim, são necessários outros estudos para se obter uma logística de registros sequenciais ao longo dos dias, afim de que seja possível observar se a temperatura está interferindo no balanço energético das ostras. Mesmo assim, a temperatura é um parâmetro abiótico que não tem grandes variações em regiões tropicais, como a região amazônica. Por esse motivo, não deve ser o parâmetro que mais influencia nos resultados observados.

Levando em consideração o experimento realizado por Velecar et al. (2016) na ostra *Ruditapes philippinarum*, os resultados mostraram uma alta geração de EROS seguida de um alto conteúdo de peróxidos lipídicos em condições de baixo pH. Assim o pH levemente ácido no período chuvoso também pode ter influenciado no aumento da peroxidação lipídica, visto que, nesse período há o aumento da descarga dos rios.

O trabalho de Khan et al. (2020), mostrou que a diminuição da atividade da enzima digestiva lisozima do mexilhão *Mytilus coruscus* em pH 7.7 e temperatura de 20°C, ocorreu devido a exposição prolongada a condição estressante. Corroborando com o comportamento da capacidade antioxidante e dos níveis de peróxidos lipídicos encontrados neste estudo. Observou-se uma estabilidade de peróxidos lipídicos nos dois períodos nos animais de NS, ao contrário dos de LS, que não mantiveram os níveis de Peróxidos Lipídicos no período chuvoso em relação ao período de transição, apesar do aumento da capacidade antioxidante na glândula digestiva.

Acredita-se que a baixa salinidade registrada somada a precipitação pode ter levado as ostras a um maior gasto energético para se adaptar e manter suas funções fisiológicas, refletindo na capacidade antioxidante e peroxidação lipídica da glândula digestiva (Maar et al., 2015; Rivera-Igraham & Lignot 2017; Bal et al., 2021). Dessa forma, evidenciou-se que as variações sazonais das condições físico-químicas podem induzir danos oxidativos em *C. gasar*, como já identificado de várias espécies de bivalves (Carregosa et al., 2014) e que apesar da variação dos parâmetros físico-químicos ter sido semelhante nos dois ambientes, influenciaram de forma distinta os organismos nos pontos de coleta. É importante ressaltar que os registros dos parâmetros abióticos foram pontuais e que LS possui um histórico de maior variação dos mesmos. Assim, organismos informam o histórico dessas variações, como observado no comportamento dos biomarcadores bioquímicos analisados.

Conclusão

Nos dois períodos climáticos analisados neste estudo, não se verificou diferenças nos parâmetros físico-químicos registrados, comparando-se os dois pontos de estudo. No entanto, de acordo com outros estudos em andamento no nosso laboratório, sabe-se que na região de LS as baixas salinidades persistem por mais tempo ao longo do ano e este fato explica as diferenças encontradas nos biomarcadores analisados. Enquanto os animais de NS intensificam as defesas antioxidantes do período de transição para o chuvoso (de maior gasto energético com a homeostase) fazendo assim com que os níveis de LPO não se alterem entre estações do ano, os

organismos de LS mesmo intensificando mais suas defesas antioxidantes em relação a NS do período transição para o chuvoso, não conseguem evitar o incremento de LPO na estação chuvosa em relação à transicional. Isso pode ocorrer pela necessidade dos organismos de LS em aproveitar o aporte de nutrientes do período chuvoso para investir em crescimento, o que demanda mais gasto energético, somado às demandas metabólicas voltadas à manutenção da homeostase. Dessa forma, este estudo aumentou a compreensão sobre como os parâmetros físico químicos influenciaram no balanço oxidativo dessa espécie típica dos estuários da região amazônica, servindo como subsídio aos aquicultores para observar qual o melhor período de início dos cultivos e assim ter uma maior produtividade. Além disso, outros estudos precisam ser feitos com outros tecidos, períodos e parâmetros físico-químicos, afim de ampliar o conhecimento sobre o balanço oxidativo nessa espécie com o objetivo de melhorar a qualidade do cultivo.

Referências

- Alves de Almeida, E., Celso Dias Bainy, A., Paula de Melo Loureiro, A., Regina Martinez, G., Miyamoto, S., Onuki, J., Fujita Barbosa, L., Carrião Machado Garcia, C., Manso Prado, F., Eliza Ronsein, G., Alexandre Sigolo, C., Barbosa Brochini, C., Maria Gracioso Martins, A., Helena Gennari de Medeiros, M., & Di Mascio, P. (2007). Oxidative stress in Perna perna and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 146(4), 588–600. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.040>
- Amado, L. L., Garcia, M. L., Ramos, P. B., Freitas, R. F., Zafalon, B., Ferreira, J. L. R., Yunes, J. S., & Monserrat, J. M. (2009). A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*, 407(6), 2115–2123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.038>
- Amaro, H. M., Rato, A., Matias, D., Joaquim, S., Machado, J., Gonçalves, J. F. M., Vaz-Pires, P., Ozorio, R. O. A., Pereira, L. F., Azevedo, I. C., Sousa-Pinto, I., & Catarina Guedes, A. (2019). Alga diet formulation – An attempt to reduce oxidative stress during broodstock conditioning of Pacific oysters. *Aquaculture*, 500(July 2018), 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.060>
- Bainy, A. C., Saito, E., Carvalho, P. S., & Junqueira, V. B. (1996). Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicology*, 34(2), 151-162. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(95\)00036-4](https://doi.org/10.1016/0166-445X(95)00036-4)
- Bal, A., Panda, F., Pati, S. G., Das, K., Agrawal, P. K., & Paital, B. (2021). Modulation of physiological oxidative stress and antioxidant status by abiotic factors especially salinity in aquatic organisms: Redox regulation under salinity stress. *Comparative Biochemistry and*

Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology, 241(January).
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108971>

Bayne, B. L. (2017). Feeding. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 41).
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803472-9.00005-4>

Carregosa, V., Figueira, E., Gil, A. M., Pereira, S., Pinto, J., Soares, A. M. V. M., & Freitas, R. (2014). Tolerance of *Venerupis philippinarum* to salinity: Osmotic and metabolic aspects. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 171, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.02.009>

Carregosa, V., Velez, C., Soares, A. M. V. M., Figueira, E., & Freitas, R. (2014). Physiological and biochemical responses of three Veneridae clams exposed to salinity changes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular Biology*, 177–178, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2014.08.001>

David, D. D., Lima, O. G., Nóbrega, A. M. C. de S., & Amado, E. M. (2018). Capacity of tissue water regulation is impaired in an osmoconformer living in impacted estuaries? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166(September), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.111>

de Souza Sampaio, D., Tagliaro, C. H., Schneider, H., & Beasley, C. R. (2019). Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. *Reviews in Aquaculture*, 11(1), 88–104. <https://doi.org/10.1111/raq.12227>

Gonçalves, A. M. M., Barroso, D. V., Serafim, T. L., Verdelhos, T., Marques, J. C., & Gonçalves, F. (2017). The biochemical response of two commercial bivalve species to exposure to strong salinity changes illustrated by selected biomarkers. *Ecological Indicators*, 77, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.01.020>

Gosling, E. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture. *Fishing News Books*, 2003. 455p

Guimarães, I. M., Antonio, G., & Olivera, A. (2008). INFLUÊNCIA DA SALINIDADE SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DA OSTRADO-MANGUE, *Crassostrea rhizophorae*., 41(1), 118–122. <https://doi.org/10.32360/acmar.v41i1.6084>

Hall, S. A., Méthé, D., Stewart-Clark, S. E., Clark, K. F., & Tremblay, R. (2020). Comparison of absorption efficiency and metabolic rate between wild and aquaculture oysters (*Crassostrea virginica*). *Aquaculture Reports*, 16(December 2019), 100263. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100263>

Khan, F. U., Hu, M., Kong, H., Shang, Y., Wang, T., Wang, X., Xu, R., Lu, W., & Wang, Y. (2020). Ocean acidification, hypoxia and warming impair digestive parameters of marine mussels. *Chemosphere*, 256, 127096. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127096>

Lavaud, R., La Peyre, M. K., Casas, S. M., Bacher, C., & La Peyre, J. F. (2017). Integrating the effects of salinity on the physiology of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, in the northern Gulf of Mexico through a Dynamic Energy Budget model. *Ecological Modelling*, 363, 221–233. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2017.09.003>

- Lowe, M. R., Sehlinger, T., Soniat, T. M., & Peyre, M. K. L. (2017). Interactive effects of water temperature and salinity on growth and mortality of eastern oysters, *Crassostrea virginica*: A meta-analysis using 40 years of monitoring data. *Journal of Shellfish Research*, *36*(3), 683–697. <https://doi.org/10.2983/035.036.0318>
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, *101*(1), 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- Maar, M., Saurel, C., Landes, A., Dolmer, P., & Petersen, J. K. (2015). Growth potential of blue mussels (*M. edulis*) exposed to different salinities evaluated by a Dynamic Energy Budget model. *Journal of Marine Systems*, *148*, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2015.02.003>
- Oakes, K. D., & Van Der Kraak, G. J. (2003). Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology*, *63*(4), 447–463. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00204-7)
- Oliveira, L. F. S., Ferreira, M. A. P., Juen, L., Nunes, Z. M. P., Pantoja, J. C. D., Paixão, L. F. da, Lima, M. de N. B. de, & Rocha, R. M. da. (2018). Influence of the proximity to the ocean and seasonality on the growth performance of farmed mangrove oysters (*Crassostrea gasar*) in tropical environments. *Aquaculture*, *495*(June), 661–667. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.049>
- Paixão, L., Ferreira, M. A., Nunes, Z., Fonseca-Sizo, F., & Rocha, R. (2013). Effects of salinity and rainfall on the reproductive biology of the mangrove oyster (*Crassostrea gasar*): Implications for the collection of broodstock oysters. *Aquaculture*, *380–383*, 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.019>
- Pourmozaffar, S., Tamadoni Jahromi, S., Rameshi, H., Sadeghi, A., Bagheri, T., Behzadi, S., Gozari, M., Zahedi, M. R., & Abrari Lazarjani, S. (2020). The role of salinity in physiological responses of bivalves. *Reviews in Aquaculture*, *12*(3), 1548–1566. <https://doi.org/10.1111/raq.12397>
- Ren, J. S., & Ross, A. H. (2005). Environmental influence on mussel growth: A dynamic energy budget model and its application to the greenshell mussel *Perna canaliculus*. *Ecological Modelling*, *189*(3–4), 347–362. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.04.005>
- Rivera-Ingraham, G. A., & Lignot, J. H. (2017). Osmoregulation, bioenergetics and oxidative stress in coastal marine invertebrates: Raising the questions for future research. *Journal of Experimental Biology*, *220*(10), 1749–1760. <https://doi.org/10.1242/jeb.135624>
- Sardi, A. E., Sandrini-Neto, L., da Cunha Lana, P., & Camus, L. (2020). Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive glands of the clam *Anomalocardia flexuosa* and the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae*. *Marine Pollution Bulletin*, *156*(February), 111193. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111193>
- Sousa, H. P., C., Correia, F. N., A., Castro, K. F., Lourdes, M. De, & Santos, S. (2020). Distribuição espaço-temporal dos parâmetros abióticos e bióticos em um estuário amazônico (Brasil). *Arquivos de Ciências do Mar*, *53*(1), 82–97. <https://doi.org/10.32360/acmar.v53i1.41888>

- Trombeta, T. & Sampaio, D. (2021). Produção de ostras nativas na Amazônia: soluções em busca da sustentabilidade. *Aquicultura na Amazônia: Estudos Técnico-Científicos e Difusão de Tecnologias*. <https://doi.org/10.22533/at.ed.0422115034>.
- Velez, C., Figueira, E., Soares, A. M. V. M., & Freitas, R. (2016). Native and introduced clams biochemical responses to salinity and pH changes. *Science of the Total Environment*, 566–567, 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.019>
- Verlecar, X. N., Jena, K. B., & Chainy, G. B. N. (2008). Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis* from Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76(4), 745–752. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.08.002>
- Wing, S. R., & Leichter, J. J. (2011). Variation in environmental conditions in a subtidal prey refuge: Effects of salinity stress, food availability and predation on mussels in a fjord system. *Marine Ecology Progress Series*, 422, 201–210. <https://doi.org/10.3354/meps08911>
- Zanette, J., de Almeida, E. A., da Silva, A. Z., Guzenski, J., Ferreira, J. F., Di Mascio, P., Marques, M. R. F., & Bainy, A. C. D. (2011). Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. *Science of the Total Environment*, 409(10), 1976–1983. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.01.048>
- Zhang, M., Li, L., Liu, Y., Gao, X., 2020. Effects of a sudden drop in salinity on *Scapharca subcrenata* antioxidant defenses and metabolism determined using LC-MS non-targeted metabolomics. *Sci. Rep.* 10 (1), 1–14.

ANEXO I

Environmental Monitoring and Assessment (Qualis B2)

<https://www.springer.com/journal/10661/submission-guidelines>

Estrutura do Manuscrito

Artigos de pesquisa originais

Abstrato

O Resumo deve conter de 150 a 250 palavras. Deve explicar claramente a novidade das descobertas em comparação com o conhecimento atual. O Resumo não deve conter abreviações indefinidas ou referências não especificadas.

Palavras-chave

Isso deve incluir de 4 a 6 palavras-chave que podem ser usadas para fins de indexação.

Texto

O texto dos artigos originais de pesquisa deve ser dividido nas seguintes seções:

Introdução

A Introdução deve indicar o objetivo da investigação e identificar claramente a lacuna de conhecimento que será preenchida neste estudo.

materiais e métodos

A seção Materiais e Métodos deve fornecer informações suficientes para permitir a repetição do trabalho experimental. Deve incluir descrições e explicações claras dos procedimentos de amostragem, desenho experimental, características essenciais da amostra e estatísticas descritivas, hipóteses testadas, referências exatas à literatura que descrevem os testes usados no manuscrito, número de dados envolvidos nos testes estatísticos, etc.

Resultados e discussão

A seção Resultados deve descrever o resultado do estudo. Os dados devem ser apresentados o mais concisamente possível - se apropriado na forma de tabelas ou figuras, embora tabelas muito grandes devam ser evitadas. A discussão deve ser uma interpretação dos resultados e seu significado com referência ao trabalho de outros autores.

Conclusões

Esta seção deve destacar as principais descobertas firmes e indicar qual é o valor agregado da descoberta principal, sem referências da literatura.

Referências

A revista usa o estilo de referência APA

Os autores são encorajados a seguir as diretrizes oficiais da APA versão 7 sobre o número de autores incluídos nas entradas da lista de referências (ou seja, incluir todos os autores até 20; para grupos maiores, forneça os primeiros 19 nomes seguidos de reticências e o nome final do autor). No entanto, se os autores encurtarem o grupo de autores usando et al., Isso será mantido.

A lista de referências deve incluir apenas trabalhos citados no texto e que tenham sido publicados ou aceitos para publicação. Comunicações pessoais e trabalhos não publicados devem ser mencionados apenas no texto.

Se disponível, sempre inclua DOIs como links DOI completos em sua lista de referência (por exemplo, “<https://doi.org/abc>”).

Folha de rosto

Certifique-se de que sua página de título contém as seguintes informações.

Título

O título deve ser conciso e informativo.

Informação sobre o autor

- O (s) nome (s) do (s) autor (es)
- A (s) afiliação (ões) do (s) autor (es), ou seja, instituição, (departamento), cidade, (estado), país
- Uma indicação clara e um endereço de e-mail ativo do autor para correspondência
- Se disponível, o ORCID de 16 dígitos do (s) autor (es)

Se as informações de endereço forem fornecidas com a (s) afiliação (ões), elas também serão publicadas.

Para autores que não são (temporariamente) afiliados, iremos apenas capturar sua cidade e país de residência, não seu endereço de e-mail, a menos que especificamente solicitado.

Declarações

Todos os manuscritos devem conter as seguintes seções sob o título 'Declarações'.

Se alguma das seções não for relevante para o seu manuscrito, inclua o título e escreva 'Não se aplica' para essa seção.

Para ser usado para todos os artigos, incluindo artigos com aplicações biológicas

Financiamento (informações que explicam se e por quem a pesquisa foi apoiada)

Conflitos de interesse / interesses concorrentes (inclua divulgações apropriadas)

Disponibilidade de dados e materiais (transparência de dados)

Disponibilidade de código (aplicativo de software ou código personalizado)

Contribuições dos autores (opcional: reveja as diretrizes de submissão do periódico se as declarações são obrigatórias)

Declarações adicionais para artigos em revistas de ciências da vida que relatam os resultados de estudos envolvendo seres humanos e / ou animais

Aprovação de ética (inclua aprovações ou dispensas apropriadas)

Consentimento para participar (incluir declarações apropriadas)

Consentimento para publicação (inclua declarações apropriadas)

Consulte as seções relevantes nas diretrizes de envio para obter mais informações, bem como vários exemplos de redação. Reveja / personalize os exemplos de declarações de acordo com as suas necessidades.

Texto

Formatação de Texto

Os manuscritos devem ser submetidos em Word.

- Use uma fonte normal e simples (por exemplo, Times Roman de 10 pontos) para o texto.
- Use itálico para dar ênfase.
- Use a função de numeração automática de páginas para numerar as páginas.
- Não use funções de campo.
- Use paradas de tabulação ou outros comandos para recuos, não a barra de espaço.
- Use a função de tabela, não planilhas, para fazer tabelas.
- Use o editor de equação ou MathType para equações.
- Salve seu arquivo em formato docx (Word 2007 ou superior) ou formato doc (versões anteriores do Word).

Texto de solicitação adicional

- Todos os arquivos manuscritos devem ser formatados para conter números de linha.
- As citações com mais de 40 palavras devem ser marcadas com clareza, recuando a margem esquerda ou usando uma fonte menor. Use aspas duplas para aspas diretas e aspas simples para aspas entre aspas e para palavras ou frases usadas em um sentido especial.

Instruções adicionais Títulos

Cabeçalhos de nível um: digitados em negrito, minúsculas, exceto para a primeira letra da primeira palavra, justificado à esquerda, seguido por uma linha em branco

Cabeçalhos de nível dois: digitados em fonte normal, minúsculas exceto para a primeira letra da primeira palavra, justificado à esquerda, seguido por uma linha em branco

NÃO numere títulos e subtítulos.

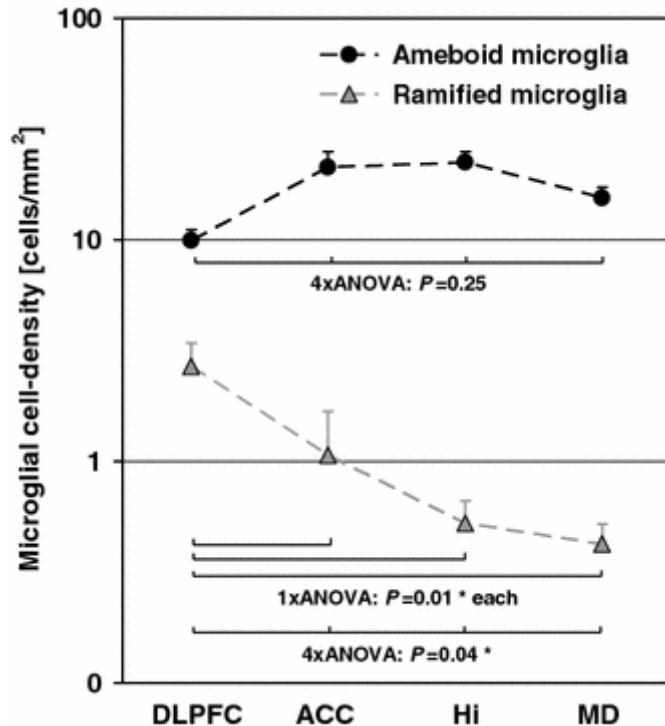
Tabelas

- Todas as tabelas devem ser numeradas em algarismos arábicos.
- As tabelas devem ser sempre citadas em texto em ordem numérica consecutiva.
- Para cada tabela, forneça uma legenda (título) explicando os componentes da tabela.
- Identifique qualquer material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma referência no final da legenda da tabela.
- As notas de rodapé das tabelas devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos) e incluídas abaixo do corpo da tabela.

Envio de Figura Eletrônica

- Forneça todas as figuras eletronicamente.
- Indique qual programa gráfico foi usado para criar a arte.
- Para gráficos vetoriais, o formato preferido é EPS; para meios-tons, use o formato TIFF. Arquivos MSOffice também são aceitáveis.
- Os gráficos vetoriais que contêm fontes devem ter as fontes incorporadas aos arquivos.
- Nomeie seus arquivos de figura com "Fig" e o número da figura, por exemplo, Fig1.eps.

Arte de Linha



- Definição: Gráfico em preto e branco sem sombreado.
- Não use linhas e / ou letras esmaecidas e verifique se todas as linhas e letras nas figuras estão legíveis no tamanho final.
- Todas as linhas devem ter pelo menos 0,1 mm (0,3 pt) de largura.
- Desenhos de linhas digitalizados e desenhos de linhas em formato bitmap devem ter uma resolução mínima de 1200 dpi.
- Os gráficos vetoriais que contêm fontes devem ter as fontes incorporadas aos arquivos.

Numeração de figuras

- Todas as figuras devem ser numeradas em algarismos arábicos.
- As figuras devem ser sempre citadas no texto em ordem numérica consecutiva.
- As partes da figura devem ser denotadas por letras minúsculas (a, b, c, etc.).
- Se um apêndice aparecer em seu artigo e contiver uma ou mais figuras, continue a numeração consecutiva do texto principal. Não numere as figuras do apêndice, "A1, A2, A3, etc." As figuras nos apêndices online [Informações Suplementares (SI)] devem, no entanto, ser numeradas separadamente.

Legendas de figuras

- Cada figura deve ter uma legenda concisa descrevendo com precisão o que a figura representa. Inclua as legendas no arquivo de texto do manuscrito, não no arquivo de figura.
- As legendas das figuras começam com o termo Fig. Em negrito, seguido do número da figura, também em negrito.
- Nenhuma pontuação deve ser incluída após o número, nem qualquer pontuação deve ser colocada no final da legenda.
- Identifique todos os elementos encontrados na figura na legenda da figura; e usar caixas, círculos, etc., como pontos de coordenadas em gráficos.

- Identifique o material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma citação de referência no final da legenda da figura.

Posicionamento e tamanho da figura

- As figuras devem ser enviadas separadamente do texto, se possível.
- Ao preparar suas figuras, dimensione as figuras para caber na largura da coluna.
- Para revistas de grande porte, as figuras devem ter 84 mm (para áreas de texto de coluna dupla) ou 174 mm (para áreas de texto de coluna única) de largura e não mais que 234 mm.
- Para revistas de pequeno porte, os números devem ter 119 mm de largura e não mais que 195 mm.