



BIVALVES BRASILEIROS COMO INDICADORES DE GENOTOXICIDADE AQUÁTICA

BRAZILIAN BIVALVES AS INDICATORS OF AQUATIC GENOTOXICITY

BIVALVOS BRASILEÑOS COMO INDICADORES DE GENOTOXICIDAD ACUÁTICA

Laís Lacerda Brasil de Oliveira^{1*} ; Marcos Antonio Nobrega de Sousa² 

¹Mestre em Climatologia (UECE). Fortaleza, CE, Brasil; ²Doutor em Genética (USP). Professor Associado, Orientador, (UFCG), Patos, PB, Brasil.

*Autor correspondente: laisbrasil@ufc.br

Recebido: 24/11/2024 | Aprovado: 27/11/2024 | Publicado: 30/11/2024

Resumo: No estudo da genotoxicidade, podem ser utilizados diversos organismos que estejam expostos a agentes potencialmente mutagênicos. Dentre os bivalves que são bioindicadores, encontra-se a espécie de molusco *Anomalocardia brasiliana* que possui grande distribuição na costa brasileira e é bastante consumida na alimentação humana. Foi buscado avaliar o estado da arte em relação aos bivalves brasileiros como bioindicadores in vivo de genotoxicidade. Destaca-se a pesquisa que avaliou a presença de micronúcleos nas células da hemolinfa desses animais como um parâmetro para indicar genotoxicidade nas praias de Barra (PT A), Pernambucozinho (PT B) e Alagamar (PT C) do município de Grossos – RN. Foram capturados quatro indivíduos de *A. brasiliana* em cada praia, nos meses de agosto de 2010 a janeiro de 2011, os quais foram levados para o laboratório de Genética e Evolução em recipientes plásticos contendo água do mar e sedimento, mantidos com aeração constante. Após 24h para aclimação, a hemolinfa foi puncionada com seringa, fixada em etanol e ácido acético; gotejada sobre lâmina e corada com Giemsa. As lâminas foram analisadas sob o microscópio de luz com aumento de 1000x, sendo analisadas 2000 células por indivíduo e contabilizadas as células com micronúcleo. As médias e desvio padrões não foram estatisticamente significativas dentro de cada ponto de coleta entre os meses avaliados, mas entre as praias, os PT A e PT B apresentaram índices significativos de genotoxicidade. Os resultados da média das frequências no PT A foi de 4,3% de células micronucleadas, enquanto no PT B foi 3,0% e no PT C, 1,6%. As frequências de micronúcleos em várias espécies de bivalves brasileiros são variáveis, mas semelhantes entre si. Existem poucos trabalhos publicados e são necessários mais estudos envolvendo moluscos bivalves para estabelecer padrões que indiquem genotoxicidade.

Palavras-chave: Micronúcleos. Agentes genotóxicos. Mutagênese. Poluição Aquática. Moluscos.

Abstract: In the study of genotoxicity, several organisms that are exposed to potentially mutagenic agents can be used. Among the bivalves that are bioindicators is the mollusk species *Anomalocardia brasiliana*, which is widely distributed along the Brazilian coast and is widely consumed in human food. The aim of this study was to evaluate the state of the art in relation to Brazilian bivalves as in vivo bioindicators of genotoxicity. Of note is the study that evaluated the presence of micronuclei in the hemolymph cells of these animals as a parameter to indicate genotoxicity on the beaches of Barra (PT A), Pernambucozinho (PT B) and Alagamar (PT C) in the municipality of Grossos - RN. Four individuals of *A. brasiliana* were captured on each beach, from August 2010 to January 2011, and taken to the Genetics and Evolution laboratory in plastic containers containing seawater and sediment, kept with constant aeration. After 24 hours of acclimatization, the hemolymph was punctured with a syringe, fixed in ethanol and acetic acid, dripped onto a slide and stained with Giemsa. The slides were analyzed under a light microscope at 1000x magnification, with 2000 cells per individual being analyzed and cells with micronuclei counted. The means and standard deviations were not statistically significant within each collection point between the months evaluated, but between the beaches, PT A and PT B showed significant rates of genotoxicity. The results of the mean frequency in PT A was 4.3% of micronucleated cells, while in PT B it was 3.0% and in PT C, 1.6%. The frequencies of micronuclei in several species of Brazilian bivalves are variable, but similar to each other. There are few published studies and more studies involving bivalve mollusks are needed to establish patterns that indicate genotoxicity.

Keywords: Micronuclei. Genotoxic agents. Mutagenesis. Aquatic pollution. Molluscs.

Resumen: En el estudio de la genotoxicidad se pueden utilizar diferentes organismos que están expuestos a agentes potencialmente mutagênicos. Entre los bivalvos que son bioindicadores se encuentra la especie de molusco *Anomalocardia*

brasiliiana, que se encuentra ampliamente distribuida en la costa brasileña y es ampliamente consumida en la alimentación humana. Se buscó evaluar el estado del arte en relación a los bivalvos brasileños como bioindicadores in vivo de genotoxicidad. Se destaca la investigación que evaluó la presencia de micronúcleos en las células de hemolinfa de estos animales como parámetro para indicar genotoxicidad en las playas de Barra (PT A), Pernambuquinho (PT B) y Alagamar (PT C) en el municipio de Grossos – RN afuera. En cada playa se capturaron cuatro individuos de *A. brasiliiana*, desde agosto de 2010 hasta enero de 2011, los cuales fueron llevados al laboratorio de Genética y Evolución en recipientes plásticos que contenían agua de mar y sedimento, mantenidos con aireación constante. Después de 24 horas para la aclimatación, se puncionó la hemolinfa con una jeringa, se fijó en etanol y ácido acético; Se goteó sobre un portaobjetos y se tiñó con Giemsa. Los portaobjetos se analizaron bajo un microscopio óptico con un aumento de 1000x, se analizaron 2000 células por individuo y se contaron las células con micronúcleos. Las medias y desviaciones estándar no fueron estadísticamente significativas dentro de cada punto de recolección entre los meses evaluados, pero entre las playas, PTA y PT B mostraron tasas significativas de genotoxicidad. La frecuencia promedio de resultados en PTA fue de 4,3% de células micronucleadas, mientras que en PT B fue de 3,0% y en PT C de 1,6%. Las frecuencias de micronúcleos en varias especies de bivalvos brasileños son variables, pero similares entre sí. Hay pocos estudios publicados y se necesitan más estudios con moluscos bivalvos para establecer patrones que indiquen genotoxicidad.

Palabras-clave: Micronúcleos. Agentes genotóxicos. Mutagénesis. Contaminación acuática. Moluscos.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade dos ecossistemas aquáticos está sob ameaça crescente de uma gama crescente de poluentes gerados pelo homem, incluindo uma vasta gama de contaminantes químicos, como metais pesados, pesticidas e resíduos industriais, todos com potencial para perturbar a saúde e o funcionamento de organismos marinhos. Em particular, os bivalves surgiram como bioindicadores eficazes devido à sua capacidade de acumular esses poluentes e refletir a saúde ambiental de seus habitats, tornando-os inestimáveis para monitorar a genotoxicidade em sistemas aquáticos (Roveta *et al.*, 2021).

Além disso, as respostas fisiológicas dos bivalves à exposição a poluentes, incluindo mudanças na expressão gênica e a indução de alterações morfológicas, fornecem insights críticos sobre os mecanismos subjacentes da genotoxicidade, aumentando assim nossa compreensão de como esses organismos podem servir como indicadores confiáveis da qualidade da água (Au, 2004).

Os bivalves que são os moluscos mais explorados, cultivados e consumidos no Brasil. Eles se alimentam por filtração da água, graças ao movimento ciliar de células das brânquias (POLI *et al.*, 2004). Eles são organismos sésseis, que se alimentam por filtração e ocupam uma ampla gama de nichos ecológicos. Devido a sua capacidade de filtrar e acumular contaminantes da coluna de água são particularmente adequados para a avaliação de toxinas ambientais (Sendra *et al.*, 2021).

Um artigo de revisão recente destaca a crescente presença de microplásticos (MPs) e sua interação com outros poluentes em ambientes marinhos, enfatizando a necessidade de estudos abrangentes sobre seus efeitos combinados em bivalves. Ele identifica danos histológicos, genéticos (danos no DNA) e fisiológicos específicos em bivalves devido a MPs, fornecendo evidências de que esses organismos podem servir como bioindicadores eficazes para o monitoramento ambiental. Existe ainda uma discussão de como a coexposição a poluentes como antibióticos e hidrocarbonetos de petróleo exacerba os efeitos tóxicos dos MPs, melhorando a compreensão das interações de poluentes nos ecossistemas marinhos (Rios-Fuster *et al.*, 2022).

Do ponto de vista genético, existem marcadores moleculares que são importantes para a compreensão do impacto dos poluentes nos moluscos e seus ecossistemas, especialmente os bivalves, pois eles são sensíveis a

contaminantes ambientais, o que os torna adequados para biomonitoramento. Essa sensibilidade sugere que várias mudanças moleculares nesses organismos podem servir como indicadores dos níveis de poluição em seus habitats (Ayad & Salman, 2022).

Outro tipo de marcador genético, que apresenta uma metodologia mais simples e de custo mais reduzido comparado aos testes moleculares, é o teste de micronúcleos. Este tipo de método permite avaliar os efeitos de agentes mutagênicos e genotóxicos, e tem se mostrado bastante promissor devido ao seu baixo custo e alta sensibilidade (Russo *et al.*, 2004). Micronúcleos (MN) são cromossomos inteiros ou parciais que não foram incorporados dentro do núcleo da célula filha devido a erros durante a divisão celular (Bombail *et al.*, 2001).

O ensaio detecta eventos que apresentem danos diretamente ligados aos cromossomos e seus componentes, como os defeitos no fuso celular e outros componentes envolvidos na formação do fuso, conhecidos como mecanismos aneugênicos (Albertini *et al.*, 2001).

Estudo com mexilhões, da espécie *Mytilus galloprovincialis*, na Baía de Izmir, (Costa Ocidental da Turquia) utilizando hemolinfa, fígado e guelras do mexilhão, demonstrou que a frequência de MN foi encontrada no local onde resíduos do estaleiro estariam contribuindo para o alto nível de poluição. A recomendação é avaliar o impacto tóxico de poluentes no nível celular em espécies aquáticas usando ensaios de micronúcleo para biomonitoramento da poluição ambiental (Özlem Çakal Arslan *et al.*, 2021). O teste de micronúcleo (MN), como um índice de dano acumulado ao DNA durante a vida útil das células, é o ensaio mais aplicado em animais aquáticos para avaliar a exposição a uma mistura complexa de poluentes genotóxicos (Bolognesi, 2019).

É de grande importância os testes de genotoxicidade, especificamente o teste do micronúcleo (MN) e o ensaio do cometa alcalino para avaliação dos danos causados ao material genético. O teste MN é eficaz na detecção de mutações cromossômicas e genômicas, enquanto o ensaio do cometa identifica danos primários ao DNA, como quebras de fita simples. Esses testes são cruciais para avaliar a integridade do genoma em organismos marinhos expostos a poluentes (Kumar *et al.*, 2016; Rocha & Rocha, 2016).

Outro artigo destaca a prevalência de resíduos farmacêuticos em ambientes marinhos, mesmo em baixas concentrações, e discute os efeitos adversos significativos que eles podem ter em organismos não alvo, particularmente bivalves marinhos. Além de enfatizar o uso de biomarcadores como uma ferramenta valiosa para avaliar a toxicidade de resíduos farmacêuticos, como os biomarcadores de genotoxicidade, que avaliam o dano potencial ao material genético causado por resíduos farmacêuticos e são cruciais para compreender os efeitos a longo prazo da exposição em bivalves marinhos (Aguirre-Martinez, 2021).

No Rio de Janeiro, uma pesquisa utilizando micronúcleos para avaliar a saúde ambiental de locais de aquicultura costeira encontrou uma frequência aumentada de micronúcleos nas células dos organismos dos locais impactados, o que indica a ocorrência de danos cromossômicos ocorrendo, que são consequência direta da exposição a agentes genotóxicos no ambiente (Juan Manuel Gutiérrez *et al.*, 2019).

Em outro estudo foi realizada a investigação das respostas genotóxicas de duas espécies bentônicas, *Laonereis culveri* e *Anomalocardia flexuosa*, à fração solúvel em água de óleo diesel. Ambas as espécies exibiram respostas genotóxicas significativas quando expostas ao óleo diesel, a indução de micronúcleos e gemas nucleares, sendo esta última específica para o bivalve *A. flexuosa*. Isso sugere que a presença de hidrocarbonetos

aromáticos policíclicos no óleo diesel pode levar a danos celulares, que são mensuráveis por meio desses biomarcadores (Mariana Araki Braga, 2018).

Além disso, o petróleo bruto é enriquecido em hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs). Muitos análogos de HAPs provaram potencialmente danificar o DNA. Os danos ao DNA podem ser avaliados usando vários biomarcadores para descobrir o grau de genotoxicidade de poluentes após a exposição. Deste modo, o bivalve *A. cygnea* foi utilizado como teste e se mostrou um bom bioindicador de poluentes em ambientes aquáticos; com teste de micronúcleos e também foi identificado que a hemolinfa e a brânquia são os tecidos mais eficazes e práticos para estudos de genotoxicidade (Eskandari *et al.*, 2012).

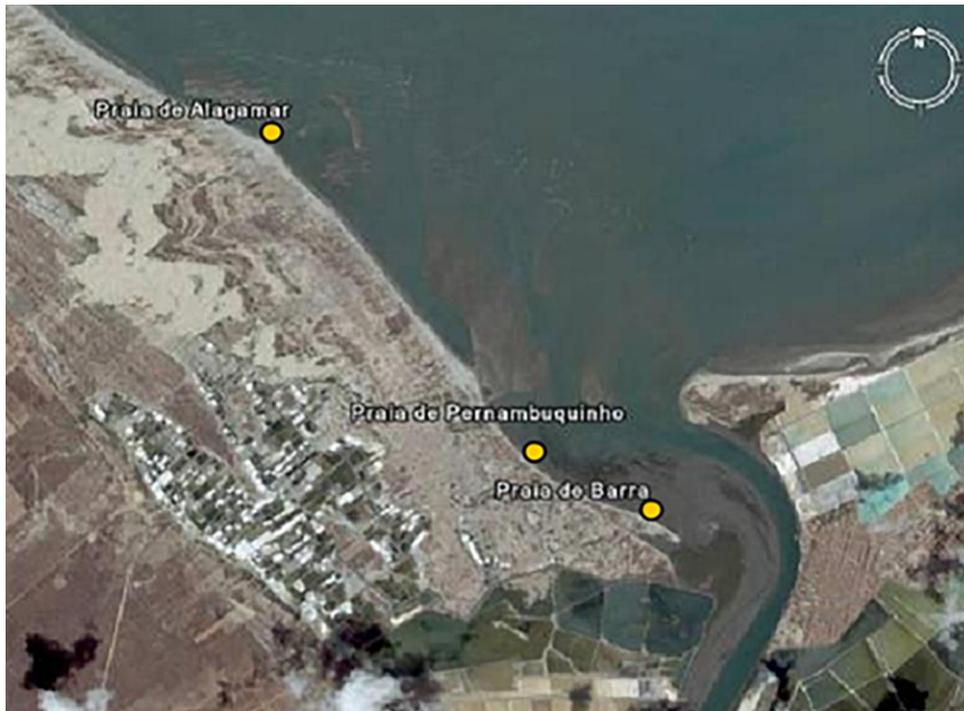
Deste modo, este artigo buscou relatar os dados proveniente de uma pesquisa não publicada realizada por um dos autores deste trabalho (Brasil, 2013) com *Anomalocardia brasiliiana*, um molusco bivalve lamelibrânquio, espécie bastante comum ao longo de todo litoral brasileiro, realizada em praias do Município de Grosso, RN para avaliar se esta espécie de molusco é uma boa bioindicadora da poluição ambiental na localidade estudada e comparar os resultados da mesma com uma revisão atualizada da literatura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da pesquisa

As coletas foram realizadas no município de Grossos, que é um município no estado do Rio Grande do Norte (Brasil), localizado na microrregião de Mossoró, com as coordenadas geográficas Latitude: -4.922521 e Longitude: -37.232998 (Figura 1).

Figura 2 - Costa do Município de Grossos destacando as praias de Barra, Pernambuquinho e Alagamar.



Fonte: Brasil, 2013.

2.2 Coleta de Exemplos

As coletas foram realizadas mensalmente de agosto de 2010 a janeiro de 2011 nos dias de lua nova, com a maré baixa para ser possível coletar os moluscos sobre o substrato. Foram coletados manualmente quatro indivíduos da espécie *A. brasiliiana* (Figura 3) com aproximadamente 1,5 a 3,0 cm de comprimento em cada praia, totalizando doze animais por coleta, durante seis meses. Os moluscos foram acondicionados separadamente em três recipientes denominados PT A (Barra); PT B (Pernambuquinho) e PT C (Alagamar) com água do mar e sedimento dos respectivos pontos de coleta para serem transportados até o LAGENE – Laboratório de Genética e Evolução, na UFERSA.

Figura 3 – Fotografia de exemplares de *Anomalocardia brasiliiana*.



Fonte: Brasil, 2013.

2.3 Preparo das Amostras

Os animais foram acondicionados no laboratório em temperatura ambiente e foi instalada uma bomba

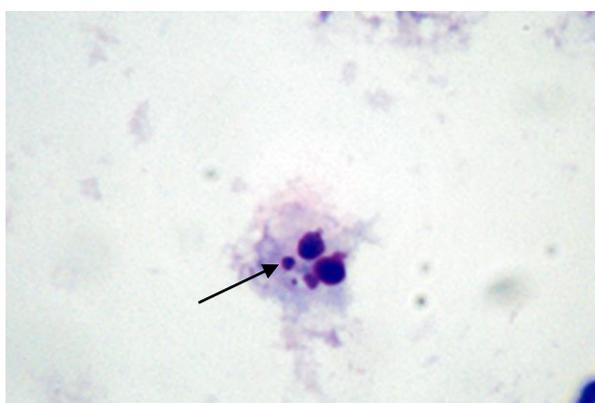
de aeração para aquários de pequeno porte a fim de aumentar a sobrevivência dos exemplares. A metodologia para preparo das amostras foi adaptada de David (2007). Após 24 horas no laboratório para aclimatação, os animais foram dissecados com auxílio de seringas e pinças cirúrgicas, tiveram a hemolinfa puncionada e colocada em tubos falcon de 15 ml, sendo que o material celular de cada animal foi colocado em um tubo individual para não haver contaminação de células e erros na análise. Foi adicionado o fixador etanol: ácido acético (3:1) na proporção 1:1 de hemolinfa/fixador. A solução obtida em cada tubo foi centrifugada, ressuspensa e gotejada em lâminas de microscopia. As lâminas foram deixadas para secar em temperatura ambiente e posteriormente, foi realizada a coloração com o corante Giemsa na proporção 1:30 por 5 minutos. Em seguida, foi realizada a lavagem em água destilada e secagem em temperatura ambiente.

Siu *et al.* (2004) afirmaram que a utilização de células da hemolinfa para ensaios de genotoxicidade é mais interessante devido, entre outros fatores, ao seu importante papel na defesa imune, na fagocitose e no transporte, excreção e detoxificação de xenobióticos. Além disso, foi sugerido que seu papel multifuncional lhes confere maior sensibilidade perante fatores externos como xenobióticos genotóxicos.

2.4 Análise Microscópica

Foi utilizado o microscópio de luz da marca Nikon® com óleo de imersão para o aumento de 1000x. As lâminas foram analisadas sob teste cego. Para cada lâmina/indivíduo foram contadas 2000 células com auxílio de contador automático e analisadas quanto a presença de micronúcleos. Os critérios de identificação seguiram os definidos por Carrasco *et al.* (1990). As células que apresentaram micronúcleos foram fotografadas com câmera fotográfica digital com resolução de 12 megapixels acoplada ao microscópio. Na figura 4 está apresentada uma célula micronucleada evidenciada pela seta.

Figura 4 - Fotografia destacando micronúcleo em célula de hemolinfa de *A. brasiliana*.



Fonte: Brasil, 2013

2.5 Análise Estatística

A frequência de micronúcleos para cada animal foi calculada pelo número total de células, para permitir que os resultados fossem comparados com outros trabalhos, e convertidos em porcentagem. Os resultados foram expressos em média de micronúcleos e desvio padrão, e a fim de avaliar o grau de significância foi

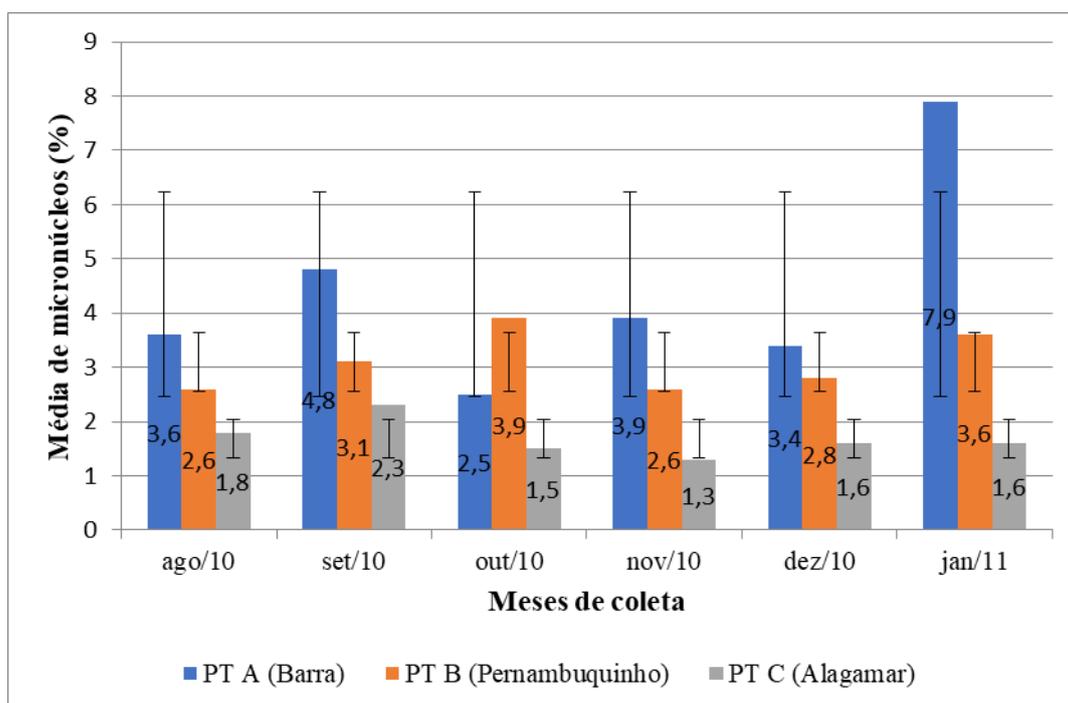
empregado a posteriori o teste de Tukey para a comparação de médias. O valor de p empregado foi 5% e o software utilizado foi o Assistat 7.7 (Silva & Azevedo, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste de Micronúcleo

É importante ressaltar que os micronúcleos podem aparecer por várias causas, entre elas por falha mitótica, tanto de fragmentos acêntricos de cromossomos, gerados por ruptura (clastogenicidade), quanto de cromossomos completos (aneuploidia), como consequência, geralmente, de enfermidades genéticas (Porto, et al., 2005). Os valores de média e desvio padrão da porcentagem de micronúcleos encontrados nos meses de coletas estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 - Média de micronúcleos nos pontos de coleta PT A, PT B e PT C durante o período analisado.



Fonte: Brasil, 2013

No PT A foi observado que o mês de jan./11 apresentou a maior média de micronúcleos. Esse elevado número pode ser justificado pelo aumento da atividade pesqueira nesse período, o que poderia levar a uma maior concentração de combustível de embarcação e resíduos da lavagem de barcos, fatores que podem elevar os índices de genotoxicidade.

Várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de se avaliar os efeitos nos organismos vivos de compostos organoestênicos presentes em tintas. Estudos com algas mostram que o tipo de resposta depende da espécie e da dose do composto, mas essa resposta geralmente envolve taxas de crescimento e de fotossíntese reduzidas, e até a morte das células (Marsot *et al.*, 1995).

Os bivalves, por serem organismos filtradores, apresentam grande potencial de bioacumulação desses compostos organoestênicos. Por isso moluscos, servem como bioindicadores da poluição em ecossistemas

marinhos por possuírem habilidade limitada para metabolizar e eliminar tal composto (Fent, 1996).

Para o PT B, foi o mês de outubro que apresentou o maior índice de micronúcleos, havendo diferenças em relação aos outros pontos, que apresentaram índices mais baixos. Também é possível observar que no PT B a dispersão dos dados foi menor, tendo em vista que os valores se aproximaram mais da média. O mês de janeiro também apresentou um valor alto, como no PT A, o que pode ser justificado pelo mesmo motivo, grande atividade pesqueira.

No PT C é importante ressaltar que foram observados os menores valores de micronúcleo, o que pode ser justificado pela dispersão de compostos tóxicos ao longo da costa e pela menor quantidade de barcos de pesca nessa praia, o que pode causar menor impacto ambiental.

No PT A todos os valores foram mais altos do que as outras praias, exceto em outubro. Isso, possivelmente, pode ser explicado por alguma variação normal na taxa de reparo de danos no DNA dos moluscos bivalves, que podem desenvolver certa resistência aos compostos tóxicos em contato constante. Klobucar *et al.* (2003) afirma que populações nativas de moluscos provenientes de locais poluídos podem estar melhor protegidas contra danos oxidativos, que podem ocasionar mutações, uma vez que a exposição a estes poluentes pode ter induzido os animais a uma resposta adaptativa contra o estresse.

As diferenças nos valores da genotoxicidade observadas entre pontos de coleta também podem estar relacionadas ao volume de água (variação na concentração dos agentes genotóxicos) e/ou efeito cumulativo de diferentes fontes (Matsumoto et al., 2006).

Em relação a análise estatística dos dados, foi verificado que os mesmos não seguem uma distribuição normal, portanto, foi aplicado o teste de Tukey, que informou que não houveram diferenças estatisticamente significante entre as médias dos meses de coletas (Tabela 1), e sim, entre as médias dos pontos de coleta.

Tabela 1 – Comparação da frequência média de micronúcleos entre os meses do período de coleta, pelo Teste de Tukey a 0,5%.

Mês	Frequência média de todos os pontos de coleta	
ago/10	0,00267	a
set/10	0,00333	a
out/10	0,00263	a
nov/10	0,00258	a
dez/10	0,00258	a
jan/11	0,00438	a

*Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa entre os meses analisados

Fonte: Brasil, 2013

Embora existam diferenças numéricas entre as médias e desvio padrões obtidas entre os meses analisados, estas diferenças não foram estatisticamente significantes. Assim como, não houveram diferenças estatísticas em relação a análise de período de coleta versus local de coleta.

No entanto, existem diferenças significativas entre os pontos de coleta (Tabela 2), sendo que as praias de Barra e Pernambuquinho possuem índices significativos de genotoxicidade.

Tabela 2 – Comparação da frequência média de micronúcleos entre os pontos de coleta, pelo Teste de Tukey a 0,5%.

Pontos	Frequência média por pontos de coleta	
PT A	0,00433	a
PT B	0,00308	b
PT C	0,00167	c

*Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os pontos de coleta analisados

Fonte: Brasil, 2013

Denota-se que, as praias de Barra e Pernambuquinho apresentaram índices significativos de genotoxicidade. Foi possível observar que os valores do PT A e PT B se assemelham aos encontrados na literatura e foram considerados com genotoxicidade significativa dentro das amostras. O valor do PT C está abaixo da média, e por isso ele não foi considerado genotóxico, embora haja diferença entre ele e os demais.

Observa-se que, apesar dos organismos bentônicos serem os mais indicados para os testes de toxicidade com sedimentos porque vivem em contato direto com eles e com as águas intersticiais, são encontrados problemas em relação ao cultivo dessas espécies em laboratório e ao desenvolvimento de testes crônicos. Como, por exemplo, a ausência do controle negativo, que é explicada pela dificuldade em se obter o organismo bioindicador *A. brasiliiana* a partir de criadouros ou de larvas criadas em laboratório que não sofram influências ambientais. Deste modo, neste trabalho, foi utilizado apenas amostras ambientais, ou seja, organismos do próprio local expostos às condições naturais para avaliação da genotoxicidade.

Também foi possível constatar, ao realizar uma revisão bibliográfica, que as frequências de micronúcleos em várias espécies de bivalves são variáveis, mas semelhantes entre si. (Tabela 3). Que na literatura científica brasileira são encontrados poucos trabalhos publicados, e que não existe um valor mínimo de micronúcleos que indique genotoxicidade em bivalves, por isso, na maior parte dos estudos, *in vivo*, os dados são comparados entre diferentes pontos de coleta e/ou localidades. Também foi possível constatar que as frequências de micronúcleos no trabalho de Brasil (2013) foram bem semelhantes à de outros trabalhos utilizando moluscos bivalves.

Tabela 3 - Valores da frequência de micronúcleos encontrados na literatura científica sobre bivalves no Brasil comparados aos encontrados na pesquisa em análise (Brasil, 2013).

Referência	Espécie	Localidade	Micronúcleos (%)
Brasil e Sousa, 2013 (PT A)	<i>Anomalocardia brasiliiana</i>	Grossos, RN	4,3
Brasil e Sousa, 2013 (PT B)	<i>Anomalocardia brasiliiana</i>	Grossos, RN	3
Brasil e Sousa, 2013 (PT C)	<i>Anomalocardia brasiliiana</i>	Grossos, RN	1,6
Do Amaral et al., 2019	<i>Limnoperna fortunei</i>	Uruguaiana, RS	SM*
Villela et al., 2007	<i>Limnoperna fortunei</i>	Guaíba, RS	4,9
David, 2007	<i>Mytella falcata</i>	Santos, SP	0,9
Girardelo et al, 2016	<i>Limnoperna fortunei</i>	Itapua, SC	SM*
Carvalho Pinto-Silva et al., 2003	<i>Perna perna</i>	Santa Catarina, SC	5

*SM= sem frequência de micronúcleos significativos para indicação de genotoxicidade

Fonte: os autores, 2024

Além disso, apesar dos organismos bentônicos serem os mais indicados para os testes de toxicidade com

sedimentos porque vivem em contato direto com os mesmos e com as águas intersticiais, são encontrados alguns problemas em relação ao cultivo dessas espécies em laboratório. Como a ausência do controle negativo, que ocorre possivelmente devido a dificuldade em se obter o organismo bioindicador proveniente de criadouros ou de larvas criadas em laboratório que não sofram influências ambientais. Portanto, só existem métodos padronizados para algumas espécies destes organismos, o que faz com que o uso de testes padronizados para seres não-bentônicos como, por exemplo, microcrustáceos do gênero *Daphnia*, seja preferido nas pesquisas, em relação aos testes com bivalves.

4 CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

As praias de Barra e Pernambuco apresentaram valores de micronúcleos elevados, apontando uma possível contaminação dessas praias e conseqüentemente dos moluscos, o que merece atenção pelo fato de que esses moluscos são consumidos pela população e amplamente comercializados. Essa observação alerta para o risco ambiental potencial relacionado à biotransferência desses compostos aos outros elos da cadeia alimentar, podendo alcançar o homem. No entanto, São necessários mais estudos de genotoxicidade, de modo a relacionar os resultados encontrados com variáveis ambientais que também podem influenciar nos resultados da pesquisa, como concentração de metais pesados e compostos organoestênicos. Por isso, estudos de genotoxicidade são complementares e não podem ser substitutos das análises químicas.

A proteção dos ecossistemas depende de pesquisas que sejam capazes de distinguir os efeitos das ações humanas daquelas ocorridas por variações naturais, buscando avaliar a influência antrópica sobre os sistemas biológicos. Desta forma é fundamental a realização de programas de biomonitoramento para avaliar mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antrópicas.

Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo.

Contribuições dos autores

A primeira autora contribuiu com a metodologia, resultados, discussão e referências e o segundo autor com orientação, resumo, abstract, introdução, referências e revisão final do texto.

REFERÊNCIAS

Aguirre-Martinez, G. (2021). *Effective biomarkers to assess the toxicity of pharmaceutical residues on marine bivalves*. Elsevier EBooks, 1, 419–455. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102971-8.00003-2>

Albertini, D., Combelles, C., Benecchi, E., & Carabatsos, M. (2001). Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development. *Reproduction*, 121(5), 647–653. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210647>

Au, D. W. T. (2004). The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 48(9–10), 817–834.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.032>.

Ayad, & Salman, J. M. (2022). Molecular Markers in Molluscs as Biomonitoring Species. *Book Publisher International (a Part of Science Domain International)*, 3(1), 118–123. <https://doi.org/10.9734/bpi/rabs/v3/15748d>

Bolognesi, C. (2019). *Micronucleus Experiments with Bivalve Molluscs*. The Royal Society of Chemistry EBooks, 273–289. Cap 17. <https://doi.org/10.1039/9781788013604-00273>

Bombail, V., Aw, D., Gordon, E., & Batty, J. (2001). Application of the comet and micronucleus assays to butterflyfish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. *Chemosphere*, 44(3), 383–392. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00300-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00300-3)

Brasil, L. L. (2013). *Anomalocardia brasiliiana como Bioindicadora de Genotoxicidade em Praias do Município de Grossos – RN*. (Trabalho de Conclusão de Curso., Universidade Federal do Semi-Árido – UFERSA). 44f.

Carvalho Pinto-Silva, C. R., Ferreira, J. F., Costa, R. H. R., Belli Filho, P., Creppy, E. E., & Matias, W. G. (2003). Micronucleus induction in mussels exposed to okadaic acid. *Toxicon*, 41(1), 93–97. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00214-3](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00214-3)

Carrasco, K. R., Tilbury, K. L., & Myers, M. S. (1990). Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(11), 2123–2136. <https://doi.org/10.1139/f90-237>

David, J. A. O. (2007). *Estudo de Mytella falcata (Mollusca, Bivalvia) como indicadora de efeitos genotóxicos e citotóxicos no estuário de Santos, SP*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Rio Claro. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 207 f.

Do Amaral, Q. D. F., Da Rosa, E., Wronski, J. G., Zuravski, L., Querol, M. V. M., Dos Anjos, B., De Andrade, C. F. F., Machado, M. M., & De Oliveira, L. F. S. (2019). Golden mussel (*Limnoperna fortunei*) as a bioindicator in aquatic environments contaminated with mercury: Cytotoxic and genotoxic aspects. *Science of The Total Environment*, 675, 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.108>

Eskandari, S., H Mozdarani, A Mashinchian Moradi, & Shahhosseiny, M. H. (2012). Cytogenetic Damage Induced By Crude Oil In Anodonta Cygnea (Mollusca, Bivalvia) Assessed By The Comet Assay And Micronucleus Test. *The International Journal of Marine Science*, 2(4), 215–224.

Fent, K. (1996). Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 26(1), 3–117. <https://doi.org/10.3109/10408449609089891>

Girardello, F., Custódio Leite, C., Vianna Villela, I., Da Silva Machado, M., Luiz Mendes Juchem, A., Roesch-Ely, M., Neves Fernandes, A., Salvador, M., & Antonio Pêgas Henriques, J. (2016). Titanium dioxide nanoparticles induce genotoxicity but not mutagenicity in golden mussel *Limnoperna fortunei*. *Aquatic Toxicology*, 170, 223–228. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.030>

Juan Manuel Gutiérrez, Mauricio Mussi Molisani, da, B., & Laura Isabel Weber. (2019). Characterisation of coastal aquaculture sites in the state of Rio de Janeiro, Brazil, using genotoxicity biomarkers. *Regional Studies in Marine Science*, 32, 100870–100870. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100870>

Klobučar, G. I. V., Pavlica, M., Erben, R., & Papeš, D. (2003). Application of the micronucleus and comet assays to mussel *Dreissena polymorpha* haemocytes for genotoxicity monitoring of freshwater environments. *Aquatic Toxicology*, 64(1), 15–23. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00009-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00009-2)

Kumar, P., Avelyno D'costa, & Shyama, S. K. (2016). *Genotoxic Biomarkers as Indicators of Marine Pollution*. Springer EBooks, 263–270. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1044-6_17

Mariana Araki Braga. (2018). Marcadores enzimáticos e de citotoxicidade são indicadores precoces de respostas do bentos à fração hidrossolúvel de óleo diesel: Cytotoxicity and enzymatic biomarkers as early indicators of benthic responses to the soluble-fraction of diesel oil (p. 49) [Dissertação].

Marsot, P., Pelletier, E., & St-Louis, R. (1995). Effects of triphenyltin chloride on growth of the marine Microalga *Pavlova lutheri* in continuous culture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(3). <https://doi.org/10.1007/BF00195110>

Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C., & Marin-Morales, M.

A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 148–158. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000100028>

Özlem Çakal Arslan, Meltem Boyacıoğlu, Beyza Nalbantlar, Gizem Gülsever, & Muhammet Ali Karaaslan. (2021). Micronucleus formation in mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck 1819) haemolymph, liver, and gill cells as a biomarker in the assessment of genotoxicity in İzmir Bay (Aegean Sea, Turkey). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(2), 189–197. <https://doi.org/10.12714/egejfas.38.2.08>

Poli, C. R.; Poli, A. T. B.; Andreatta, E.; Beltrame, E. A (2004). *Aquicultura: experiências Brasileiras. Florianópolis: Multitarefa Editora Ltda.* 456 p.

Porto, J. I. R., Araujo, C. S. O., & Feldberg, E. (2005). Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research*, 97(3), 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.04.006>

Rios-Fuster, B., Alomar, C., & Deudero, S. (2022). Elucidating the consequences of the co-exposure of microplastics jointly to other pollutants in bivalves: A review. *Environmental Research*, 216(2), 114560. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114560>

Rocha, S. M. da, & Rocha, C. A. M. da. (2016). Micronucleus test in bivalve mollusks as an important tool for xenobiotic exposure risk assessment Teste do micronúcleo em moluscos bivalves como uma importante ferramenta de avaliação de risco da exposição a xenobióticos. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 4(1), 70–79. <https://doi.org/10.2312/Actafish.2016.4.1.70-79>

Roveta, C., Annibaldi, A., Afghan, A., Calcinai, B., Di Camillo, C., Gregorin, C., Illuminati, S., Pulido Mantas, T., Truzzi, C., & Puce, S. (2021). Biomonitoring of heavy metals: The unexplored role of marine sessile taxa. *Applied Sciences*, 11(2), 580. <https://doi.org/10.3390/app11020580>

Russo, C., Rocco, L., Morescalchi, M. A., & Stingo, V. (2004). Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57(2), 168–174. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00027-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00027-7)

Sendra, M., Sparaventi, E., Novoa, B., & Figueras, A. (2021). An overview of the internalization and effects of microplastics and nanoplastics as pollutants of emerging concern in bivalves. *Science of The Total Environment*, 753, 142024. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142024>

Silva, F. A. S., & Azevedo, C. A. V. (2002). Versão do programa computacional assistat para o sistema operacional windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 4(1), 71–78. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v4n1p71-78>

Siu, W. H. L., Cao, J., Jack, R. W., Wu, R. S. S., Richardson, B. J., Xu, L., & Lam, P. K. S. (2004). Application of the comet and micronucleus assays to the detection of B[a]P genotoxicity in haemocytes of the green-lipped mussel (*Perna viridis*). *Aquatic Toxicology*, 66(4), 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.10.006>