



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

IONARA FREITAS SILVA

**AVALIAÇÕES GENOTÓXICAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Callinectes* spp. EM
ESTUÁRIOS AFETADOS POR DERRAMAMENTO DE ÓLEO NO LITORAL DE
PERNAMBUCO, BRASIL**

RECIFE,
2024

IONARA FREITAS SILVA

AVALIAÇÕES GENOTÓXICAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Callinectes* spp. EM ESTUÁRIOS AFETADOS POR DERRAMAMENTO DE ÓLEO NO LITORAL DE PERNAMBUCO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Oceanografia.

Área de concentração: Oceanografia Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Jesser Fidelis de Souza Filho

Coorientadora: Dra. Julianna de Lemos Santana

Recife

2024

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Freitas-Silva, Ionara.

Avaliações genotóxicas de espécies do gênero callinectes spp. Em estuários afetados por derramamento de óleo no litoral de Pernambuco, Brasil / Ionara Freitas Silva. - Recife, 2024. 73f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Oceanografia, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, 2024.

Orientação: Jesser Fidelis de Souza Filho.

Coorientação: Julianna de Lemos Santana.

Inclui referências.

1. Petróleo; 2. Ingestão; 3. Genotoxicidade; 4. Siris. I. Filho, Jesser Fidelis de Souza. II. Santana, Julianna de Lemos. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

IONARA FREITAS SILVA

AVALIAÇÕES GENOTÓXICAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Callinectes* spp. EM ESTUÁRIOS AFETADOS POR DERRAMAMENTO DE ÓLEO NO LITORAL DE PERNAMBUCO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia (PPGO) da Universidade Federal de Pernambuco, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Oceanografia. Área de concentração: Oceanografia Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Jesser Fidelis de Souza Filho.

Coorientadora: Dra. Julianna de Lemos Santana.

Aprovado em: 30/08/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jesser Fidelis de Souza Filho (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dra. Roxanny Helen de Arruda Santos (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Oceanografia)

Prof. Dr. Alexandre Oliveira de Almeida (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco (Centro de Biociências)

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha querida e amada mãe,
a que sonhou com a realização deste trabalho,
Márcia Helena de Freitas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelas inúmeras oportunidades e, principalmente, por me conceder saúde para vivenciar e realizar tudo o que almejo.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco pelo apoio e incentivo ao desenvolvimento de pesquisas.

Ao meu orientador Prof. Jesser Fidelis, por toda confiança depositada em mim durante esses anos, todo seu conhecimento compartilhado e a sua dedicação à ciência.

A minha coorientadora Julianna Santana, por todo apoio, desde o início deste estudo até os últimos ajustes. Mesmo estando em Alagoas ou em outro continente, você sempre se fez presente.

A minha família, a minha mãe Márcia Helena, ao meu pai Cícero Antão, meus irmãos Israel Neto e Iara Marciele, por sempre me apoiarem, me incentivarem e acreditarem em mim. Ao meu marido Igor Alberto, por muitas vezes não me fazer desistir, por me apoiar e sempre me ouvir quando precisei. Sem esquecer da minha segunda família, aos meus sogros Socorro e Alberto, e minha cunhada Camila por sempre estarem ao meu lado. As minhas amigas, por nossos cafezinhos da tarde e muita conversa boa, em especial a Kaline Soares, por seu apoio e “empurrãozinho” na reta final, amo você vizinha.

Agradeço a minha psicóloga Ingrid, por ter estado comigo durante essa jornada, quando as coisas saíram um pouco do eixo. Sem suas contribuições e profissionalismo eu não conseguiria. Ao Museu de Oceanografia, especialmente ao Laboratório de Carcinologia, por todo o suporte, desde as coletas até a última análise genômica. Um agradecimento especial aos Carcinofriends, por toda ajuda mútua, boas risadas e por sempre nos tratarmos como uma grande família, vocês estarão sempre no meu coração.

A Aline Rios e Juliano Gomes durante a dissecação dos animais, a Juliana Santana durante as análises de conteúdo estomacal, a Camila Araújo por passar seus conhecimentos no desenvolvimento do ensaio cometa, e a toda equipe do LabCarcino para a preparação e análise do teste de micronúcleo. Fabíola, Jessica, Auri, Rayanne, Georgia, Kadu, Renan, Rômulo, Malu, e aos ICs Eduardo, Geyce, Carine, Paulinho e Virginia <3

Ao Laboratório de Análises Carotípicas (CARIOLAB - UFPE) e ao Laboratório de Biodiversidade II (UFPE – CAV) por permitirem o acesso e possibilitarem as análises de ensaio cometa. Em especial a Téc. Darlene e a Prof. Ana Vidal e seus alunos, e ao Prof. Cristiano e suas alunas, como também o Téc. Pedro.

Ao laboratório Organomar pelas análises de HPAs.

Ao Vitor Dantas pelas análises dos fragmentos de petróleo e participação no artigo 1.

Ao Programa de Formação de Recursos Humanos para o Setor de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (PRH-ANP), em especial ao PRH 38.1, ao Prof. Paulo Estevão e ao Coord. Márcio Moura pela oportunidade, e a FAPESP pelo financiamento.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar o potencial de três espécies de *Callinectes* como bioindicadores das condições ambientais por meio de testes de alimentação e genotoxicidade. Para a análise genotóxica, os siris foram avaliados entre os anos de 2022 e 2023, período em que foi registrado o ressurgimento de óleo na forma de “tar balls” no Nordeste do Brasil. As coletas foram realizadas em três áreas estuarinas de Pernambuco: Atapuz, Carneiros e Suape, durante os meses de maio e novembro de 2022 e maio de 2023. O teste de Micronúcleo (MN) foi utilizado para avaliar macrolesões no DNA. Durante o estudo, foi detectada a ingestão de óleo pelos espécimes, além de altos níveis de danos ao material genético. Para a análise da alimentação, as coletas foram realizadas nos mesmos locais do estudo anterior, com avaliações conduzidas de 2020 a 2023. Esse estudo incluiu a coleta de sedimentos nos estuários, seguida da extração e análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bem como a avaliação de microlesões no DNA por meio do Ensaio Cometa (ID). Ao analisar os componentes da dieta dos espécimes, verificou-se que, dos 173 siris coletados, aproximadamente 20% apresentavam material oleoso no estômago. Durante o período do derramamento de óleo, os resultados indicaram um aumento nos níveis de HPA, que se correlacionaram com as maiores médias do índice de dano (ID), exceto na localidade de Carneiros. A ingestão desses contaminantes pode ser atribuída a diversos fatores, como o aumento do consumo de sedimentos pela espécie, eventos de precipitação e processos naturais, como lixiviação e alta predação. Os danos genéticos observados sugerem que as espécies expostas à contaminação são impactadas direta e indiretamente durante os períodos de derramamento de óleo, conforme demonstrado neste estudo.

Palavras-chave: Petróleo; Ingestão; Genotoxicidade; Siris.

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the potential of three species of *Callinectes* as bioindicators of environmental conditions through feeding and genotoxicity tests. For genotoxic analysis, the crabs were evaluated between 2022 and 2023, a period in which the resurgence of oil in the form of “tar balls” was recorded in Northeast Brazil. Collections were carried out in three estuarine areas of Pernambuco: Atapuz, Carneiros and Suape, during the months of May and November 2022 and May 2023. The Micronucleus (MN) test was used to evaluate macrolesions in the DNA. During the study, oil ingestion by the specimens was detected, in addition to high levels of damage to the genetic material. For the analysis of feeding, collections were carried out in the same locations as in the previous study, with assessments conducted from 2020 to 2023. This study included the collection of sediments in estuaries, followed by the extraction and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), as well as the evaluation of microlesions in DNA through the Comet Assay (DI). When analyzing the components of the specimens' diet, it was found that, of the 173 crabs collected, approximately 20% had oily material in their stomachs. During the oil spill period, the results indicated an increase in PAH levels, which correlated with the highest averages of the damage index (DI), except in the Carneiros location. The ingestion of these contaminants can be attributed to several factors, such as increased sediment consumption by the species, precipitation events, and natural processes, such as leaching and high predation. The observed genetic damage suggests that species exposed to contamination are directly and indirectly impacted during oil spill periods, as demonstrated in this study.

Keywords: Petroleum; Ingestion; Genotoxicity; Swimming crabs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1 – Efeitos da ingestão de óleo sobre as populações de três espécies do gênero *Callinectes* (Decapoda, Portunidae) em regiões afetadas por derramamento de petróleo em estuários tropicais no Brasil.

- Figura 1 – Mapa de localização do estudo. 22
- Figura 2 – (A): Representação de um eritrócito normal do siri *Callinectes*; (B: seta): Eritrócito micronucleado; (C: setas): Eritrócito com três micronúcleos. 24
- Figura 3 – Espectro Raman das amostras de supostos fragmentos de óleo encontrados nos conteúdos estomacais de espécimes de *Callinectes* no litoral de Pernambuco. 27
- Figura 4a – Gráficos de escores da PCA dos dados espectrais Raman. 28
- Figura 4b – Gráfico de pesos da PCA. 29
- Figura 5 – Média de eritrócitos micronucleados (MN%) entre os três estuários estudadas, no ano de 2022 nos meses de maio e novembro, e em maio de 2023. 30
- Figura 6 – Percentual de eritrócitos micronucleados (MN%) entre as três espécies, *Callinectes danae* (A); *Callinectes exasperatus* (B); *Callinectes marginatus* (C). **representa apenas um indivíduo coletado; *representa zero indivíduos. 31

ARTIGO 2 – Genotoxicidade e Alimentação dos Siris *Callinectes* spp. em Áreas Afetadas por Derramamento de Petróleo.

- Figura 1 – Mapa de localização do estudo. 48
- Figura 2 – Classificação dos nucleóides de *Callinectes* de acordo com o grau de dano 0 - 4. 51
- Figura 3 – Distribuição da média de índices alimentares (IA%) encontrados na dieta dos *Callinectes* em três estuários: Atapuz, Carneiros e Suape, durante os anos de 2020 a 2023. 54
- Figura 4 – Análise temporal do índice de dano genômico (média \pm desvio padrão) em *Callinectes* em três estuários em Pernambuco: Atapuz, Carneiros e Suape. 57

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 – Efeitos da ingestão de óleo sobre as populações de três espécies do gênero *Callinectes* (Decapoda, Portunidae) em regiões afetadas por derramamento de petróleo em estuários tropicais no Brasil.

Tabela 1 – Distribuição da relação entre as espécies e a ingestão de óleo nos meses de maio e novembro de 2022 e maio de 2023. 25

ARTIGO 2 – Genotoxicidade e Alimentação dos Siris *Callinectes* spp. em Áreas Afetadas por Derramamento de Petróleo.

Tabela 1 – Relação de indivíduos coletados durante os anos de 2020 a 2023. 53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Estrutura da dissertação	16
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivos geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	ARTIGO 1 – EFEITOS DA INGESTÃO DE ÓLEO SOBRE POPULAÇÕES DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Callinectes</i> (DECAPODA, PORTUNIDAE) EM REGIÕES AFETADAS POR DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO EM ESTUÁRIOS TROPICAIS NO BRASIL	18
4	ARTIGO 2 – GENOTOXICIDADE E ALIMENTAÇÃO DOS SIRIS <i>Callinectes</i> spp. EM ÁREAS AFETADAS POR DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO, NO LITORAL DE PERNAMBUCO, BRASIL	45
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
	REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

A história dos derramamentos de petróleo no Brasil é antiga, os primeiros registros ocorreram durante as décadas de 1960 e 1970 quando houve os primeiros acidentes com navios-tanque, coincidindo com a época do desenvolvimento industrial do país. Nas duas décadas seguintes, falhas em dutos e na infraestrutura industrial foram os motivos dominantes de acidentes. Já no século XXI, as causas dos derramamentos passaram a ser atribuídas a falhas humanas e operacionais (Zacharias & Fornaro, 2020).

Siqueira et al. (2023) e Lemos et al. (2024) mapearam rotas e trajetórias que possibilitam a chegada de manchas de óleo ao litoral brasileiro. Zacharias et al. (2023) estimaram que até 30% dos navios que seguem em direção ao Cabo da Boa Esperança podem estar despejando e limpando tanques nas proximidades das águas jurisdicionais brasileiras. É amplamente reconhecido que a produção de petróleo e gás natural é fundamental para o fornecimento global de energia (Soares et al., 2020). Entretanto, o aumento das atividades nesse setor, pode acarretar riscos significativos para o meio ambiente (Sousa et al., 2013).

No segundo semestre de 2019, um extenso derramamento de óleo afetou a costa do Nordeste e parte do Sudeste do Brasil, atingindo mais de mil localidades ao longo do litoral brasileiro (Lourenço et al., 2020). Sendo este evento considerado um dos maiores derramamentos na América do Sul e um dos mais significativos na região tropical (Soares et al., 2020; Magalhães et al., 2021). Exames geoquímicos forenses indicaram que as partículas do óleo “misterioso” de 2019 apresentavam características compatíveis com o óleo venezuelano (Oliveira et al., 2020). Embora a remoção do resíduo das praias, recifes de corais e manguezais tenha sido considerável (Brum et al., 2020), pequenas manchas de óleo ainda foram detectadas em várias regiões, com potencial para persistir por anos. Magris e Giarrizo (2020) ressaltaram os impactos desse evento nos habitats costeiros, destacando ameaças as espécies marinhas. Além de impactar vilas de pescadores e o turismo, exigindo ações de proteção ambiental e governamentais, devido à magnitude do problema, foram relatados impactos econômicos e ambientais em 11 estados, 130 municípios e 1009 localidades (Almeida et al., 2022; Inojosa et al., 2022). Além disso, mais de 55 áreas de preservação costeira, essenciais para a conservação da vida marinha, também foram afetadas (Soares et al., 2020; IBAMA, 2020; Magalhães et al., 2021).

Em 2022, um novo evento petrolífero afetou o Litoral do Nordeste, semelhante ao ocorrido em 2019, como relatado por Soares et al. (2023) e Lourenço et al. (2023). Os efeitos do óleo variam conforme o ambiente afetado e seu grau de sensibilidade (Wake, 2005). Os riscos estão particularmente associados ao potencial das manchas de óleo atingirem áreas

costeiras produtivas, como manguezais, estuários e recifes, que abrigam organismos delicados e com vulnerabilidades complexas (Gundlach & Hayes, 1978). Devido à sua densidade e características químicas, o petróleo no ambiente marinho pode formar compostos orgânicos tóxicos, a sua fragmentação intensifica os danos ambientais, especialmente para a fauna local (Andrade et al., 2010). O petróleo é composto principalmente por hidrocarbonetos, com 95% de sua estrutura formada por hidrocarbonetos alifáticos (80%) e aromáticos (15%). Apesar de os hidrocarbonetos aromáticos representarem uma fração menor, eles são os mais tóxicos, em que consistem em dois ou mais anéis aromáticos condensados. Esses compostos, formados por carbono e hidrogênio, são motivo de preocupação, pois muitos de seus componentes são reconhecidamente mutagênicos e carcinogênicos (Iarc, 2012).

O manguezal, por exemplo, é um ecossistema que por apresentar características sensíveis, é fortemente impactado, quando poluentes o atingem. Ivar do Sul et al. (2014) explica que as florestas de mangue conseguem acumular resíduos durante longos períodos, especialmente em suas áreas mais elevadas, onde a influência de correntes e marés é reduzida. O contato direto com o petróleo bruto pode matar muitos organismos, resultando em uma redução na diversidade e abundância de espécies e levando a mudanças na composição e perda das funções dos ecossistemas nas áreas afetadas (Eichler et al., 2014; Magris & Giarrizzo, 2020; Craveiro et al., 2021; Santana et al., 2022).

Felder et al. (2014) e Phukaokaew e Sukhsangchan (2019) relatam que a contaminação por óleo pode causar danos externos em animais, carapaças e membros ambulatórios, além de afetar órgãos internos, como as brânquias. Magris e Giarrizzo (2020), Soares et al. (2022) e Soares e Rabelo (2023) apontam evidências de ingestão de óleo, mudanças no tamanho e sexo dos organismos, e alterações morfológicas. Campelo et al. (2021) sugerem um impacto na abundância do microzooplâncton, enquanto Souza et al. (2022) observam uma redução nas taxas de assembleia de zooplâncton. Além disso, Santana et al. (2022) relatam uma diminuição no número de fêmeas de caranguejos *Pachygrapsus*.

Os caranguejos da infraordem Brachyura Latreille, 1802 pertencem a uma classificação de crustáceos, que engloba espécies com valor socioambiental, como siris do gênero *Callinectes* Stimpson (1860), o qual é composto por 15 espécies, das quais a grande maioria pode ser encontrada ao longo da costa brasileira (Robles et al., 2007). Esses siris possuem um importante valor econômico, especialmente para pescadores ribeirinhos que dependem da pesca como fonte de sustento para suas famílias (Jablonski et al., 2006). A alimentação dos siris azuis, como são conhecidos popularmente, distingue-se de três maneiras diferentes a: raptorial, interface e planctófaga (Negreiros-Fransozo & Fransozo, 1994). O que envolve comportamentos

diferentes, como a captura de grandes organismos; se alimentar na superfície de objetos e sedimentos; o consumo de pequenos materiais suspensos, respectivamente. Dessa forma, os siris desempenham um papel ecológico muito importante na estrutura e função da cadeia alimentar.

Além disso, estes representantes da família Portunidae apresentam alta edacidade, manifestam maior atividade e crescimento em comparação com outros crustáceos (Edgar, 1990). Devido a essas características, esses animais ingerem uma maior quantidade de alimentos e, conseqüentemente, mais contaminantes, caso estes estejam biodisponíveis (Mantellato e Christofolletti, 2001). Assim, esses animais têm potencial para serem empregados como bioindicadores da qualidade ambiental (Areces et al., 2015; Leite et al., 2020). Mudanças no ambiente podem prejudicar o material genético dos organismos, e medir esses danos é uma forma eficaz de identificar perturbações ambientais, conforme discutido por Gonzalez-Hunt et al. (2018). O teste de micronúcleo é um método amplamente utilizado para avaliar macrolesões no material genético, causadas por fatores químicos, físicos ou biológicos, sendo um dos marcadores genéticos mais comuns para análise do potencial de genotoxicidade (Oga et al., 2008; Sommer et al., 2020). Macrolesões são mutações que atingem porções maiores do DNA, como a perda de parte do cromossomo (Oga et al., 2008). Os micronúcleos (MN) são núcleos menores formados por fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que não são incluídos no núcleo principal devido a erros anafásicos podendo ser observados após um ciclo completo de divisão celular (Fenech, 1997; Bonassi et al., 2007). A exposição a agentes mutagênicos pode levar à formação de micronúcleos, caracterizando um fenótipo de instabilidade cromossômica/genômica (Fenech, 2002; Bonassi et al., 2007; Teixeira, 2007). A análise quantitativa das macrolesões é feita pela contagem do número de células micronucleadas em relação às células normais, estimando o impacto do agente perturbador (Fenech, 2000). Este método destaca-se por sua alta sensibilidade e baixo custo (Sommer et al., 2020). As células micronucleadas são identificadas por características específicas, como a estrutura da cromatina e a intensidade de cor semelhante ou mais fraca do que a do núcleo principal (Tolbert, Shy & Allen, 1992; Fenech, 2000). Além deste método, também existe o ensaio cometa, que é um método genotoxicológico altamente sensível para avaliar microlesões no DNA de células individuais, detectando quebras da fita em diferentes níveis (Belpaeme, Cooreman & Kirsh-Volders, 1998; Speit & Hartmann, 1999; Scaloni et al., 2010). Esta técnica envolve a eletroforese do DNA em gel alcalino, onde células são inseridas em gel de agarose e expostas a soluções que rompem as membranas celulares, deixando proteínas nucleares expostas (Singh et al., 1988). O DNA danificado migra durante a eletroforese, formando uma

"cauda de cometa", cujo comprimento indica o grau de degradação do DNA (Paolo, 2006; Brianezi, Camargo & Miot, 2009; Rojas et al., 1999). A intensidade do dano é avaliada visualmente e classificada em níveis de acordo com o comprimento da cauda, variando da Classe 0 (sem danos) até a Classe 4 (máximo dano) (Bolognesi & Cirillo, 2014). Este método é amplamente utilizado no biomonitoramento de agentes genotóxicos, detectando efeitos de agentes químicos e físicos em diferentes matrizes ambientais (Cotelle & Féraud, 1999; Adam et al., 2010).

A abordagem genotóxica é versátil, podendo ser aplicada a diversos organismos em diferentes ambientes, tornando-se uma ferramenta de alta eficiência (Bhat et al., 2019). A partir disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a dieta alimentar de três espécies de siris do gênero *Callinectes*, e entender através de testes genotóxicos se os estuários estudados foram contaminados e principalmente se a fauna estuarina foi impactada pelos recorrentes surgimentos de petróleo na costa Pernambucana.

1.1 Estrutura da dissertação

A presente dissertação realiza um estudo analítico sobre os efeitos genotóxicos em siris, contaminados por petróleo. Diante disso, foi feita uma Introdução Geral abordando os temas dos capítulos seguintes. Os resultados fruto desta dissertação estão apresentados nos tópicos 3 e 4.

Artigo I (Tópico 3): “Efeitos da ingestão de óleo sobre as populações de três espécies do gênero *Callinectes* (Decapoda, Portunidae) em regiões afetadas por derramamento de petróleo em estuários tropicais no Brasil” – Este artigo relata a ingestão de fragmentos de petróleo por três espécies do gênero *Callinectes* em três estuários de Pernambuco e os possíveis efeitos genômicos através de teste de micronúcleo. Este manuscrito está formatado de acordo com as normas do periódico **Science of the Total Environment**, com exceção do idioma do corpo do trabalho, estando apenas as figuras e tabelas em seu idioma sugerido.

Artigo II (Tópico 4): “Genotoxicidade e alimentação dos siris *Callinectes* spp. em áreas afetadas por derramamento de petróleo, no litoral de Pernambuco, Brasil” – Este manuscrito descreve a dieta alimentar de siris do gênero *Callinectes* em regiões atingidas por derrame de petróleo, além de avaliar a contaminação dos sedimentos e correlacionar esses dados com lesões ao DNA. Este artigo está formatado de acordo com as normas do periódico **Environmental Pollution**, com exceção do idioma do corpo do trabalho, estando apenas as figuras e tabelas em seu idioma sugerido.

As referências de cada capítulo estão no final deles. Por fim, o tópico 5 apresenta as considerações finais deste trabalho, seguido das referências da parte introdutória.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar possíveis danos genotóxicos em siris do gênero *Callinectes* presentes em regiões estuarinas afetadas por derramamento de petróleo, através da sua alimentação e a presença de resíduos de petróleo.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar e quantificar o conteúdo estomacal de *Callinectes* Stimpson 1860, identificando os itens alimentares;
- Comparar os itens alimentares encontrados nos *Callinectes* entre as áreas estudadas;
- Verificar a presença de resíduos de petróleo nos animais e em seu conteúdo estomacal;
- Avaliar possíveis danos genotóxicos através de análises de micronúcleo e ensaio cometa;
- Acompanhar os impactos gerados pelo derramamento de óleo ao longo do tempo;
- Avaliar a contaminação dos sedimentos das regiões estudadas em termos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e correlacionar as variáveis bióticas analisadas nesse presente estudo.

4. ARTIGO I – EFEITOS DA INGESTÃO DE ÓLEO SOBRE AS POPULAÇÕES DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO *Callinectes* (Decapoda, Portunidae) EM REGIÕES AFETADAS POR DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO EM ESTUÁRIOS TROPICAIS NO BRASIL

Resumo

Os riscos ligados a vazamentos de petróleo nos ecossistemas marinhos são bastante significativos, estes podem causar efeitos deletérios em diferentes espécies costeiras. Diante disso, este trabalho teve como objetivo analisar se as espécies *Callinectes danae* Smith, 1869, *Callinectes exasperatus* (Gerstaecker, 1856) e *Callinectes marginatus* A. Milne-Edwards, 1861, ingeriram partículas de petróleo provenientes do ressurgimento registrado em 2022, e os possíveis danos genômicos. Os espécimes foram coletados em três estuários de Pernambuco: Atapuz, Carneiros e Suape, nos anos de 2022 (meses de maio e novembro) e 2023 (maio). Em laboratório após análise de conteúdo estomacal desses espécimes, foram analisados com Espectroscopia Raman fragmentos que tinham potencial de serem provenientes do derrame de petróleo. Também foi realizado o teste de micronúcleo para a identificação de macrolesões no DNA dos siris. Os resultados indicaram que os dados espectrais das amostras são compatíveis com os do ressurgimento de 2022. Além disso, as espécies apresentaram sensibilidade a contaminação nos ambientes demonstrada através do teste de micronúcleo, que apresentou frequência média de eritrócitos portadores de micronúcleos para a localidade de Atapuz de 2,38%. Para Suape, os valores de MN% foram de 3,47%, e em Carneiros, 2,41%. O que ressalta a importância do monitoramento contínuo após derramamentos de petróleo, a fim de compreender o impacto no ecossistema e nos organismos que o habitam.

Palavra-chave: Ecossistema; Espectro; Vazamentos; Macrolesões.

1. INTRODUÇÃO

No segundo semestre de 2019 a costa brasileira sofreu um grande impacto ambiental com o derramamento de óleo considerado “misterioso”, em que atingiu toda a costa da região do Nordeste e parte da região Sudeste, já considerado o maior acidente desta região, com registros de recorrência até janeiro de 2020 (Escobar, 2019; Soares et al., 2020; Lourenço et al., 2020). No ano de 2022 foi registrado o aparecimento de “tar balls” ao longo da costa pernambucana, no período entre agosto e setembro, (Bérgamo et al., 2023). Outros autores como Soares et al. (2023) e Lourenço et al. (2023) também registraram o ressurgimento de petróleo no Litoral do Nordeste brasileiro em 2022.

Os potenciais riscos ligados a vazamentos de petróleo e seu impacto nos ecossistemas marinhos são significativos. Tais incidentes têm potencial de causar danos consideráveis à vida marinha e aos ecossistemas costeiros (Magris & Giarrizzo, 2020), como por exemplo, o ambiente manguezal, que desempenha um papel crucial na ecologia do ambiente marinho (Shaeffer-Novelli, 1995), além de proporcionar alimentação e abrigo para diversas espécies de peixes e crustáceos, ele também cumpre a função de ciclagem da matéria orgânica, servindo como uma zona de transição que ajuda a manter a saúde do estuário (Shaeffer-Novelli, 2016; Oliveira et al., 2014).

A infraordem Brachyura compreende uma categoria diversificada de Crustacea, abrangendo espécies de grande importância econômica e ecológica, como os siris pertencentes ao gênero *Callinectes* Stimpson (1860), e a família Portunidae (Branco, 1990). Esses animais fazem parte do ecossistema do manguezal, onde desempenham um papel crucial na ciclagem de nutrientes, e na estrutura e função da cadeia alimentar, além de ferramentas para avaliar a saúde dos ecossistemas em que habitam, pois são bioindicadores eficazes (Taissoun, 1973; Laughlin, 1982; Oliveira et al., 2006). Além da sua importância ecológica, eles também apresentam um alto valor socioeconômico. Os siris constituem uma fonte de subsistência para comunidades ribeirinhas de baixa renda, que dependem da captura desses crustáceos para sustento e obtenção de renda (Branco & Fracasso, 2004; Barreto et al., 2006).

Segundo Robles et al. (2007), a fauna de portunídeos nas Américas é constituída por aproximadamente 46 espécies, das quais 15 pertencem ao gênero *Callinectes*. Dentre essas espécies, seis delas podem ser localizadas na costa brasileira: *Callinectes bocourti* A. Milne-Edwards, 1879, *Callinectes danae* Smith, 1869, *Callinectes exasperatus* (Gerstaecker, 1856), *Callinectes marginatus* A. Milne-Edwards, 1861, *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 e

Callinectes sapidus Rathbun 1896 (Melo, 1996). Durante este estudo foram capturadas apenas três espécies dessas, que foram: *C. danae*, *C. exasperatus* e *C. marginatus*.

Callinectes danae é o siri mais abundante em áreas rasas e costeiras no Brasil. É encontrado com frequência em estuários, manguezais e na plataforma continental até 70 metros de profundidade, de ambientes salinos a hipersalinos (Norse, 1978; Buchanan & Stoner, 1988; Melo, 1996; Andrade et al., 2015). Sua distribuição geográfica abrange o oeste do Oceano Atlântico, desde a Flórida até a Argentina (Williams, 1974; Mantelatto & Fransozo, 1999; Chacur e Negreiros-Fransozo, 2001). A espécie *C. exasperatus*, assim como outras espécies do gênero tem uma alta tolerância a diferentes níveis de salinidade, sua distribuição geográfica se estende desde o sul da Flórida ao Brasil, e do oeste do Golfo do México às Bermudas, além de também já ter sido registrada em águas europeias (Williams, 1974; Cuesta et al., 2015). Já *C. marginatus* habita regiões semelhantes às suas espécies congêneres e pode ser encontrada do sul da Flórida até São Paulo, Brasil (Williams, 1974).

O óleo consiste em uma complexa mistura de substâncias químicas, cada uma com suas próprias características físico-químicas que podem mudar ao entrarem em contato com o ambiente aquático. Entre essas substâncias, destacam-se os hidrocarbonetos, que são persistentes e não se dispersam facilmente na água do mar, caracterizando-se assim como óleo bruto, o que o torna altamente tóxico (Roy & Fowlie, 2012). Resíduos de óleo com essas características, ao atingirem ambientes costeiros, causam maiores impactos, especialmente nas áreas de manguezais, devido à sua alta sensibilidade e seu substrato lamoso (Szewczyk, 2006).

Hidrocarbonetos podem levar décadas para serem biodegradados por completo, devido sua alta resistência, principalmente quando estão enterrados em sedimentos. Seus impactos podem levar um longo prazo para serem detectados (Caruso & Alaburda, 2008). A fauna marinha afetada geralmente é contaminada através da exposição direta ou a ingestão do petróleo o que torna lenta a detecção de seus efeitos (Li & Boufadel, 2010; Eichler et al., 2014; Magris & Giarrizzo 2020; Lourenço et al., 2024). Alguns trabalhos relacionam a exposição de crustáceos a contaminantes como estressores que potencialmente causam danos subletais, como alterações no DNA e alterações morfológicas (Nudi et al., 2010; Pinheiro et al., 2013). Entre os métodos utilizados para analisar danos genotóxicos em crustáceos está o teste de micronúcleo que detecta e quantifica as macrolesões no material genético (Pinheiro et al., 2013).

Para o gênero *Callinectes* foram realizados alguns estudos sobre os impactos relacionados à exposição de óleo em *Callinectes sapidus* (Pearson et al., 1981; Wang & Stickle,

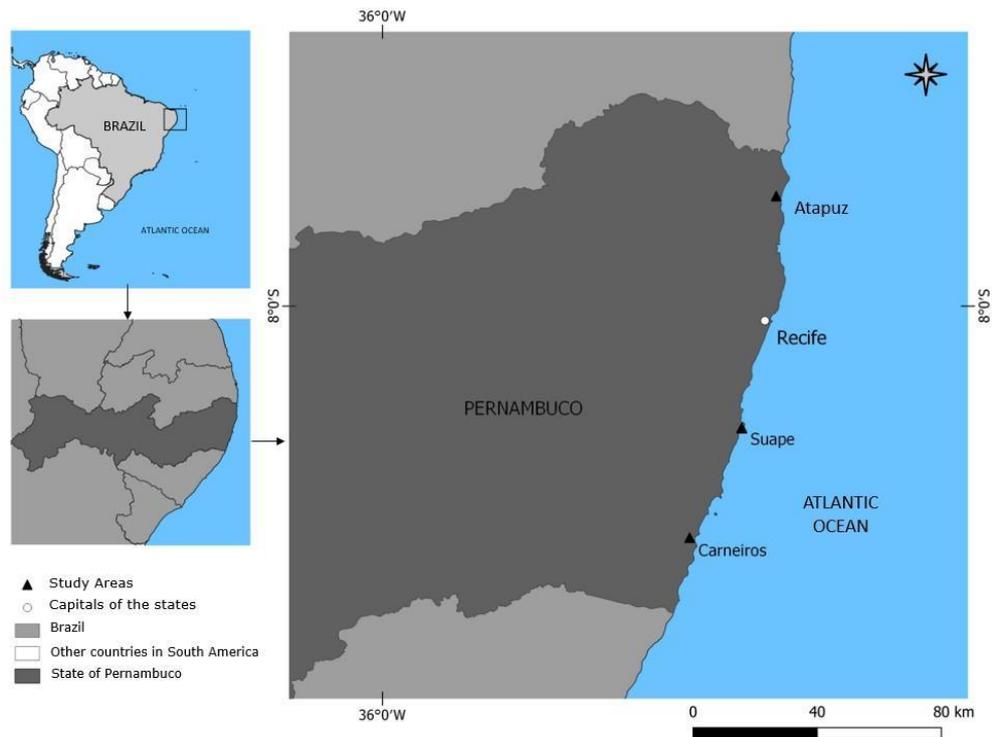
1988; Alloy et al., 2015; Giltz & Taylor, 2017; Chiasson & Taylor, 2017; Kelly & Taylor, 2018) e a ingestão de alimentos e água contaminados por óleo (Lee & Neuhauser, 1976). No entanto, para as espécies modelo analisadas do presente estudo, não foram realizados nenhum trabalho sobre ingestão de petróleo, o que ressalta a importância do estudo, diante do valor socioeconômico desses organismos. Esses fatos motivaram a realização de análises investigativas a respeito das possíveis consequências à fauna. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar se os siris *C. danae*, *C. exasperatus* e *C. marginatus* ingeriram partículas de óleo decorrentes de ressurgimentos de petróleo bruto na Costa de Pernambuco, ocorrido no ano 2022. Além disso, buscou-se compreender se essa ingestão estava associada a efeitos genotóxicos, atribuindo-os ao teste de micronúcleo (macrolesões no DNA).

2. MATERIAL E METÓDOS

2.1 Amostragem de Campo

Foram escolhidas localidades que foram afetadas pelos derramamentos de óleo. As coletas foram realizadas nos meses de maio e novembro de 2022 e maio de 2023, nos estuários de Suape (8°21'32.18''S 34°57'41.33''O), Carneiros (8°40'54.79''S 35°6'51.35''O), localizados ao sul do estado e no estuário de Atapuz, Barra de Catuama (7°41'0.19''S 34°50'48.00''O) mais ao norte de Pernambuco, no nordeste do Brasil (Figura 1). Durante as coletas foram utilizadas iscas e puçás para a captura dos animais. Foram coletados 10 indivíduos do gênero *Callinectes* de forma aleatória, em cada estuário escolhido. Após coleta, os indivíduos foram acondicionados em caixas contendo água local e sedimento e levados até um ponto de apoio para retirada da hemolinfa, logo após foram transportados para o laboratório de Carcinologia da Universidade Federal de Pernambuco, para coleta de dados.

Figura 1. Mapa de localização do estudo



Fonte: A autora (2024)

2.2 Análise estomacal

Para remoção dos estômagos foi realizado um corte dorsal, com o auxílio de pinça e tesoura, margeando a carapaça do animal. Para análise do conteúdo estomacal, o mesmo foi removido com jatos de água e depositado em placa de Petri para análises em estereomicroscópio e microscópio óptico (Stevens et al., 1982; Branco & Verani, 1997). Logo após, o estômago seco (sem conteúdo estomacal) foi pesado com o auxílio de uma balança analítica de precisão 0,001 g, e conservado em formalina 4%. Durante as análises, os fragmentos não naturais que foram encontrados no conteúdo estomacal do animal eram separados com auxílio de uma pinça para posterior identificação.

2.3 Análise espectral

Foram separados para análise os fragmentos que tinham potencial de ser classificados como fragmentos de óleo, os quais foram encontrados durante a análise do conteúdo estomacal dos espécimes. Para realizar a confirmação da composição destes fragmentos foi utilizado o equipamento portátil Mira M-3, da Metronm, na faixa de 400 a 2300 cm^{-1} . Os dados espectrais foram obtidos em triplicata e calculada a média para cada amostra, em seguida foram suavizados com filtro de Savitzky Golay (Savitzky & Golay, 1964), com janela de 25 pontos,

e correção de linha de base com filtro Whittaker (Kwofie et al., 2020) para reduzir ruídos com intuito de prevalecer as informações químicas das amostras.

2.4 Teste micronúcleo

2.4.1 Preparação em laboratório

Antes de levar o material para campo, as lâminas foram deixadas em Extran (2%) por pelo menos 4 horas, sem ultrapassar as 24 horas de imersão. Em seguida, foram enxaguadas com água destilada e deixadas secar ao ar livre. Foi garantido que fossem secas em temperatura ambiente, em local seco e protegido da poeira, utilizando papel absorvente para forrar a superfície onde foram colocadas. Com luvas, cada lâmina foi identificada, seja com lápis ou etiqueta impressa em jato de tinta HP, e armazenada nas caixas porta-lâminas para a adição da hemolinfa posteriormente em campo.

2.4.2 Procedimentos em campo

Para realizar a coleta e preparação da hemolinfa, foram seguidas as seguintes etapas: Primeiro, foi colocado 0,5 ml de heparina sódica (Hemofol®) (anticoagulante) em uma seringa do tipo insulina (Scarpato et al., 1990; Pinheiro et al., 2013; Shields, 2017). Em seguida, foi realizada a punção, retirando pelo menos 1 ml da hemolinfa do crustáceo vivo, preferencialmente pela junção da coxa do quinto par de pereópodos, de forma a evitar colocar uma quantidade excessiva de hemolinfa para evitar coagulação.

Após a coleta, a seringa foi levemente agitada para promover a mistura do hemofol com a hemolinfa. Então, duas gotas da mistura foram colocadas em uma lâmina de margem fosca. Foi utilizada a técnica do esfregaço das lâminas a fim de espalhar todo o conteúdo. Essas etapas foram realizadas com precisão para garantir a preparação adequada da amostra de hemolinfa para análise posterior. Dos 10 animais coletados todos tiveram preparação de lâmina, sendo que, para cada indivíduo amostrado foram produzidas duas lâminas para que houvesse uma como reserva. Após o esfregaço, as lâminas foram secas brevemente em temperatura ambiente e, em seguida, as lâminas foram colocadas no berço para transporte até o laboratório de Carcinologia da UFPE.

2.4.3 Análise das lâminas

As lâminas que estavam dispostas no berço foram imersas no metanol a 100% por 5 minutos para coloração e posteriormente lavadas em água corrente. Depois, foram coradas com Giemsa® por 3 minutos e lavadas novamente. Em seguida, as lâminas foram removidas do berço e colocadas para secar sobre papel absorvente, com a parte em que o esfregaço foi feito

voltada para cima, permitindo uma secagem adequada. Após a secagem, foram guardadas em caixas próprias para lâminas. Este processo foi realizado com cuidado para garantir a qualidade das amostras para análise. Posteriormente as lâminas preparadas foram examinadas em microscópio óptico com lente de 100x utilizando óleo de imersão (Schmid, 1995; Cabral, 2017). Durante a análise, as lâminas foram contabilizadas até 1.000 células, para estimar a frequência de micronúcleos, utilizando a fórmula $MNF (\%) = (\text{células com micronúcleos} / \text{número total de células contadas}) \times 100$ (Duarte et al., 2012). A identificação dos hemócitos apropriados seguiu as descrições fornecidas por Bolognesi e Fenech (2012) (Figura 2).

Figura 2. (A): Representação de um eritrócito normal do siri *Callinectes*.; (B: seta): Eritrócito micronucleado; (C: setas): Eritrócito com três micronúcleos.



Fonte: A autora (2024).

2.5 Análises estatísticas

A Análise por Componentes Principais (PCA) foi realizada com objetivo de elucidar informações espectrais, levando em consideração os agrupamentos entre as amostras por suas similaridades e divergências espectrais. O algoritmo foi aplicado por decomposição de valores singulares (SDV) e com dados centrados na média, em ambiente RStudio, gratuito e de fácil acesso.

3. RESULTADOS

Foram coletados 74 indivíduos e identificadas três espécies (*Callinectes danae*, *C. marginatus*, e *C. exasperatus*), a espécie *C. danae* foi a mais abundante e a mais afetada. Já entre as três localidades do estudo a que teve mais registro de espécimes com ingestão de óleo foi Atapuz, seguida de Suape e Carneiros (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da relação entre as espécies e a ingestão de óleo nos meses de maio e novembro de 2022 e maio de 2023.

2022/May	Atapuz		Suape		Carneiros	
	with oil	without oil	with oil	without oil	with oil	without oil
<i>Callinectes danae</i>	5	3	1	3	0	11
<i>Callinectes exasperatus</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Callinectes marginatus</i>	0	3	1	2	0	0
2022/November	Atapuz		Suape		Carneiros	
	with oil	without oil	with oil	without oil	with oil	without oil
<i>Callinectes danae</i>	3	3	5	1	0	5
<i>Callinectes exasperatus</i>	1	2	1	1	0	1
<i>Callinectes marginatus</i>	0	0	1	0	1	0
2023/May	Atapuz		Suape		Carneiros	
	with oil	without oil	with oil	without oil	with oil	without oil
<i>Callinectes danae</i>	8	0	5	2	2	1
<i>Callinectes exasperatus</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Callinectes marginatus</i>	0	0	0	0	0	0

Fonte: A autora (2024)

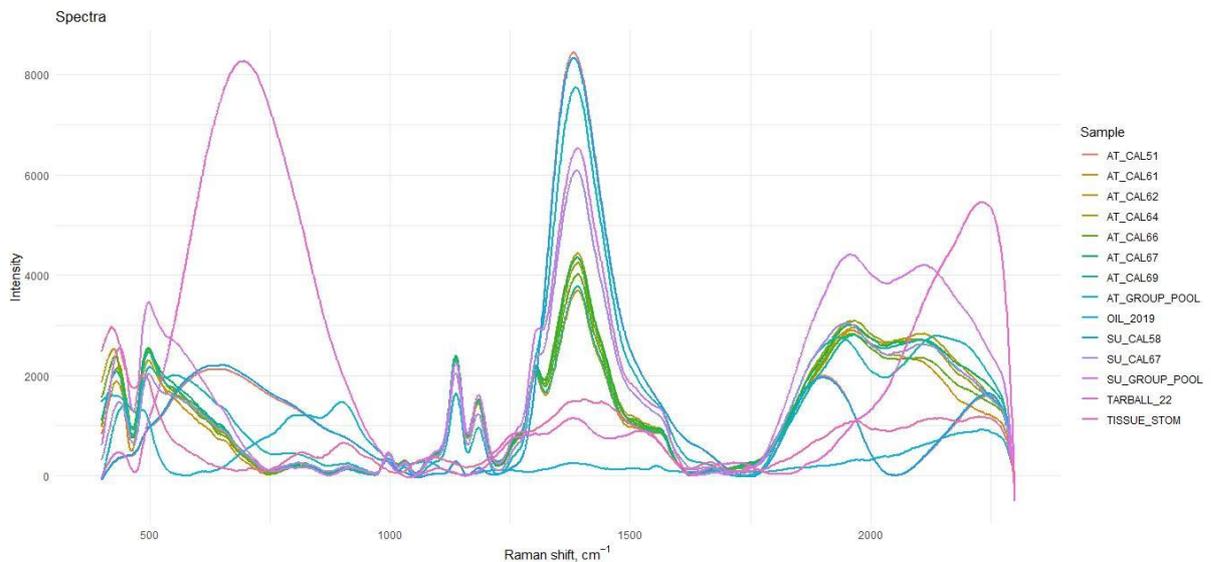
Somando todos os indivíduos do mês de maio de 2022, tivemos 30 indivíduos e sete deles tinham em seu conteúdo estomacal a presença de óleo, com isso aproximadamente 23,33% dos indivíduos ingeriram óleo durante sua alimentação. Seguindo, no mês de novembro de 2022, foram capturados 25 siris e 12 deles apresentavam óleo em seu estômago (48%). Em

maio de 2023, foram coletados 19 espécimes, em que 15 indivíduos tiveram a presença de fragmentos de óleo em seu conteúdo gástrico (78,95%).

Entre as espécies coletadas, *C. danae* foi a que apresentou maior número de espécimes com registro de óleo em seu conteúdo estomacal, com 29 indivíduos. *C. marginatus* teve três exemplares com registro e *C. exasperatus* apenas dois.

Os espectros das amostras de fragmentos oleosos, apresentaram bandas similares nas regiões entre 1150 e 1270 cm^{-1} , assim como por volta de 1400 cm^{-1} , possivelmente são associadas informações químicas das amostras de óleo, tendo em vista que interferentes foram removidos nas etapas prévias e minimizados durante a análise (Figura 3). Devido à baixa densidade, alguns fragmentos de amostras de óleo foram agrupadas, e nomeadas como “GROUP”, para facilitar o registro dos espectros. A partir do resultado espectral pode-se perceber uma similaridade na região de 1400 cm^{-1} entre as amostras de Suape (“SU_GROUP_POOL”, “SU_CAL57” and “SU_CAL58”), enquanto as amostras de Atapuz apresentam bandas mais discretas, porém melhores definidas comparadas com as amostras de Suape.

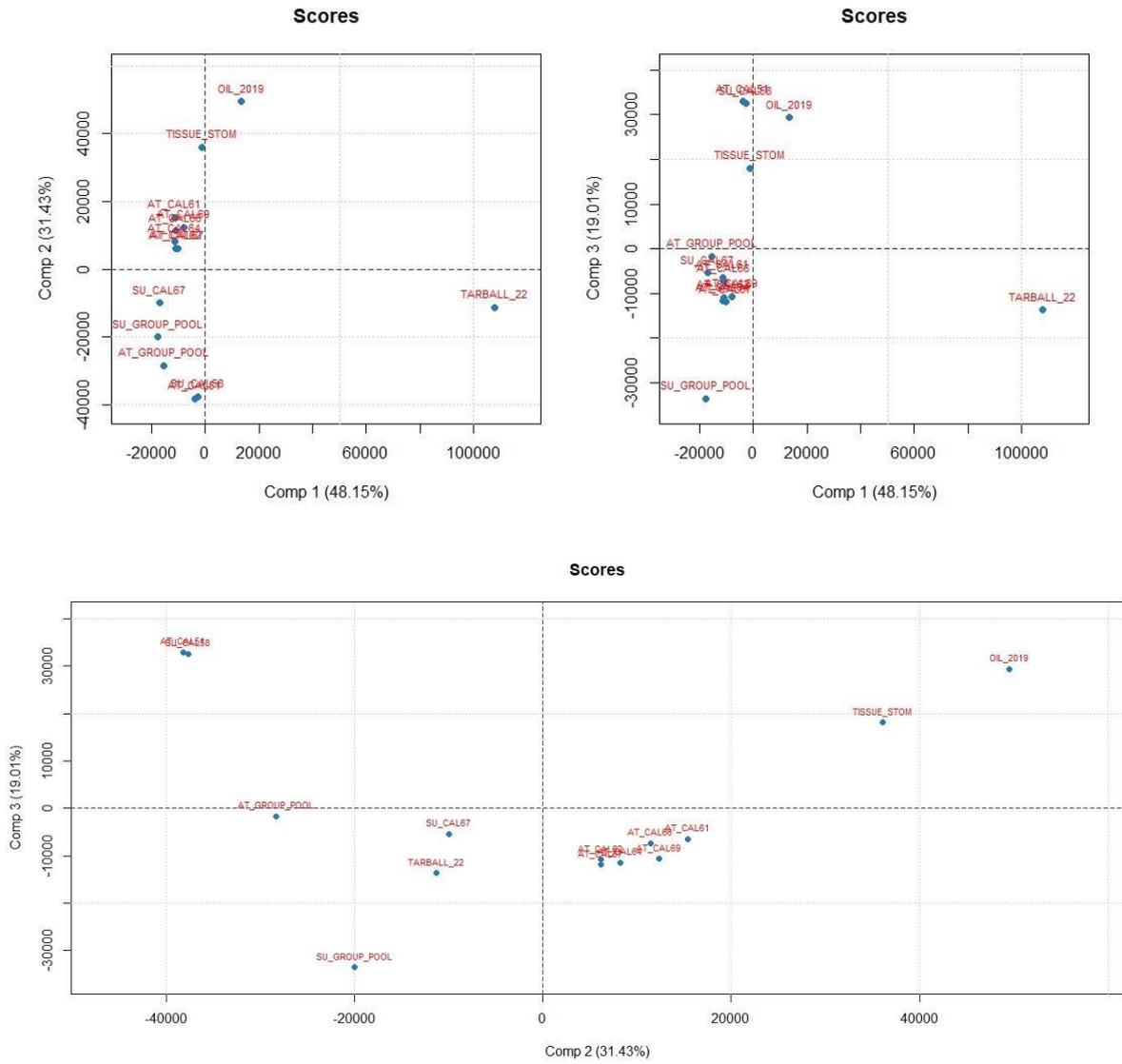
Figura 3. Espectro Raman das amostras de supostos fragmentos de óleo encontrados nos conteúdos estomacais de espécimes de *Callinectes* no litoral de Pernambuco.



Fonte: A autora (2024)

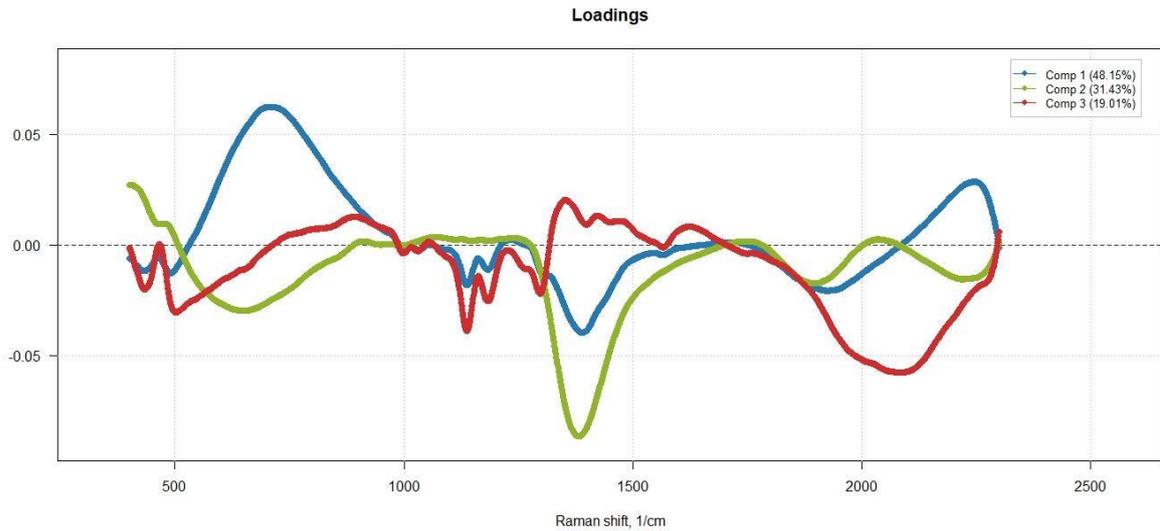
A análise por componentes principais ajudou na interpretação dos dados, reconhecendo os agrupamentos de amostras de acordo com suas similaridades espectrais. Apenas três componentes principais foram suficientes para explicar 98% da variância total dos dados, sendo a primeira componente explicou aproximadamente 48%, enquanto a segunda e a terceira, 31% e 19%, respectivamente. Na Figura 4a, os gráficos de escores demonstram que a amostra “TARBALL_22” possui comportamento espectral distinto das demais devido a presença da banda entre 500 e 1000 cm^{-1} , explicado pela PC1, porém similar às demais nos comprimentos de onda seguintes. A faixa entre 1000 e 1600 cm^{-1} destaca a similaridade entre as amostras de Atapuz e Suape de diferentes coletas, assim como as amostras coletadas de óleo usadas como referência (“SU_GROUP_POOL”, “AT_GROUP_POOL” e “TARBALL_22”), divergindo do comportamento de “OIL_2019” e “TISSUE_STOM”, referentes ao derramamento de óleo no ano de 2019 e ao tecido estomacal dos siris, demonstrados no gráfico de pesos referentes PC2 e PC3 na Figura 4b.

Figura 4a. Gráficos de escores da PCA dos dados espectrais Raman.



Fonte: A autora (2024)

Figura 4b - Gráfico de pesos da PCA

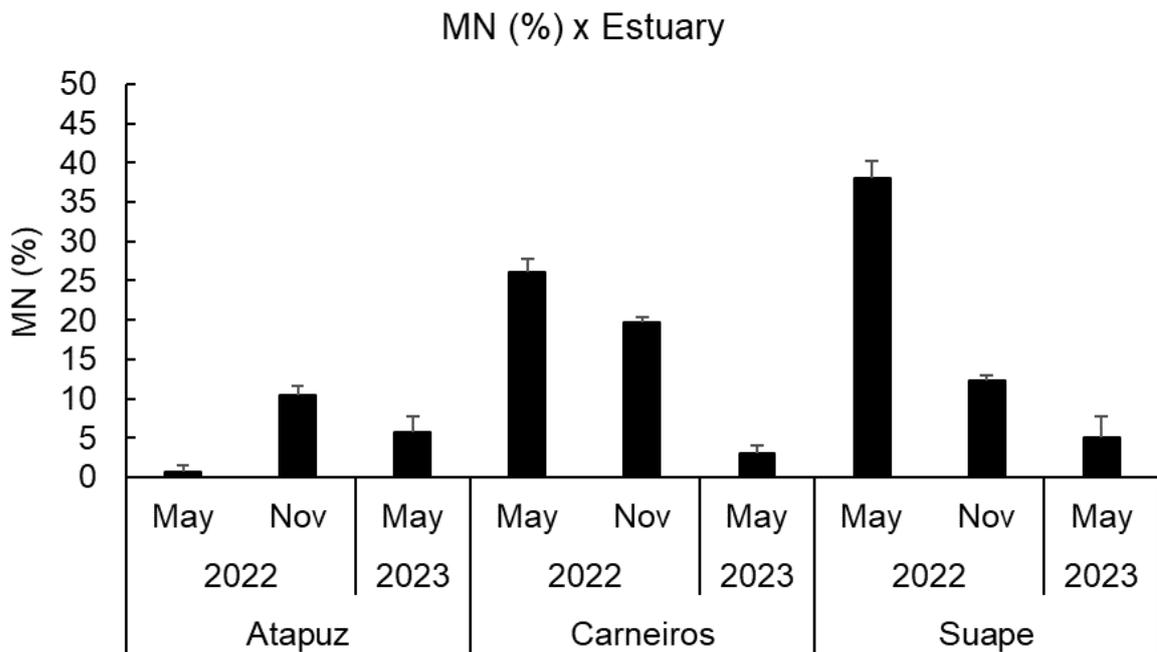


Fonte: A autora (2024)

Baseado nos pesos da PCA, as informações químicas registradas dos estômagos dos siris são distintas dos vestígios de óleo ingeridos por esses animais, pelas regiões por volta de 1400 cm^{-1} e acima de 1900 cm^{-1} . Além de que tais vestígios possuem comportamento similar coletados nas regiões analisadas, de Atapuz e Suape, pela faixa espectral entre 500 e 1000 cm^{-1} . A similaridade espectral entre as amostras dos contaminantes presentes nos estômagos dos siris das regiões analisadas pode ser um indicativo de que o óleo seja de mesma origem, provavelmente do ressurgimento no ano de 2022 e divergente do óleo encontrado em 2019.

O método das análises de micronúcleo, observando os eritrócitos portadores de micronúcleos, foi calculado e expresso em forma percentual. A frequência de MN% foi de 8,40 e 0,00% em Atapuz, 9,80 e 0,50% em Suape e 5,50 e 0,40% em Carneiros. Embora a literatura geralmente reporte a frequência de células micronucleadas por mil (MN‰), nossos resultados foram expressos em porcentagem, pois nem todas as lâminas analisadas contavam com 1.000 células observadas. Comparando as três localidades com a média de eritrócitos micronucleados (MN%), resultou que o ponto de Suape teve maior registro de macrolesões, seguido de Carneiros e Atapuz. Podendo observar também que o ano de 2022 teve um destaque no mês de maio (Figura 5).

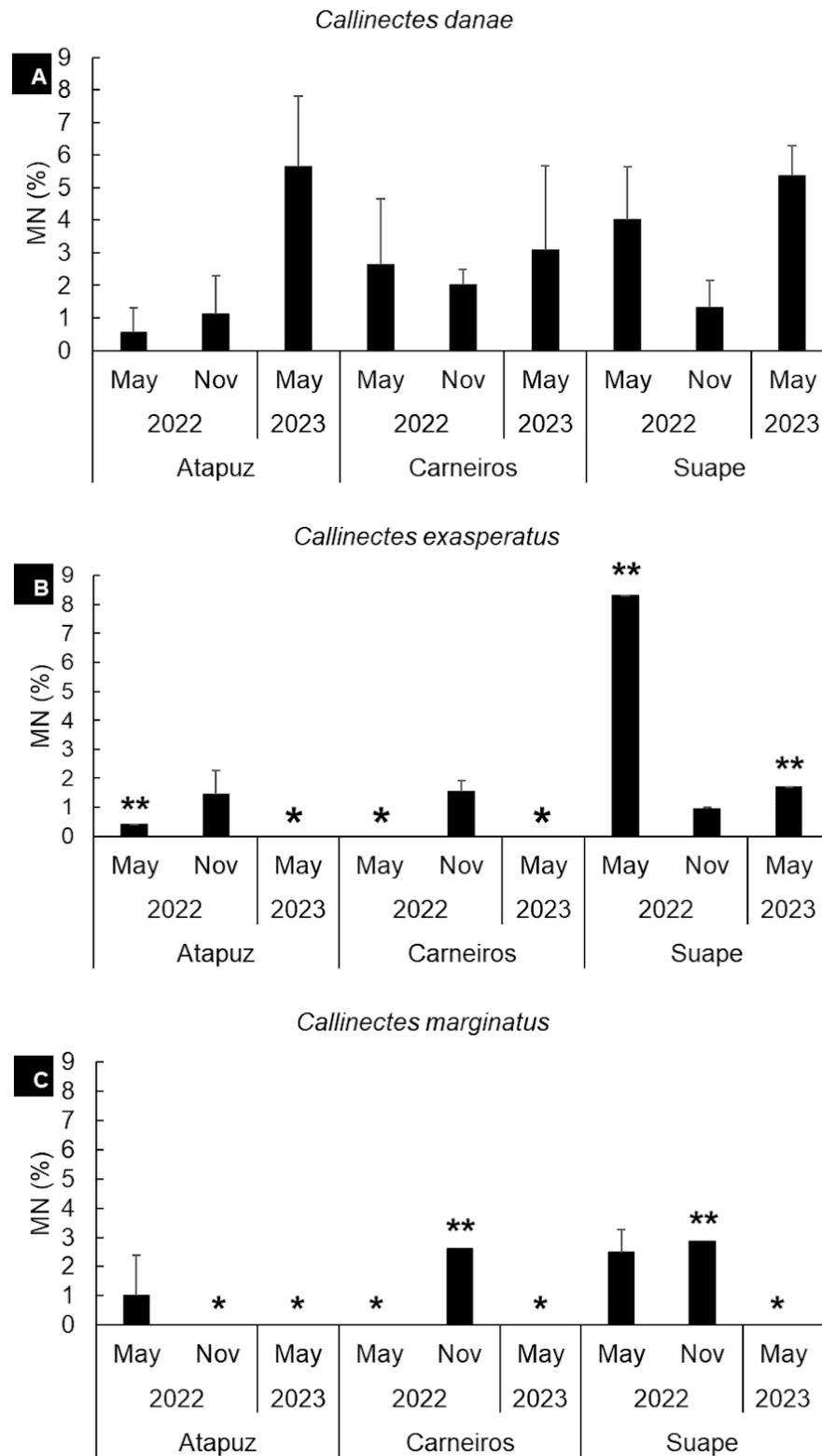
Figura 5. Média de eritrócitos micronucleados (MN %) entre os três estuários estudados, no ano de 2022 nos meses de maio e novembro, e em maio de 2023.



Fonte: A autora (2024)

Para *C. danae* (Figura 6A), os valores de eritrócitos micronucleados (MN%) em Atapuz variaram entre 0,00% e 8,40%, com uma média de 2,74% ($\pm 2,86\%$). Em Suape, os valores oscilaram de 0,75% a 9,80%, e valor médio de 3,94% ($\pm 2,60\%$), enquanto em Carneiros a variação foi de 0,40% a 5,50%, e média de 2,48% ($\pm 1,34\%$). Podendo observar que no ano de 2022 seu percentual de eritrócitos micronucleados foram maiores no mês de maio, em Suape e Carneiros, sendo mais alta no mês de novembro, no estuário de Carneiros. No ano de 2023, foi observado a maior incidência de micronúcleos em Atapuz, seguido de Suape e Carneiros (Figura 6A).

Figura 6. Percentual de eritrócitos micronucleados (MN%) entre as três espécies, *Callinectes danae* (A); *Callinectes exasperatus* (B); *Callinectes marginatus* (C). **representa apenas um indivíduo coletado; *representa zero indivíduos.



Fonte: A autora (2024)

Callinectes exasperatus não foi capturado no estuário de Atapuz e Carneiros em 2023, assim como no mês de maio de 2022, também em Carneiros. Em Suape, a espécie foi coletada nas três coletas realizadas. Para *C. exasperatus* o índice maior de macrolesões ao seu DNA foi no estuário de Suape, no mês de maio de 2022 (Figura 6B). *C. exasperatus*, em Atapuz, apresentou os valores de MN% entre 0,40% e 2,40% com média de 1,18% ($\pm 0,86\%$); em Suape, foi de 0,50% a 8,30% e valor médio de 2,56% ($\pm 3,24\%$); e em Carneiros, de 1,50% a 1,60% com média de 1,55% ($\pm 0,07\%$).

Callinectes marginatus também foi pouco encontrado durante as coletas do estudo, estando presente apenas no mês de maio de 2022 em Atapuz, em novembro de 2022 em Carneiros e nos meses de maio e novembro de 2022 em Suape, não sendo capturado durante as coletas de 2023. Seu maior percentual foi em novembro, em Suape e Carneiros. Sua frequência de eritrócitos em Atapuz variou de 0,20% a 2,60% com média de 1,00% ($\pm 1,39\%$), em Suape, de 1,70% a 3,60% e valor médio de 2,55% ($\pm 0,72\%$). Em Carneiros, devido ao pequeno número de amostras ($N < 2$), não foi possível calcular a média e o desvio padrão, sendo o valor de MN% registrado de 2,60% (Figura 6C).

4. DISCUSSÃO

Ecossistemas como o manguezal são como pontos de acesso para contaminantes, atuando como um depósito de compostos químicos (Alongi, 2002). Suas características como substrato lamoso e baixa oxigenação podem prolongar a permanência desses compostos no ambiente, tornando-os biodisponíveis e potencialmente mais prejudiciais para animais forrageiros (Bayen, 2012), como os siris do gênero *Callinectes*. Fatores como alimentação, estilo de vida, e distribuição no estuário podem influenciar no tamanho do impacto sob as espécies (Pinheiro et al., 2021). Neste estudo, investigamos a ingestão de óleo por siris do gênero *Callinectes*, em que 45,95% deles continham fragmentos identificados como óleo, os quais foram associados a danos genômicos.

As bandas espectrais registradas (120 a 274 cm^{-1} e entre 690 e 875 cm^{-1}), descritas no estudo de Lira et al. (2021) em poliquetas *Branchiosyllis*, refletem características químicas específicas do petróleo derramado em 2019, como as vibrações moleculares de cadeias carbônicas e compostos orgânicos apolares. Esses parâmetros químicos foram essenciais para identificar o óleo como contaminante no presente estudo, confirmando sua presença nos estômagos de *Callinectes*. A ingestão desse material pelos crustáceos demonstra a extensão do impacto ambiental causado pelo derramamento, com implicações diretas para a saúde dos organismos marinhos e a cadeia alimentar da região.

A entrada de HPAs nos ambientes costeiros pode ocorrer por várias vias, resultando em sua acumulação em diferentes órgãos de diversos animais marinhos, como no fígado de peixes, no hepatopâncreas ou na glândula digestiva de crustáceos, incluindo espécies do gênero *Callinectes*, anelídeos e moluscos, bem como em diversos órgãos dos mamíferos (Sette, 2010). Os prejuízos à saúde causados pelos HPAs geralmente advém da ingestão crônica de pequenas quantidades ao longo do tempo (Upshall et al., 1992; Heath et al., 1993; Rice et al., 2000). Orós et al. (2005) observaram lesões esofágicas em tartarugas marinhas após a ingestão de petróleo bruto. Outros animais marinhos também já tiveram lesões registradas após ingestão, como peixes (Delunardo et al., 2015) e moluscos (Martinović et al., 2015), além também, de algumas espécies de Porifera e Cnidária (Cerqueira et al., 2020). No presente estudo, as espécies de *Callinectes* não apresentaram lesões morfológicas após a ingestão do petróleo, mas sim lesões ao seu DNA.

Embora lesões no trato digestivo de crustáceos ainda não tenham sido documentadas, pesquisas indicam que esses animais podem absorver hidrocarbonetos tanto da água quanto dos alimentos (Lee, 1975; Corner et al., 1976). Nos caranguejos, esses compostos são hidroxilados, conjugados e depois excretados (Corner et al., 1973). Lee & Neuhauser (1976) mostraram que *Callinectes sapidus* possui a capacidade de metabolizar hidrocarbonetos provenientes da água ou dos alimentos contaminados. Nos primeiros dois dias do seu experimento, o material fecal excretado pelos siris eram ricos em hidrocarbonetos (cerca de 20 a 50% do total ingerido), o que sugere que uma grande parte dos compostos passa diretamente pelo trato intestinal. O único órgão do *C. sapidus* onde houve acúmulo significativo de hidrocarbonetos foi o hepatopâncreas (Lee & Neuhauser, 1976).

Pesquisas que avaliaram a exposição do óleo sobre a espécie *Callinectes sapidus* focaram nos estágios larvais, pós-larvais e embrionários (Lee, Ryan & Neuhauser, 1976; Pearson et al., 1981; Wang & Stickle, 1988; Alloy et al., 2015; Giltz & Taylor, 2017; Chiasson & Taylor, 2017; Kelly & Taylor, 2018). Esses estudos indicaram alguns efeitos subletais, como crescimento atrofiado ou anomalias morfológicas, mas não evidenciaram um aumento na mortalidade nem uma diminuição no tamanho da população como consequência da exposição. Assim como, não há nenhum estudo que tenha registrado a exposição ou a ingestão de óleo nas espécies modelo deste estudo.

As alterações ambientais podem causar danos ao material genético dos organismos, e a quantificação desses danos são um indicativo eficiente de perturbações no ambiente (Gonzalez-Hunt et al., 2018). A frequência média de eritrócitos portadores de micronúcleos (MN%)

encontrados em todas as localidades deste estudo são consideravelmente maiores, respeitando a ordem de magnitude, do que os encontrados em outros estudos com *Brachyura*, *Ucides cordatus*, caranguejo de mangue, apresentou uma média < 2 MN‰ no estado de São Paulo, litoral sudeste do Brasil (Duarte et al., 2016; Pinheiro et al., 2013). Pinheiro et al. (2021), relatou os resultados para *Goniopsis cruentata*, *U. cordatus* e *Aratus pisoni*, no estuário de Juréia, os valores de 1,7 MN‰, 1,3 MN‰, e 0,9 MN‰, respectivamente. Localizada no Rio Una, a Estação Ecológica Juréia-Itatins, é uma unidade de conservação no litoral centro-sul de São Paulo, Sudeste do Brasil, que faz parte de um Mosaico de UCs e apresenta baixa contaminação (Lino & Albuquerque, 2007), por esse motivo geralmente é utilizada como área controle em trabalhos que analisam danos genotóxicos. Consequentemente, os animais que vivem nesta região, historicamente, apresentam valores baixos de macrolesões no DNA (MN‰) se comparado a outras áreas que sofrem mais impactos antrópicos.

Falcão et al. (2020) conduziu um estudo em cinco áreas estuarinas do Estado de Pernambuco durante 2012 e 2013 (Goiana (GOI); Jaguaribe (JAG); Capibaribe (CAP); Sirinhaém (SIR) e Formoso (FOR)) o que coincide com dois pontos deste presente trabalho. Ponto Carneiros localizado próximo à Praia da Pedra, em torno do Rio Formoso, e o estuário de Atapuz localizado em Barra de Catuama, próximo aos Rios Goiana e Jaguaribe. Apenas Suape se tornando um ponto distante. As maiores médias apresentadas por Falcão et al. (2020) foram registradas em GOI, SIR e FOR ($4,10 \pm 0,65$ MN‰; $3,50 \pm 0,82$ MN‰; $2,66 \pm 0,55$ MN‰, respectivamente). Para o caranguejo *Cardisoma guanhumi*, no período de inverno a maior média foi em Goiana, com 4,1 MN‰, e seu valor de base foi por volta de 0,2 MN‰, em Juréia (Falcão et al., 2020). O que coincide com os maiores valores deste estudo, para as localidades. Em que para Atapuz houve a maior frequência de MN‰, seguido de Suape e Carneiros. No entanto, os valores observados aqui são praticamente o dobro dos reportados para *C. guanhumi*, possivelmente devido à diferença de 12 anos entre os estudos e à influência do derramamento de óleo, e pelo fato de que durante sua vida adulta o *C. guanhumi* tem uma capacidade de dispersão geográfica reduzida, preferindo suas tocas ao longo da sua vida (Forsee & Albrecht, 2012), diferentemente dos *Callinectes*, que possuem maior interação com áreas mais expostas a variação de maré e contato direto com a água, que também pode ser fonte de contaminação.

A magnitude do impacto sobre as espécies pode variar conforme fatores como alimentação, estilo de vida e a localização das espécies no estuário (Pinheiro et al., 2021). No caso das espécies do gênero *Callinectes*, a presença em estuários é influenciada por variáveis como temperatura (Attrill et al., 1999), tolerância salina (Norse, 1978) e interações intraespecíficas e interespecíficas entre espécies congêneres (Buchanan & Stoner, 1988). No

estudo de Carvalho & Couto (2010), concluiu-se que *C. danae* foi o mais dominante na maioria dos níveis de salinidade, exceto entre 33 e 37, e ocorreu em todas as estações estudada, frequentemente próximo às regiões centrais das variáveis vetoriais. *C. exasperatus* tem menor participação com o aumento da salinidade, esta espécie é mais comum em áreas com menor salinidade, transparência e profundidade, e é registrada em regiões mais próximas da margem. *C. marginatus* não é registrado em níveis de salinidade entre 13 e 17, sendo mais frequente em áreas com valores intermediários de salinidade e profundidade. Esta espécie mostra uma clara relação negativa com a distância da margem. Fêmeas adultas das três espécies tendem a ocorrer em áreas estuarinas externas com maiores salinidades, transparências e profundidades. Essa distribuição apresentada por Carvalho & Couto (2010), já foram relatadas em estudos anteriores (Mansur, 1997; Pita et al., 1985; Branco & LunardonBranco, 1993; Negreiros-Fransozo & Fransozo, 1995; Pereira et al., 2009). A tendência das fêmeas, especialmente as ovígeras, de preferirem regiões estuarinas externas pode estar associada à migração em busca de águas com maior salinidade, que oferecem condições mais adequadas para a desova e o subsequente desenvolvimento das fases larvais (Branco & Masunari, 2000; Mantelatto, 2000).

Essas variações da localização das espécies dentro do estuário, implica na possível ingestão de óleo. Pois, após um derramamento de óleo, processos físicos, químicos e biológicos transformam o óleo em pequenas gotículas (1–100 µm) que permanecem suspensas na água, facilitando sua dispersão (Almeda et al., 2014). A concentração de óleo e o tamanho das gotículas são cruciais para entender a sua dispersão, a absorção por organismos marinhos e a sedimentação no fundo do mar (Delvigne & Sweeney, 1988; Mukherjee & Wrenn, 2009). A espécie *C. danae* por ser mais tolerante a diferentes níveis de salinidade (Masui et al., 2003), transita mais ao longo do estuário, o que explica sua dominância para este estudo, e conseqüentemente, seus níveis maiores de macrolesões, nos três estuários estudados por estar mais próxima entre a zona de transição, e dessa forma, recebendo maior influência marinha. Já a espécie *C. exasperatus* por apresentar preferência a áreas menos salinas (Carvalho & Couto, 2010), ficando mais próxima às margens do estuário, não foi capturada em todas as coletas realizadas, o que pode explicar os menores índices de danos genéticos nessa espécie (figura 6). Isto também foi observado para *C. marginatus*, que é uma espécie mais frequente em áreas com valores intermediários de salinidade e profundidade (Carvalho & Couto, 2010). As áreas estuarinas mais internas podem fornecer abrigo contra predadores (Attrill et al., 1999), e possivelmente uma proteção contra o contato com contaminantes. Estudos com peixes apresentaram médias de células micronucleadas significativamente maiores em locais poluídos em comparação com locais limpos (Adam et al., 2010; Arslan et al., 2015). Esse padrão também

foi observado em caranguejos-uçá em estuários de São Paulo e Rio de Janeiro (Nudi et al., 2007; Duarte et al., 2016).

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo confirmam que as espécies *C. danae*, *C. exasperatus* e *C. marginatus* ingeriram partículas de óleo in situ, revelando informações cruciais para a investigação dos efeitos de contaminantes marinhos sobre esses organismos, e sobre o ecossistema em que vivem, já que atuam como bioindicadores. Além disso, verificou-se que o óleo derramado em 2019 não apresentou correlação direta com os fragmentos de óleo ingeridos pelos siris. Em vez disso, a presença de "tar balls" ressurgidos em 2022, estão aparentemente mais associados a esse fenômeno. Este dado sugere que os efeitos do derramamento podem se manifestar de maneiras mais complexas e em diferentes escalas temporais. Os *Callinectes* apresentaram uma elevada percentagem de incidência de células micronucleadas, quando comparado a outras espécies. Isso destaca a vulnerabilidade dos siris às contaminações ambientais e sugere a necessidade de mais estudos sobre o impacto a longo prazo. Por fim, as macrolesões observadas nos siris indicam que a manifestação de danos genômicos podem levar tempo para se tornar evidente nos animais, o que pode ser explicado pelo processo de fragmentação e dispersão do óleo bruto ao chegar à costa. Este fator ressalta a importância de monitoramentos contínuos após eventos de derramamento de óleo, para entender plenamente os impactos a longo prazo sobre a fauna marinha.

6. REFERÊNCIAS

- ADAM, M. L. et al. Environmental degradation at a public park in southern Brazil as revealed through a genotoxicity test (MN) on peripheral blood cells from *Poecilia vivipara* (Teleostei). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 211, p. 61-68, 2010.
- ALLOY, M. M.; BOUBE, I.; GRIFFITT, R. J.; ORIS, J. T.; ROBERTS, A. P. Photo-induced toxicity of Deepwater Horizon slick oil to blue crab (*Callinectes sapidus*) larvae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 9, p. 2061-2066, 2015. DOI: 10.1002/etc.3026.
- ALMEDA, R.; BACA, S.; HYATT, C.; BUSKEY, E. J. Ingestion and sublethal effects of physically and chemically dispersed crude oil on marine planktonic copepods. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 988-1003, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1242-6>.
- ALONGI, D. M. Present state and future of the world's mangrove forests. **Environmental Conservation**, v. 29, n. 3, p. 331-349, 2002.
- ANDRADE, L. S.; ANTUNES, M.; LIMA, P. A.; FURLAN, M.; FRAMESCHI, I. F.; FRANSOZO, A. Reproductive features of the swimming crab *Callinectes danae* (Crustacea, Portunoidea) on the subtropical coast of Brazil: a sampling outside the estuary. **Journal of Crustacean Biology**, 2015.
- ATTRILL, M. J.; POWER, M.; THOMAS, R. M. Modelling estuarine Crustacea population fluctuations in response to physical–chemical trends. **Marine Ecology Progress Series**, v. 178, p. 89-99, 1999.
- BARRETO, A. V.; LEITE, L. M. A. B.; AGUIAR, M. C. A. Sexual maturity of female *Callinectes danae* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) in the estuaries of Botafogo and Carrapicho rivers, Itamaracá-PE, Brazil. **Iheringia Série Zoologia**, v. 96, p. 141-146, 2006.
- BAYEN, S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. **Environment International**, v. 48, p. 84-101, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.07.008>.

BELPAEME, K.; COOREMAN, K.; KIRSH-VOLDERS, M. Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 415, p. 167-184, 1998.

BOLOGNESI, C.; CIRILLO, S. Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. **Current Zoology**, v. 60, n. 2, p. 273-284, 2014.

BONASSI, S. et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 3, p. 625-631, 2007.

BRANCO, J. O. & LUNARDON-BRANCO, M. J. Crescimento e tamanho de primeira maturação em *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) da região de Matinhos, Paraná, Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 36(3): 497-503, 1993.

BRANCO, J. O. & MASUNARI, S. Reproductive ecology of the blue crab, *Callinectes danae* Smith, 1869 in the Conceição Lagoon system, Santa Catarina Isle, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 60, 17–27, 2000.

BRANCO, J. O. Ecological aspects of Brachyura (Crustacea: Decapoda) in the Itacorubi mangrove, SC - Brazil. **Brazilian Journal of Zoology** [Internet], v. 7, n. 1-2, p. 165-179, 1990. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751990000200016>.

BRANCO, J. O.; FRACASSO, H. A. A. Population biology of *Callinectes ornatus* (Ordway) in the Itapocoroy arm, Penha, Santa Catarina, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 1, p. 91-96, 2004.

BRANCO, J. O.; VERANI, J. R. Dynamics of the natural feeding of *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) in Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 14, n. 4, p. 1003-1018, 1997.

BRIANEZI, G.; CAMARGO, J. L. V.; MIOT, H. A. Development and validation of a quantitative image analysis technique for evaluating the silver-stained comet assay. **Journal of Brazilian Pathology and Laboratory Medicine**, v. 45, n. 4, p. 325-334, 2009.

BUCHANAN, B. A.; STONER, A. W. Distributional patterns of blue crab (*Callinectes* sp.) in a tropical estuarine lagoon. **Estuaries**, v. 11, p. 231-239, 1988.

CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Polycyclic aromatic hydrocarbons - benzo(a)pyrene: a review. **Journal of the Adolfo Lutz Institute**, v. 67, n. 1, p. 1-27, 2008.

CERQUEIRA, W. R. P. et al. Record of oil in poriferans and cnidarians during the acute impact of the spill in Northeast Brazil in 2019. **Scientia Plena**, v. 16, n. 8, 2020.

CHACUR, M. M.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. Spatial and seasonal distributions of *Callinectes danae* (Decapoda, Portunidae) in Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 21, p. 414-425, 2001.

CHIASOON, S. C.; TAYLOR, C. M. Effects of crude oil and oil/dispersant mixture on growth and expression of vitellogenin and heat shock protein 90 in blue crab, *Callinectes sapidus*, juveniles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 119, n. 2, p. 128-132, 2017. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.04.048.

CORNER, E. D. S.; HARRIS, R. P.; KILVINGTON, C. C.; O'HARA, S. C. M. Petroleum compounds in the marine food web: short-term experiments on the fate of naphthalene in *Calanus*. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 56, p. 121-133, 1976.

COTELLE, S.; FÉRARD, J. F. Comet assay in genetic ecotoxicology: a review. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 34, p. 246-255, 1999.

CUESTA, J. A.; DRAKE, P.; ARIAS, A. M. First record of the blue crab *Callinectes exasperatus* (Decapoda, Brachyura, Portunidae) for European waters. **Marine Biodiversity Records**, v. 8, e36, 2015.

DELUNARDO, et al. Seahorse (*Hippocampus reidi*) as a bioindicator of crude oil exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 117, p. 28-33, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.016>.

DUARTE, I. D. et al. Water quality of Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brazil) regarding genotoxic and mutagenic aspects, measured respectively by the comet assay and micronucleus test in *Oreochromis niloticus* fish. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 211, 2012. <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/115591>.

DUARTE, L. F. D. A et al. Multilevel biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western Atlantic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 176-187, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.018>.

EICHLER, P. P. B.; EICHLER, B. B.; PIMENTA, F. M.; PEREIRA, E. R. M.; VITAL, H. Evaluation of environmental and ecological effects due to the accident in an oil pipe from Petrobras in Guanabara Bay, RJ, Brazil. **Open Journal of Marine Science**, v. 4, p. 298-315, 2014.

FALCÃO, C. B. R.; PINHEIRO, M. A. A.; TORRES, R. A.; ADAM, M. L. Spatial temporal genome damaging in the blue crab *Cardisoma guanhumi* as ecological indicators for monitoring tropical estuaries. **Marine Pollution Bulletin**, v. 156, p. 111232, 2020.

FENECH, M. Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 8, p. 1113-1117, 2002.

FENECH, M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. **Mutation Research**, v. 392, p. 11-15, 1997.

FORSEE, R. A. & ALBRECHT, M. Population estimation and site fidelity of the land crab *Cardisoma guanhumi* (Decapoda: Brachyura: Gecarcinidae) on Vieques Island, Puerto Rico. **Journal of Crustacean Biology**, v. 32, n. 3, p. 435-442, 2012. <https://doi.org/10.1163/193724012X626467>

FRANCO, R. A.; AGUIAR, M. C.; COSTA, S. L. Effects of heavy metal contamination on the physiology of *Callinectes exasperatus* (Crustacea: Portunidae) in Brazilian mangroves. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 12, p. 689, 2018. DOI: 10.1007/s10661-018-7113-2.

FRANCO, R.; LIMA, A. B.; VILHENA, M. A. A.; KERSTEN, L. B. The impact of oil spill on *Callinectes danae* populations: a study on the effects of pollution on aquatic organisms. **Marine Environmental Research**, v. 120, p. 165-176, 2016.

HICKSON, R. E.; O'REILLY, M.; SUTTON, C. M. Impacts of oil spills on marine invertebrates: short-term and long-term responses. **Marine Pollution Bulletin**, v. 55, p. 598-609, 2007.

HOFFMAN, D. J.; EASTIN, R. E.; HOSKINS, K. M. Effects of oil on marine invertebrates: A case study on the blue crab *Callinectes sapidus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, p. 1185-1191, 1996.

LI, H., BOUFADEL, M. C. Long-term persistence of oil from the Exxon Valdez spill in two-layer beaches. **Nature Geoscience**, 3, 96–99, 2010. <https://doi.org/10.1038/ngeo749>

LOISELLE, R. A.; JARVIS, E. T.; HALL, R. M.; FRANCO, R. J. Effects of oil contamination on crustaceans in estuarine environments: laboratory and field studies. **Aquatic Toxicology**, v. 30, p. 173-185, 1994.

MANSUR, C. B. Distribuição ecológica do gênero *Callinectes* Stimpson, 1860 (Crustacea, Portunidae) no estuário do Rio Acaraú, Enseada de Ubatuba (SP). Master's dissertation. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil, 1997.

MANTELATTO, F. L. M. & FRANSOZO, A. Reproductive biology and moulting cycle of the crab *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from Ubatuba region, São Paulo, Brazil. **Crustaceana**, 72, 63–76, 1999.

MANTELATTO, F. L. M. Allocation of the Portunidae crab *Callinectes ornatus* (Decapoda, Brachyura) in Ubatuba Bay, northern coast of São Paulo State, Brazil. **Crustaceana**, 12, 431–443, 2000.

MARQUES, S. L.; FERREIRA, M. S.; TAVARES, M. S.; FERRAZ, S. R. L. Effects of oil pollution on *Callinectes danae* larvae and juvenile stages in Brazilian estuaries. **Journal of Environmental Management**, v. 114, p. 109-120, 2013.

NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. & FRANSOZO, A. On the distribution of *Callinectes ornatus* Ordway, 1963 and *Callinectes danae* Smith, 1869 (Brachyura, Portunidae) in the Fortaleza Bay, Ubatuba, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, 79, 13–25, 1995.

NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. et al. Distribution and abundance of *Callinectes danae* in the mangroves of southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 19, n. 4, p. 726-734, 1999.

PEREIRA, M. J. et al., Population biology of *Callinectes danae* and *Callinectes sapidus* (Crustacea: Brachyura: Portunidae) in the south-western Atlantic. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 89, 1341–1351, 2009.

PINHEIRO, M. A.; ANTONINI, G.; PEREIRA, M. R. Population structure and reproduction of *Callinectes marginatus* (Decapoda: Portunidae) in an estuary in southeastern Brazil. **Crustacean**, v. 87, n. 5, p. 621-634, 2014.

PITA, J. B., SEVERINO-RODRIGUES, E., GRACA-LOPES, R. & COELHO, J. A. P. Levantamento da família Portunidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura) no complexo baía-estuário de Santos, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, 12, 153–162, 1985.

RODRIGUES, F. C.; SILVA, A. B.; VILA, P. D. Impact of oil spills on marine crab populations in Brazilian coastal zones: A review. **Science of the Total Environment**, v. 572, p. 1147-1157, 2016.

ROY, J. W. & FOWLIE, P. J. Heavy hydrocarbon fate and transport in the environment. **Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology**, 45(1), 37-49, 2012. doi: 10.1144/qjegh2011-037

SANTOS, R. J.; TORRES, R. A.; FALCÃO, C. B. R. The use of *Callinectes exasperatus* as bioindicator of oil contamination in tropical marine environments. **Environmental Pollution**, v. 191, p. 229-236, 2014.

SANTOS, T. F.; SILVA, J. M.; BRAGA, P. A.; DOLABELA, A. D.; COSTA, M. J. Effects of oil exposure on the reproductive health of *Callinectes danae* (Smith). **Ecotoxicology**, v. 22, p. 165-174, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-012-1036-x>.

SERRANO, J. A.; SOARES, A. M. V. M. Development of the micronucleus assay in marine crustaceans: its application in environmental monitoring. **Marine Environmental Research**, v. 64, p. 362-368, 2007.

SIMÕES, S. B.; TAVARES, M. A.; PEREIRA, S. S. Analysis of genetic damage in aquatic organisms due to environmental pollutants. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 656, p. 13-24, 2008.

SOUSA, J. S. et al. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove crabs: a case study of *Callinectes danae*. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 16, p. 5968-5974, 2010.

SZEWCZYK, S. B. O. Processos envolvidos em um derramamento de óleo no mar (**Dissertação de Mestrado**). Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, 2006.

TAVARES, M. A.; BROWN, J. C. Effects of pollution on the reproduction and development of *Callinectes danae* in estuarine environments. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 99-107, 2006.

TAVARES, M. S.; CARMO, A. S. E. Analysis of the population dynamics and habitat preferences of *Callinectes exasperatus* in Brazilian mangroves. **Marine Biology Research**, v. 8, p. 237-249, 2012.

TAVARES, M. S.; SANTOS, C. A.; FERREIRA, R. M.; LEITE, F. R. Monitoring environmental impacts of oil spills on mangrove ecosystems using *Callinectes danae* as a bioindicator. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 103-110, 2013.

VIEIRA, T. J.; AGUIAR, M. C. A.; FRANCO, R. R.; COSTA, T. F. Ecological and genetic responses of *Callinectes danae* to environmental changes in tropical estuaries. **Journal of Marine Systems**, v. 148, p. 37-47, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2015.01.003>.

WATKINS, B. J.; MONTGOMERY, J. L.; SHAW, M. H. The effects of oil exposure on the health of *Callinectes sapidus* (Blue Crab). **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 35, n. 8, p. 1297-1308, 2000.

WILLIAMS, A. B. Methods for analysis of natural diet in portunid crabs (Crustacea: Decapoda: Portunidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 52 (1), p. 103-113, 1981.

WILLIAMS, A. B. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda: Portunidae). **Fishery Bulletin**, 72, 685–798, 1974.

ZANG, H. et al. The comet assay in environmental genotoxicity studies: a review of recent developments. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 62, n. 7, p. 535-558, 2021.

5. ARTIGO II – GENOTOXICIDADE E ALIMENTAÇÃO DOS SIRIS *Callinectes* spp. EM ÁREAS AFETADAS POR DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO, NO LITORAL DE PERNAMBUCO, BRASIL

Resumo

A presença de petróleo em ambientes marinhos podem causar complicações a espécies marinhas, comunidades ribeirinhas e ao bioma. Esta pesquisa teve como objetivo analisar a alimentação dos siris *Callinectes* spp. Stimpson 1816 coletados em três estuários no litoral pernambucano, estes atingidos pelo derramamento de petróleo ocorrido em 2019 e ocorrente ressurgimento em 2022. Foram realizadas coletas nos anos de 2020 a 2023 nos estuários de: Atapuz, Carneiros e Suape e 173 siris do gênero *Callinectes* foram coletados somada as três localidades. Em laboratório, após identificação, pesagem e medição, as análises do conteúdo estomacal permitiram a identificação dos itens alimentares e a verificação da presença de fragmento oleoso no indivíduo, também foi realizado o ensaio cometa para a identificação de microlesões (ID) em seu DNA, e análises de HPAs presente nos sedimentos. Os resultados apontaram Crustacea, Mollusca, Algas, Porifera, Peixes e Insecta como itens alimentares encontrados nos siris, com porcentagens significativas para Mollusca, Crustacea e Sedimentos como itens mais encontrados nos siris, tal como, foram identificados fragmentos oleosos no conteúdo estomacal desses indivíduos. Os siris de todas as localidades estudadas tinham petróleo como item alimentar, sendo Carneiros o estuário com redução significativa da presença de óleo no conteúdo estomacal dos siris com o avanço dos anos. Entretanto, os maiores índices de danos foram identificados nos indivíduos coletados no estuário de Carneiros (nov/2022 e mai/2023) e em Suape (nov/2022). Os estuários de Atapuz, Carneiros e Suape foram atingidos pela presença de petróleo e os animais presentes tiveram contato com esse conteúdo e pode atingir diretamente a economia local.

Palavra-chave: Dieta alimentar; Ensaio cometa; Manguezais; HPAs.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da exploração e da necessidade por produtos à base de petróleo nas últimas décadas resultou no crescimento da poluição em ambientes marinhos, visto que a rota marítima é a principal para o transporte de óleo no Brasil (Tournadre, 2014; Pie & Mitchelmore, 2015). É sabido que a produção do petróleo e gás natural são essenciais para o fornecimento mundial de energia, entretanto sua integração aos ecossistemas representa alto risco para o meio ambiente e saúde pública (Soares et al., 2020a).

Durante meados de 2019 e 2020 foram encontradas em todo o litoral do nordeste brasileiro grandes quantidades de óleo, e mais de 1000 localidades foram afetadas, segundo dados do IBAMA (2020). Informações quanto a origem, quantidade de óleo liberado, como e quando ocorreu a contaminação não foram publicadas por empresas, entretanto, relatórios oficiais nacionais divulgaram que o petróleo bruto encontrado possuía características do petróleo venezuelano, porém não foram registrados acidentes nesse período (Lourenço et al., 2020).

Acidentes como os citados acima representam apenas uma fração do total. A maior forma de entrada de óleo no ambiente marítimo ocorre devido a vazamentos naturais e atividades humanas contínuas; como uso impróprio e descarte incorreto resultando no escoamento costeiro e fluvial (Sharma, 2024). Os impactos sobre a vida marinha são grandes, espécies entre invertebrados, tartarugas e mamíferos possuem alta vulnerabilidade ao petróleo e podem bioacumular os compostos e intensificar os efeitos ecológicos, e conseqüentemente sociais, causados pelo óleo (Neff et al., 2022; Magris, et al., 2020; Soares, et al., 2020b).

Os siris azuis, como são conhecidos, estão espalhados no continente americano e possuem aproximadamente 46 espécies de Portunidae, dessas 13 pertencem ao gênero *Callinectes* (Davie et al. 2015). Na extensão da costa brasileira podem ser encontradas: *Callinectes bocourti* A. Milne-Edwards, 1879, *Callinectes danae* Smith, 1869, *Callinectes exasperatus* (Gerstaecker, 1856), *Callinectes marginatus* A. Milne-Edwards, 1861, *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 e *Callinectes sapidus* Rathbun 1896 (Melo,1996).

Os siris pertencentes ao gênero *Callinectes* desempenham um importante papel ecológico além de ser fonte de subsistência para famílias ribeirinhas e que dependem da captura desses animais para obtenção de renda (Branco & Fracasso, 2004; Barreto, Leite & Aguiar, 2006). Segundo dados da FAO (2024), no ano de 2022 houve uma captura anual de mais de 1.600t para os crustáceos, afirmando sua importância econômica.

Os *Callinectes* são classificados como onívoros oportunistas e alimentam-se principalmente de macroinvertebrados bentônicos e apresentam preferência por moluscos, poliquetas, crustáceos e algumas opções de origem vegetal (Netto & Lana, 1994; Port; Fisch & Branco, 2016). Os padrões alimentares desses animais estão diretamente ligados ao padrão de distribuição, migração, ecdise e posição do animal na teia alimentar (McLaughlin & Hebard, 1961). Esses siris têm o ciclo de vida bifásico, os juvenis e adultos passam maior parte do tempo em estuários, no entanto, as fêmeas quando ovígeras movem-se para águas mais salinas para desovar. Nesse contexto, os siris *Callinectes* podem ser contaminados por óleo em ecossistemas diferentes, tanto em mar quanto em manguezais. Este gênero é importante para a manutenção ecológica e econômica em toda a costa atlântica (Chiasson, 2017; Pié & Mitchelmore, 2015).

O petróleo bruto é composto por centenas de hidrocarbonetos altamente tóxicos a saúde humana e ao meio ambiente, a fração mais tóxica desses hidrocarbonetos é conhecida como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e tipicamente representam 0,2 a 7% do petróleo bruto (NRC, 2003). Os hidrocarbonetos de petróleo podem acumular nos intestinos de crustáceos e outros organismos marinhos (Campelo et al., 2021; Lourenço et al. 2018). A ingestão de hidrocarbonetos por indivíduos marinhos já foi relatada por Kühn (2015), as consequências são diretas e pode ocorrer lesões internas e interferência na natação e flutuabilidade do animal (Nelms et al., 2016). Outro estudo demonstra que a exposição de caranguejos a hidrocarbonetos de petróleo causa estresse oxidativo e comprometimento do sistema endócrino (Vijayavel et al., 2004).

Avaliar os impactos causados por esses contaminantes na vida marinha é essencial para acompanhar os efeitos deletérios que essas substâncias causam nos organismos. O ensaio cometa é uma ferramenta utilizada para avaliar o potencial genotóxicos de compostos encontrados no ambiente (Augustyniak et al., 2014).

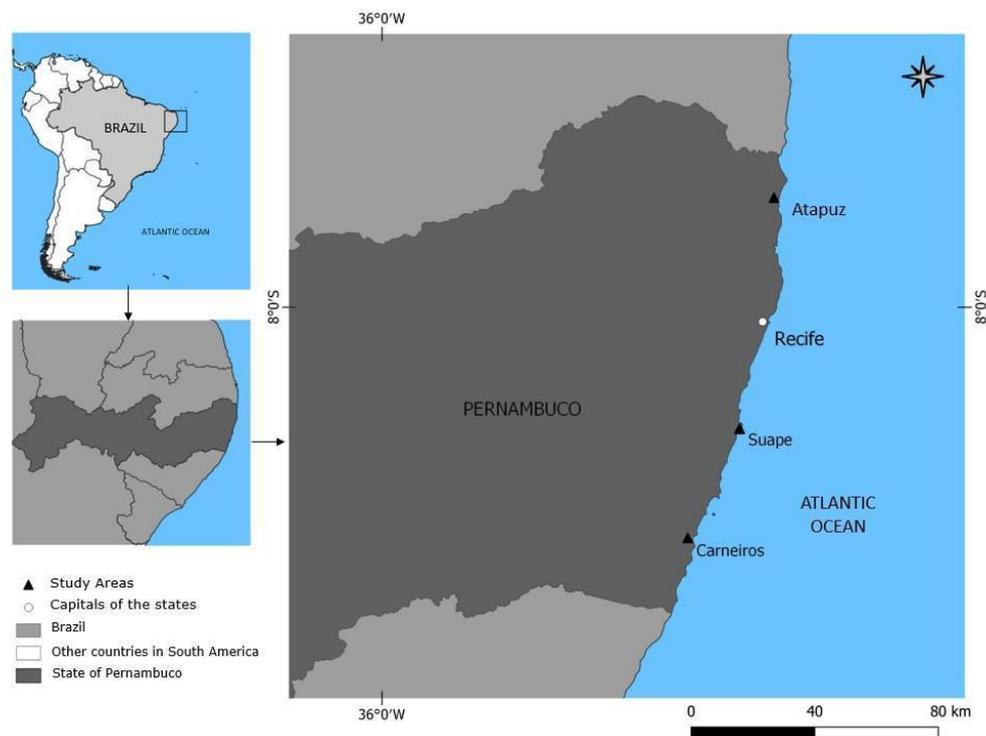
Mesmo com o avanço de estudos acerca do hábito alimentar de espécies brasileiras do gênero *Callinectes*, ainda é necessário analisar esses efeitos genotóxicos do óleo nos espécimes de diferentes regiões litorâneas, e em diferentes tempos de coletas. Nesse contexto, este trabalho objetivou analisar a dieta alimentar dos *Callinectes* spp. tal como analisar os efeitos genotóxicos da exposição ao óleo dessas espécies em três estuários no litoral de Pernambuco no período de 2020 a 2023.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de coleta

Os pontos de coleta escolhidos foram locais afetados pelo derramamento do óleo. As coletas foram realizadas nos meses de fevereiro e novembro de 2020, novembro de 2021, maio e novembro de 2022, e maio de 2023, nos estuários de Suape ($8^{\circ}21'32.18''\text{S } 34^{\circ}57'41.33''\text{O}$), Carneiros ($8^{\circ}40'54.79''\text{S } 35^{\circ}6'51.35''\text{O}$), localizados ao sul do estado e no estuário de Atapuz, Barra de Catuama ($7^{\circ}41'0.19''\text{S } 34^{\circ}50'48.00''\text{O}$) (Figura 1). Para a coleta e captura dos animais utilizou-se iscas e puçás. De forma aleatória foram coletados de 10 a 15 indivíduos do gênero *Callinectes* em cada um dos estuários. Após a coleta, os indivíduos foram acondicionados em um cooler e levados a um ponto de apoio para a punção da hemolinfa, logo em seguida transportados para o laboratório de Carcinologia localizado na Universidade Federal de Pernambuco para maiores coletas de dados.

Figura 1. Mapa de localização do estudo



Fonte: A autora (2024)

2.2 Procedimentos amostrais

Em laboratório os indivíduos coletados foram identificados segundo Williams (1984), contados, numerados, sexados e mensurados com o auxílio de um paquímetro digital com

precisão de 0,01mm. Foi realizada a medida da largura da carapaça (LC), essa corresponde à distância dos espinhos ântero-laterais. A sexagem dos animais foi feita com base na forma do pleon, o número de pleópodos e presença ou não de gonópodos. Os indivíduos foram pesados em balança analítica com precisão de 0,001g para a obtenção do peso úmido.

O estado de repleção (ER) estomacal foi classificado em três classes, segundo a quantidade de conteúdo, ou seja: 1 (25% cheio), 2 (50% cheio) e 3 (75-100% cheio) (Branco & Verani, 1997). Posteriormente, para remoção do trato digestivo foi realizado um corte dorsal margeando a carapaça com auxílio de uma tesoura e pinça (adaptado Carqueija & Gouvêa, 1998; Santana et al., 2022). Em seguida, o estômago foi pesado em balança analítica e armazenado em formalina 4% com o objetivo de conservação. O conteúdo estomacal foi removido com jatos de água e depositado em placa de Petri para análise em microscópio óptico e estereomicroscópio (Stevens, et al., 1982; Branco & Verani, 1997). Fragmentos encontrados que possuíam potencial a ser classificado como fragmento de óleo foram separados para posterior análise. Estômagos completamente vazios foram descartados.

2.3 Análises laboratoriais

2.3.1. Itens alimentares

Os itens alimentares foram identificados até o menor táxon possível. A frequência de ocorrência de cada item alimentar, foi determinado segundo Oliveira et al. (2006), além disso, o método de pontos foi aplicado a fim de descobrir o volume de cada item, expresso na forma percentual, em relação ao volume de todos os itens alimentares presentes nos estômagos conforme o proposto por Williams (1981). Durante as análises, foi determinada a contribuição percentual (%) de cada item em cada estômago, e atribuídos pontos a cada estágio de repleção estomacal (ER1 – 0,35 ponto; ER2 – 0,65 ponto; ER3 – 1 ponto). A contribuição e os pontos de cada estágio de repleção foram então multiplicados e agrupados conforme cada item.

Para melhorar a compreensão da importância real de cada item alimentar em diferentes condições de frequência de ocorrência e volume, utilizou-se o índice alimentar proposto por Kawakami & Vazzoler (1980), que combinou ambos os métodos. Esse índice foi calculado conforme a fórmula:

$$IA.i = FO.V / \sum_{ni=1} (FO.V)$$

onde IA_i corresponde ao índice alimentar do item i , FO à frequência de ocorrência (%) e V à contribuição relativa do volume (%) do item i .

2.3.2. Ensaio cometa

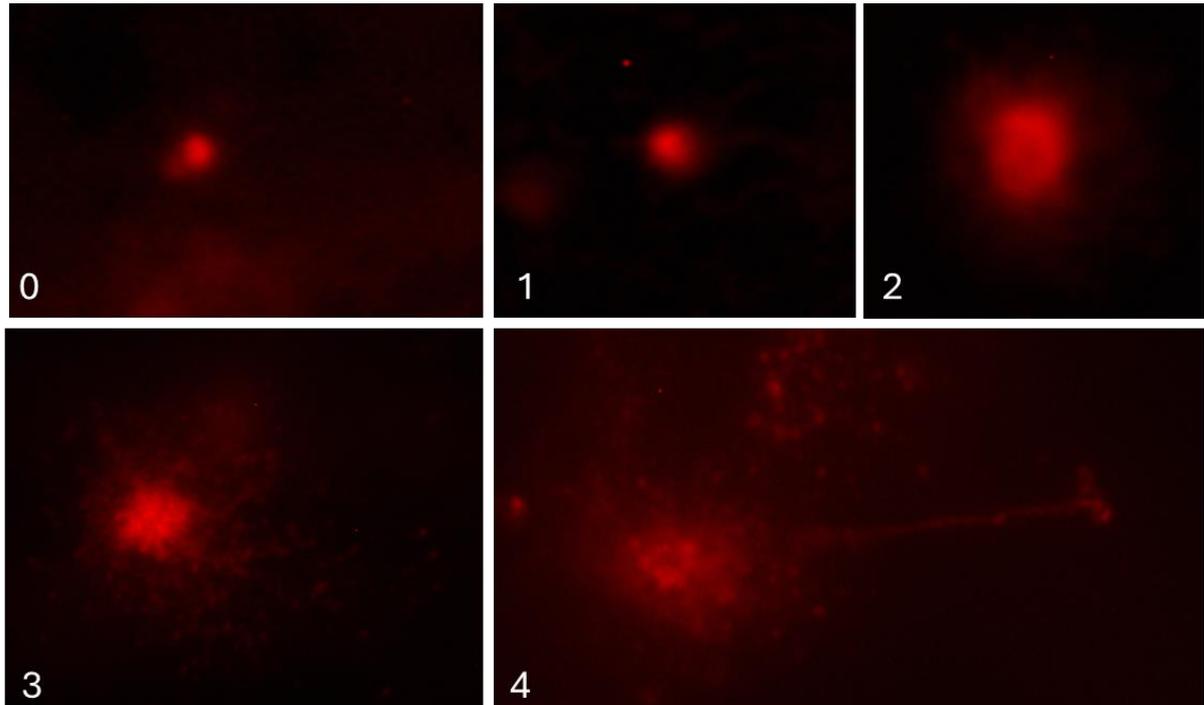
O ensaio cometa foi realizado conforme protocolo descrito por Singh et al. (1988). As lâminas foram lixadas previamente, lavadas com sabão neutro (extran 2%) e imersas em álcool, para enxágue e secagem rápida. Após, foram mergulhadas em solução padrão de agarose (70 °C) e secas em temperatura ambiente por 24 horas.

Em campo, foi colocado 0,5 ml do anticoagulante em uma seringa do tipo insulina (Scarpato et al., 1990; Pinheiro et al., 2013; Shields, 2017). Em seguida, foi realizada a punção, retirando pelo menos 1 ml da hemolinfa de cada espécime vivo, e depositado rapidamente em eppendorf individual coberto por papel alumínio para que se evitasse ao máximo o contato do material biológico com a luz branca.

Em laboratório, em um ambiente escuro, apenas com a luz vermelha exposta, para cada lâmina previamente identificada e cobertas por agarose, foi homogeneizado 15 µl da hemolinfa com 100 µl de gel de agarose LM (previamente posto em banho maria a 37° C) em eppendorf individuais. A mistura era depositada nas lâminas, coberta com lamínulas e mantidas na geladeira por 10 minutos, para que o gel se solidificasse. Depois disso, as lamínulas foram removidas e as lâminas submersas em uma cuba contendo solução de lise durante 24 horas. O próximo passo foi transferir as lâminas para a cuba de eletroforese, com solução tampão, com duração de 20 minutos para desassociar os dois filamentos da dupla hélice do DNA. Posteriormente, o tanque foi ajustado para uma tensão de 33V e 300 mA durante 20 minutos para que haja a corrida dos fragmentos de DNA em direção ao ânodo, formando a característica “cauda do cometa”.

Foram confeccionadas duas lâminas por espécime, essas foram coradas com corante GelRed® diluído em água ultrapura (1:100). A análise foi realizada em microscópio de epifluorescência (modelo Zeiss Axio Imager 2, com Software Axio Vision). Para cada siri foram contabilizadas 100 nucleóides utilizando a objetiva de 40x ou 100x com óleo de imersão. Para a análise de distribuição dos cometas e quantificação dos danos foi utilizada a classificação visual dos cometas (Bolognesi & Cirillo, 2014) classificados em 5 níveis, variando do nível 0 (zero) para célula não danificada até o nível 4 (quatro) para a célula mais danificada, respectivamente como demonstrado na Figura 2.

Figura 2. Classificação dos nucleóides de *Callinectes* de acordo com o grau de dano 0 - 4.



Fonte: A autora (2024)

Foi calculado o Índice de dano no DNA ID (ua) a partir da fórmula abaixo:

$$ID (ua) = (N1 + (2 \times N2) + (3 \times N3) + (4 \times N4) / S) \times 100$$

onde: ID (ua) = índice de dano no DNA; ua = unidade arbitrária; N1 - N4 = níveis dos nucleóides; S = número total de nucleóides analisados (Duarte et al., 2012).

2.4. Análise de HPAs

As amostras foram liofilizadas, maceradas e passadas em uma peneira granulométrica com malha de 500 µm. (Zanardi-Lamardo et al., 2019). Uma alíquota de aproximadamente 15g de sedimento foi pesada de cada amostra, e submetidas ao processo de extração em sistema soxhlet com 80 mL de diclorometano: n-hexano (1:1, v:v) por oito horas. Antes da extração, PAHs deuterados (acenafteno-d10, fenantreno-d10 e criseno-d12) foram adicionados como padrões internos (*surrogate*) a todas as amostras, incluindo branco e material de referência certificado em duplicata (SRM 1944 – New York/New Jersey Waterway Sediment). Os extratos orgânicos foram concentrados em rotaevaporador e submetidos à cromatografia de adsorção

em uma coluna contendo sílica gel e alumina (5% desativadas), sendo os HPAs eluídos com 15 mL de uma mistura de diclorometano e n-hexano (3:7, v/v). A identificação de PAHs foi realizada por cromatografia gasosa (Agilent Technologies, modelo 7820) acoplada à espectrometria de massa (Agilent Technologies, modelo 5975C).

Além disso, também foi feita a análise de uma amostra de óleo que foi dissolvida em diclorometano, sendo então separada da areia e de outras impurezas. A solução resultante foi diluída e ajustada em balão volumétrico para obter uma concentração final de 5 mg/mL. Foram adicionados padrões internos (acenafteno-D10, fenantreno-D10 e criseno-D12) ao extrato, que foi posteriormente injetado em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS) para a identificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

A identificação de HPAs foi baseada no tempo de retenção e quatro íons m/z principais selecionados para os 16 compostos estabelecidos como prioridade pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). As condições do método cromatográfico foram descritas em detalhes por Arruda-Santos et al. (2018). A recuperação média de analitos no SRM 1944 foi de $92,5 \pm 19,7\%$ dos valores certificados. A recuperação do *surrogates* variou entre 45 e 113%, situando-se dentro dos limites aceitáveis de acordo com Lauenstein e Cantillo (1998). O limite de quantificação (LQ) de cada HPA na caracterização do óleo foi de 0,20 $\mu\text{g/g}$. Os resultados nos sedimentos são relatados em uma base de peso seco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 173 indivíduos foi identificado ao longo da pesquisa (Tabela 1). Entre as espécies encontradas nos três estuários analisados (Atapuz, Carneiros e Suape), destacam-se *Callinectes danae*, *C. marginatus*, *C. exasperatus* e *C. ornatus*.

Tabela 1. Relação de indivíduos coletados durante os anos de 2020 a 2023.

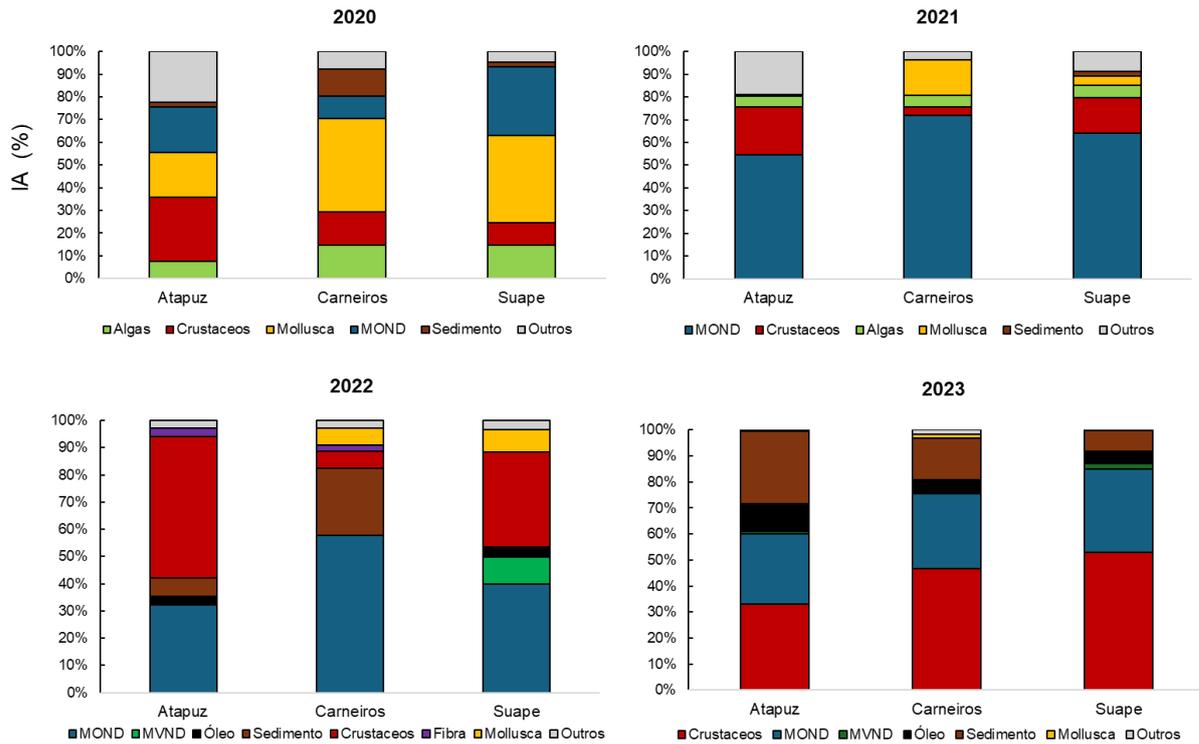
COLETAS	ATAPUZ	CARNEIROS	SUAPE
2020/FEB	14	14	15
2020/NOV	10	10	13
2021/NOV	08	03	12
2022/MAY	11	11	08
2022/NOV	09	07	09
2023/MAY	08	03	08
			TOTAL: 173

Fonte: A autora (2024)

Foi analisado o conteúdo estomacal dos indivíduos em decorrência dos anos (Figura 3). A dieta alimentar dos *Callinectes* mostrou-se diversificada, a qual apresentou os seguintes itens: Crustacea, Mollusca, Algas, Porifera, Peixes e Insecta. Estudos anteriores afirmam a importância de estudo do conteúdo estomacal do gênero e de acordo com os resultados a maioria das espécies são onívoras (Laughlin, 1982; Christofolletti, 2001; Ferreira et al. 2011; Chalegre et al., 2021), o que pode ser evidenciado nesse estudo.

Foi realizado o reconhecimento das presas até o nível de subfilo, com exceção do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803), que foi identificado a nível de espécie. A identificação a nível de espécie não se torna tão relevante quanto a identificação dos itens alimentares, neste estudo, a análise da dieta desses indivíduos é um instrumento importante para avaliar a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas. (Branco, 1996b; Krebs, 1989). Outros materiais também foram identificados, são: Sedimentos, Matéria orgânica não definida (MOND), Matéria vegetal não definida (MVND), Fibras (não identificadas), e Petróleo em seu conteúdo estomacal. Na Figura 3 estão representados os itens com maior índice alimentar (IA %) calculados a partir do proposto por Kawakami & Vazzoler (1980).

Figura 3. Distribuição da média de índices alimentares (IA%) para os itens encontrados na dieta dos *Callinectes* em três estuários: Atapuz, Carneiros e Suape, durante os anos de 2020 a 2023.



Fonte: A autora (2024)

O conteúdo de Mollusca encontrado nos siris no ano de 2020 foi significativamente superior aos anos posteriores nas três localidades (Figura 3). O predomínio de moluscos na dieta dos *Brachyura* foi amplamente documentado por diversos autores (Ropes, 1968; Paul, 1981; Laughlin, 1982; Wear & Haddon, 1987; Haefner, 1990; Hsueh et al., 1992; Carqueija & Gouvêa, 1998; Chazaro Olvera et al., 2000; Mantelatto & Christofolletti, 2001; Branco et al., 2002). Os moluscos fazem parte dos grupos bentônicos mais abundantes nos estuários tropicais e estão facilmente disponíveis como presa para os siris (Oliveira et al., 2006). Entretanto, a importância do consumo dos moluscos na dieta dos *Callinectes* deve-se ao alto valor energético dos moluscos e ao cálcio presente em suas conchas (Williams, 1982; Mantelatto & Christofolletti, 2001).

Também foram encontradas algas e fibras mesmo que em menor quantidade. A ingestão de conteúdo vegetal por siris do gênero *Callinectes* acontece de forma seletiva, acidental ou oriunda dos estômagos de suas presas (Paul, 1981). Assim como, para fibras (Waddell et al., 2020).

Parte do conteúdo estomacal dos *Callinectes* spp. não foi possível de ser identificada, devido ao nível avançado de digestão, sendo então classificados como matéria orgânica não

definida (MOND). No ano de 2021, observa-se maior presença de MOND no estômago dos espécimes, 54,67% nos indivíduos de Atapuz, 71,86% no estuário de Carneiros e 64,18% em Suape. Segundo Edgar (1990), os representantes da família Portunidae possuem alta voracidade. Branco (1996a) observa que a digestão em *Callinectes* e outros Portunidae, como *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) e *Scylla serrata* (Forskål, 1775), ocorre de maneira acelerada, resultando em uma grande quantidade de material orgânico não definida (MOND).

Ao observar os gráficos referentes aos anos de 2022 e 2023 há porcentagens significativas de fragmentos de petróleo no conteúdo estomacal dos *Callinectes* (Freitas-Silva, I. et al., resultados não publicados.). Logo, existe uma redução notável da variabilidade de itens consumidos pelos animais (Figura 3). No ano de 2022 indivíduos de Atapuz e Suape apresentaram em média 3,08% e 3,79% de petróleo, respectivamente. Em 2023 também há ocorrência de óleo no conteúdo estomacal dos indivíduos das três localidades estudadas, com 10,79% (Atapuz), 5,31% (Carneiros) e 4,58% (Suape). A presença do petróleo na costa pernambucana apresentaram diferentes comportamentos, mesmo com a retirada da maior parte do resíduo ainda foi possível encontrar manchas e fragmentos em locais de difícil acesso como mangues, recifes de corais e formações rochosas (Brum et al., 2020; Nascimento et al., 2022)

O item Crustacea é um dos principais componentes da dieta alimentar dos *Callinectes* (Sandes, 2021). Outros estudos também identificaram o item Crustacea como o mais representativo na alimentação dos siris *Callinectes*. Entre esses estudos estão Oliveira et al. (2006) na Lagoa de Patos, Santa Catarina; Carvalho & Couto (2010) para a espécie *C. exasperatus* em Ilhéus, Bahia; e Sandes et al. (2021) para a espécie *C. danae* no estuário do rio Botafogo, Pernambuco. Estudos de Rady et al. (2018) corroboram com nossos resultados, onde mais de 20% do conteúdo estomacal dos *Callinectes sapidus* apresentam o item Crustacea. É notável a presença deste item durante os anos de análise, sendo em maior quantidade nos anos 2022 e 2023, corroborando com a hipótese de que os itens oleosos podem ser oriundos das presas que os *Callinectes* se alimentam.

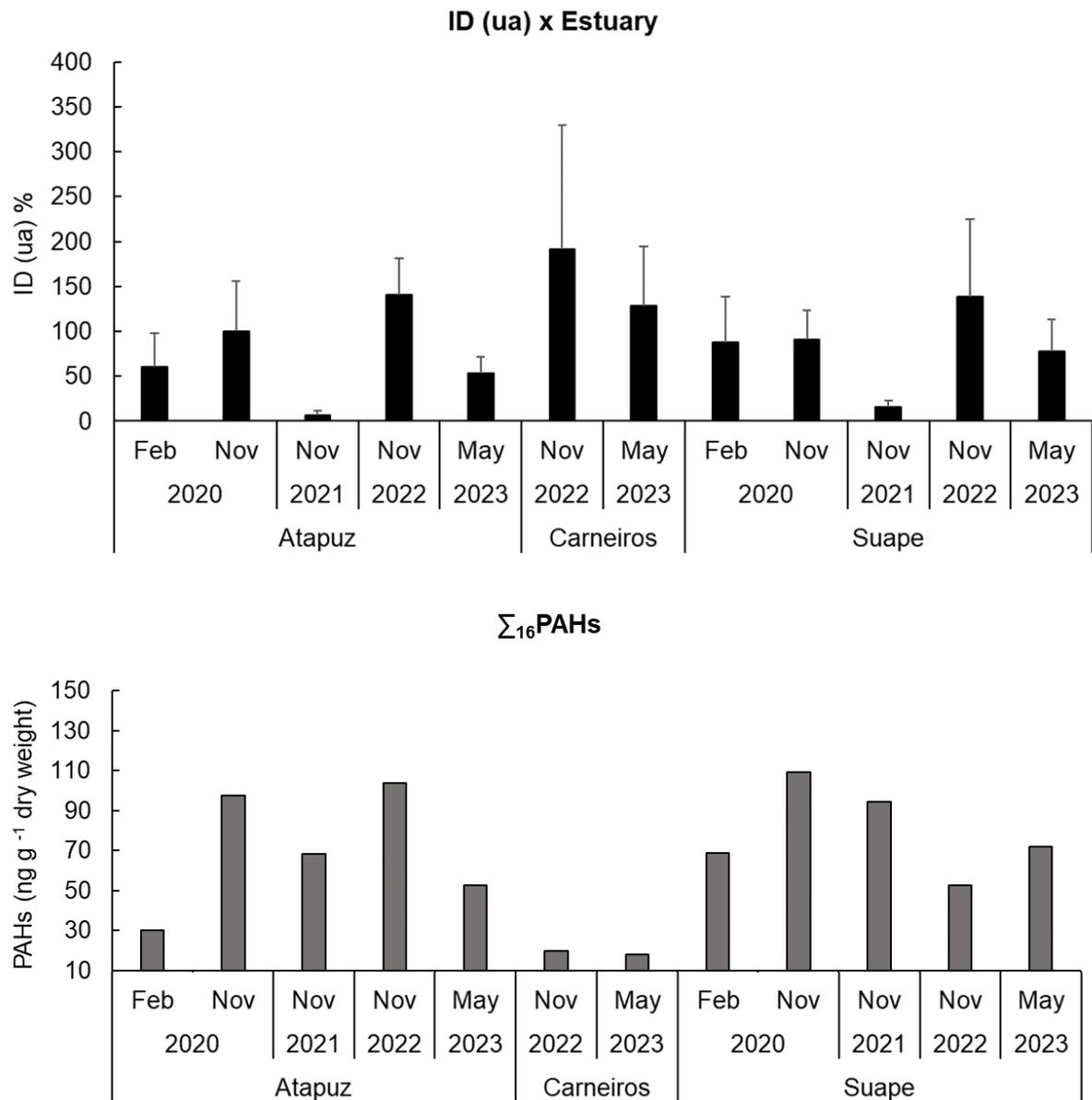
Ainda referente aos anos de 2022 e 2023 observa-se presença significativa de sedimentos como item alimentar dos indivíduos. Sendo ainda maior o nível de sedimentos no ano de 2023 com: 28,01% em Atapuz, 15,93% em Carneiros e 7,95% em Suape. A presença de sedimentos no conteúdo estomacal é consideravelmente normal nessas espécies, estudos de Sandes (2021) encontrou 26,60% de areia no estômago de *Callinectes danae* adulto em um estuário tropical - Rio Pernambuco e afirma que geralmente esses sedimentos são consumidos junto a outros itens alimentares e reforça a hipótese de ser uma gestão acidental (Mantellato e Christofolletti, 2001), corroborando com os resultados dessa pesquisa, onde a maior

porcentagem de sedimentos é encontrada no estuário de Carneiros (2022: 24,40%; 2023:15,93%).

O item sedimento também pode estar associado a partículas com matéria orgânica aderida, onde alguns microrganismos se desenvolvem e há uma remoção seletiva dessas partículas pelo siri, com o auxílio de seus apêndices, caracterizando-o como detritívoros (Williams, 1982; Choy, 1986). Além disso, esses animais apresentam a capacidade de forrageio (Oliveira, et al., 2006). Devido a esses hábitos os siris são considerados bons indicadores de contaminação porque habitam tanto em áreas fundas com rasas, além de ficarem mais susceptíveis a ingestão de sedimentos que contenham fragmentos oleosos durante sua escavação e alimentação (Turkmen et al., 2006; Mutlu et al., 2011). Por isso, é importante destacar que os caranguejos azuis têm um papel vital na diminuição da matéria orgânica mineralizante, tamanho de partículas e sedimentos de remediação (Hewitt, 2023).

Como já visto, os HPAs são altamente tóxicos para a saúde humana e para o meio ambiente (Fakhri et al. 2021). Assim, ao identificar o fragmento oleoso foi realizada a quantificação de HPA nos sedimentos superficiais dos manguezais, além de visualizar o índice de dano ao DNA (IDua). Perante os resultados expostos na Figura 4, quanto ao dano causado no DNA, observa-se que, em 2021, os indivíduos apresentaram menos danos em comparação com os de 2022, onde é possível observar um nível de dano alto nos espécimes coletados em novembro deste ano, nos três estuários estudados, apresentando médias de 140,8%, 191,6% e 138,4%, em Atapuz, Carneiros e Suape respectivamente. A baixa porcentagem de danos nos animais no ano de 2021, pode ser explicada através da ausência do item sedimento, e da baixa frequência de crustáceos na dieta dos siris coletados neste ano (Figura 3 e 4).

Figura 4. Análise temporal do índice de dano genômico (média \pm desvio padrão) em *Callinectes* em três estuários em Pernambuco: Atapuz, Carneiros e Suape.



Fonte: A autora (2024)

Ao observar os índices da presença de HPAs nos sedimentos coletados, no ano de 2020 nos meses de novembro foram encontradas as seguintes quantidades de HPAs em de Atapuz e Suape: 98 e 109 ng q⁻¹. No ano de 2021, também no período de novembro, para as mesmas áreas foram encontrados 61 e 94 ng g⁻¹, respectivamente. Com o passar do ano, a quantidade de HPAs foi menor em Suape, com uma concentração de 52 ng g⁻¹, e em Carneiros de 20 ng g⁻¹, enquanto para Atapuz foi de 104 ng g⁻¹ no referente mês de novembro. Observa-se uma quantidade de petróleo encontrado nos indivíduos coletados em Atapuz nesse ano (Figura 3).

Vale salientar que o mês de novembro, é o mês mais seco das mesorregiões de Pernambuco com média histórica de precipitação inferior a 40 mm. Sendo os meses de junho a agosto considerado o período chuvoso com precipitações de até 400mm (APAC, 2022). Em estudo sobre a dieta alimentar de *C. danae* concluiu-se que a influência sazonal incide não somente na quantidade de presas disponíveis, como também na composição taxonômica (Branco et al. 2002). O mesmo autor, afirma que a abundância e o tipo do item alimentar estão relacionados a sua disponibilidade no ambiente e não à preferência do siri, disponibilidade essa que varia sazonalmente. Neste estudo, o volume de alimentos nos estômagos dos *C. danae* foi maior no período seco, do que durante o período chuvoso corroborando com os resultados encontrados em pesquisas de Sandes et al., 2021; Oliveira et al., 2006 e pode ser relacionado ao fenômeno de lixiviação no ambiente.

No ano de 2023, há uma redução de HPA nos sedimentos coletados na praia de Carneiros e Atapuz, em sequência. Já no material avaliado da praia de Suape a quantidade de petróleo foi maior quando comparado ao ano de 2022. A bioconcentração dos HPAs está diretamente relacionada ao seu caráter hidrofóbico, o que reduz sua solubilidade em água à medida que aumenta o número de anéis aromáticos. Isso favorece sua persistência no ambiente, permitindo que sejam adsorvidos em sedimentos ou bioacumulados em tecidos lipídicos de organismos. Esses compostos podem ser absorvidos pelos organismos através do contato direto com a água, material particulado em suspensão, sedimentos, ou pela ingestão de alimentos contaminados (Vives et al., 2004; Logan, 2007; Rubio-Clemente et al., 2014; Taylor et al., 2022).

É importante o acompanhamento da presença de compostos tóxicos em siris, visto sua importância ecológica e econômica. Reichmuth et al. (2009) observou em seus estudos comportamentos diferentes no ato de captura de presas em caranguejos adultos de estuário contaminado comparado a um estuário limpo, o mesmo afirma que esses animais têm sua capacidade de captura reduzida quando em ambientes contaminados. Há a preocupação também com a contaminação secundária, visto que dos portunídeos os siris-azuis são os mais comercializados e participam da alimentação de seres humanos devido a qualidade da sua carne (González Buendia, 2023; Pereira-Barros; Travassos, 1972; Van Engel, 1958).

Quanto aos dados expostos no ponto de Carneiros (2022 e 2023), é notável a baixa concentração de HPAs quando comparado às outras localidades estudadas. Possivelmente por ser uma área integrada à preservação, sendo essa inserida na APA dos Corais e APA Guadalupe. Em contrapartida, é uma área que gira em torno da economia através do turismo em períodos de alta temporada (Selva, 2012; Cordeiro et al, 2013). A principal atração para os turistas é o

passeio de catamarã, que percorre diferentes ecossistemas, permitindo aos turistas caminharem sobre recifes e observar manguezais de perto, com pequenos peixes e crustáceos (Coelho & Araújo, 2011; Santana et al., 2024). Conseqüentemente, esse e outros fatores desencadeiam diversos impactos no ambiente natural (Lourenço, Eloy & Crispim, 2015).

4. CONCLUSÃO

Os resultados dessa pesquisa apontam que as espécies foram afetadas pelo derramamento do óleo e com a avaliação entre os anos foi possível observar a persistência do contaminante no ambiente além da tendência de reaparecer depois de um tempo devido fenômenos oceânicos. É perceptível o dano que o petróleo causa nos animais e esses podem causar deformações e maiores complicações no comportamento dos siris. Este estudo afirma a importância da proteção ambiental, visto que, a área de Carneiros protegida perante lei foi onde foram encontrados menores quantidades de petróleo quando comparados a outras áreas sem legislação ambiental. Dessa forma, é necessária uma maior investigação, visto que mesmo depois de 4 anos após o primeiro aparecimento de óleo ainda é possível encontrar fragmentos oleosos no ambiente típico dos siris. Perante o conteúdo estomacal encontrado nos siris, estiveram Mollusca, MOND e Crustáceo, além de outros itens não identificados fortalecendo a diversidade na dieta desses animais. O impacto do petróleo na qualidade de vida desses animais pode ser grave já que os mesmos podem consumir sedimentos ou matéria orgânica que tenha presença de fragmentos oleosos. Para pesquisas futuras seria interessante coletas em outras praias que também foram afetadas, além do retorno nessas praias já estudadas para a conferência dos níveis de HPAs nos sedimentos atuais e tornar público esses dados por meio da divulgação científica.

5. REFERÊNCIAS

- APAC, Agência Pernambucana de Águas e Climas. **Boletim do clima: síntese climática**. Vol. 10, nov. 2022. Disponível em: www.apac.pe.gov.br. Acesso em: 15/08/2024.
- BARRETO, A.V., LEITE, L.M.B.; AGUIAR, M.C. Maturidade sexual das fêmeas de *Callinectes danae* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) nos estuários dos rios Botafogo e Carrapicho, Itamaracá-PE Brasil. **Iheringia Série Zoologia**, v.96, p.141–146, 2006.
- BELPAEME, K., COOREMAN, K. & KIRSH-VOLDERS, M. Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. **Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutag.** v. 415, p.167-184, 1998.
- BOLOGNESI, Cláudia; CIRILLO, Silvia. Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. **Current Zoology**, v. 60, p. 273-284, 2014.
- BRANCO et al. Natural Diet of *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) in the Itapocoroy Inlet, Penha, SC, Brazil. In: **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 45 n. 1 p. 35 – 40, 2002.
- BRANCO, J. O. Ciclo e ritmo alimentar de *Callinectes danae* SMITH, 1869 (Decapoda, Portunidae) na Lagoa da Conceição, Florianópolis – SC. In: **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 39, p. 987-998, 1996a.
- BRANCO, J. O. Dinâmica da alimentação natural de *Callinectes danae* Smith, 1869 (Decapoda, Portunidae) na Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. **Tese de Doutorado**, (não publicado), Universidade Federal do Paraná, 1996b.
- BRANCO, J. O.; H. A. A. FRACASSO. Biologia Populacional de *Callinectes ornatus* (Ordway) na armação de Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, p. 91-96, 2004.
- BRANCO, J.O. et al. Natural diet of *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) in the Itapocoroy inlet, Penha, SC, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 45, p. 35-40, 2002.
- BRANCO, Joaquim Olinto; VERANI, José Roberto. Dinâmica da alimentação natural de *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) na Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 14, p. 1003-1018, 1997.

- BRIANEZI, G. et al. Development and validation of a quantitative image analysis method to evaluate comet assay (silver staining). **Journal of Brazilian Pathology and Laboratory Medicine**, v. 45, p. 325-334, 2009. BRUM H.D., et al. Brazil oil spill response: Government inaction. **Science**, v.367, p. 155-156, 2020.
- CAMPELO, R.P. S. et al. Oil spills: the invisible impact on the base of tropical marine food webs. **Mar. Pollut. Bull.** v.167, p.1-12, 2021.
- CANTILLO, A.; LAUENSTEIN, G. Performance-based quality assurance—the NOAA national status and trends program experience. In: US EPA **Proceedings of the NWQMC National Conference—Monitoring: Critical Foundations to Protect Our Waters**. Washington, DC, p. 1063-1073, 1998.
- CARQUEIJA, C. R. G.; GOUVÊA, E. P. Hábito alimentar de *Callinectes larvatus* Ordway (Crustacea, Decapoda, Portunidae) no manguezal de Jiribatuba, Baía de Todos os Santos, Bahia. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, p 273-278, 1998.
- CARVALHO, Fabrício Lopes; COUTO, Erminda da Conceição Guerreiro. Dieta do siri *Callinectes exasperatus* (Decapoda, Portunidae) no estuário do rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia. **UNICiências**, v. 14, n. 2, 2010.
- CHAZARO-OLVERA, S. et al. Observations on feeding, maturity, and fecundity of *Callinectes similis* Williams, 1966, on the central continental shelf off Veracruz, Gulf of Mexico. **Crustaceana**, p. 323-332, 2000.
- CHOY, S. C. Natural diet and feeding habits of the crabs *Liocarcinus puber* and *L. holsatus* (Decapoda, Brachyura, Portunidae). **Mar. Ecol Prog. Ser.**, v. 31 p. 87-99, 1986.
- COELHO, P. A.; SANTOS, M. DO C. F. Siris do estuário do rio Una, São José da Coroa Grande, Pernambuco - Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). **Boletim técnico científico, CEPENE** v. 12, p 187-194, 2004.
- CORDEIRO, Itamar et al. Determinação da Capacidade de Carga Turística a partir do método Cifuentes et al. (1992): Aplicação à Praia dos Carneiros (Tamandaré/PE). **Turismo: Visão e Ação**, v. 15, n. 1, p. 057-070, 2013.
- DAVIE, P. J.F et al. Phylogeny of Brachyura. Treatise on Zoology-Anatomy, **Taxonomy, Biology**, v. 9, p. 921-979, 2015.

DUARTE, I. D. et al. (2012). A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira De Biociências**, v. 10, p. 211-211, 2012.

EDGAR, G.J. Predator-prey interactions in seagrass beds. II. Distribution and diet of the blue manna crab *Portunus pelagicus* Linnaeus at Cliff Head, Western Australia. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.139, p 23-32, 1990.

FAKHRI, Y. et al. The concentration of potentially hazardous elements (PHEs) in the muscle of blue crabs (*Callinectes sapidus*) and associated health risk. **Chemosphere**, v. 279, p. 130431, 2021.

FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. **La transformación azul en acción**. Roma, 2024.

FRENZILLI, G. et al. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments, Mutation Research/Reviews. **Mutation Research**, v. 681, p. 80-92, 2009.

GONZÁLEZ BUENDÍA, V. A. et al. El percebe Rizocéfalo *Loxothylacus Texanus* parásito de crustáceos del género *Callinectes*: una revisión del estado del conocimiento y su impacto ambiental. **Universidad Simón Bolívar**, 2023.

HAEFNER J.R.; Paul A. Morphometry and size at maturity of *Callinectes ornatus* (Brachyura, Portunidae) in Bermuda. **Bulletin of Marine Science**, v. 46, n. 2, p. 274-286, 1990.

HARTMANN, D.M.; BLASZYK, H. Mitogenic short-term effects on hepatocytes and adrenocortical cells: phenobarbital and reserpine compared to carcinogenic and noncarcinogenic fluorene derivatives. **Exp Toxic Pathol**. v.50, p. 416-424,1998.

HEWITT, D. E., et al. "Crabs ride the tide: incoming tides promote foraging of Giant Mud Crab (*Scylla serrata*)." **Movement Ecology**, v.11, p.21-21, 2023.

HSUEH, P. W.; MCCLINTOCK, J. B.; HOPKINS, T. S. Comparative study of the diets of the blue crabs *Callinectes similis* and *C. sapidus* from a mud-bottom habitat in Mobile Bay, Alabama. **Journal of Crustacean Biology**, v. 12, p. 615-619, 1992.

- KENNEDY, C. J.; SMYTH, K. R. Disruption of the rainbow trout reproductive endocrine axis by the polycyclic aromatic hydrocarbon benzo [a] pyrene. **General and comparative endocrinology**, v. 219, p. 102-111, 2015.
- KÜHN, S. et al. Deleterious effects of litter on marine life. **Marine anthropogenic litter**, p. 75-116, 2015.
- KWOFIE, F. et al. Diferenciação de óleos comestíveis por tipo usando espectroscopia Raman e métodos de reconhecimento de padrões. **Espectroscopia aplicada**, v.74, p.645-654, 2020.
- LAUGHLIN, R. A. 1982. Feeding Habits Of The Blue Crab, *Callinectes sapidus* Rathbun, In The Apalachicola Estuary, **Florida. Bulletin of Marine Science**. v. 32, p 807-822, 1982.
- LOURENÇO, L.J.S.; ELOY, C. C.; CRISPIM, M. C. Caracterização do Parque Estadual Marinho de Areia Vermelha, Cabedelo, PB, baseado na diversidade e abundância dos cnidários da Classe Anthozoa, como subsídio para o zoneamento ecológico econômico. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 1, p. 134-140, 2015.
- LOURENÇO, R.A. et al. Estudo de bioacumulação de descargas de águas produzidas da indústria petrolífera offshore do sudeste brasileiro usando peixes selvagens. **Arch Environ Contam Toxicol**. v. 74, p. 461-470, 2018.
- MAGRIS, R.A. et al., Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, p.528-539, 2020.
- MANTELATTO, F. L. M.; CHRISTOFOLETTI, R. A. Natural feeding activity of the crab *Callinectes ornatus* (Portunidae) in Ubatuba Bay (São Paulo, Brazil): influence of season, sex, size and molt stage. **Marine Biology**, v. 138, p. 585-594, 2001.
- MUTLU, C. et al. Comparison of metal concentrations in tissues of blue crab, *Callinectes sapidus* from Mediterranean lagoons." **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 87, p.282-286, 2011.
- NASCIMENTO, E.S. do et al. Avaliação dos efeitos letal e subletais do óleo oriundo do acidente ocorrido no litoral pernambucano em invertebrados marinhos. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2022.
- NEFF, J.M. Bioacumulação em organismos marinhos: efeitos de contaminantes de água produzida por poço de petróleo. **Elsevier**, 439p., 2022.

- NELMS, S. E. et al. Plastic and marine turtles: a review and call for research. **ICES Journal of Marine Science**, v. 73, p. 165-181, 2016.
- NETTO, S.A. & LANA, P. Effects of sediment disturbance on the structure of benthic fauna in a subtropical tidal creek of southeastern Brazil. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 106, p. 239-239, 1994.
- OLIVEIRA, A. et al. Dieta natural do siri-azul *Callinectes sapidus* (Decapoda, Portunidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.*, v. 96, n. 3, p. 305-313, 2006.
- PAOLO, C. Aplicação do Ensaio Cometa a Estudo de Danos do DNA de robalos, *Centropomus parallelus* (Poey, 1860), expostos a β -naftoflavona. **Dissertação de mestrado**, Instituto Oceanográfico/SP, 2006
- PAUL, R, K, G. Natural Diet, Feeding and Predatory Activity of the Crabs *Callinectes arcuatus* and *C. toxotes* (Decapoda, Brachyura, Portunidae). **Marine Ecology Progress Series**, v. 6, p. 91-99, 1981.
- PEREIRA-BARROS, J. B.; TRAVASSOS, I. B. 1972. Informes sobre a pesca e biologia do siri tinga (*Callinectes danae*) e guajaú (*Callinectes bocourti*) na Lagoa Mundaú – Maceió-Alagoas. Parte II. CDU 639, Alagoas, 518p.
- PIE, H. Mitchelmore, Acute toxicity of current and alternative oil spill chemical dispersants to early life stage blue crabs (*Callinectes sapidus*), **Chemosphere**, v. 128, p. 14-20, 2015.
- PORT, D.; FISCH, F.; BRANCO, J.O. Biologia populacional e dieta de *Callinectes sapidus* (Decapoda, Portunidae) no Saco da Fazenda, Itajaí, Santa Catarina, Brasil. **Bol. Instit. Pesca, São Paulo**, v. 42, p. 327-341, 2016.
- RADY, A. et al. Alimentos e hábitos alimentares do caranguejo azul, *Callinectes sapidus* (Crustacea: Decapoda: Portunidae) com referência especial à estrutura do moinho gástrico. Egito. **J. Aquat. Biol. Peixe.**, v. 22, p. 417–431, 2018.
- REICHMUTH, Jessica M. et al. Differences in prey capture behavior in populations of blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun) from contaminated and clean estuaries in New Jersey. **Estuaries and Coasts**, v. 32, p. 298-308, 2009.

- ROPES, J.W.. The feeding habits of the green crab, *Carcinus maenas* (L.). **Fishery Bull. Fish Wildl. Servo U.S.**, v. 67: p. 183-203, 1968
- SANDES, K. Q. T. C. et al. Dieta natural de *Callinectes danae* smith, 1869 (Crustacea, Decapoda, Portunidae) em um estuário tropical, **Universidade Federal do Ceará**, 2021.
- SANTANA, J. L. et al. Feeding of *Eriphia gonagra* (Crustacea: Eriphiidae) in two polluted reef areas in tropical Brazil with records of ingestion of microplastics. **Thalassas: An International Journal of Marine Sciences**, v. 38, p. 431-443, 2022.
- SANTANA, J. L. et al. Reef crab population changes after oil spill disaster reach Brazilian tropical environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 183, p. 114047, 2022.
- SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Analytical chemistry**, v. 36, p. 1627-1639, 1964.
- SELVA, V.S.F. Litoral da Área de Proteção Ambiental (APA) de Guadalupe: de ambiente natural a espaço do turismo. **Revista Nordestina de Ecoturismo, Aquidabã**, v.5, p.8-16, 2012
- SHARMA, K. et al., Comprehensive insights into the impact of oil pollution on the environment. **Regional Studies in Marine Science**, v. 74, p.1-13, 2024.
- SINGH, N. P. *et al.* A Simple Techniue for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **EXP, Cell Res.** v. 175, p. 184-191, 1988
- SOARES, M.O. et al. Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science**, v. 367, p. 155-155, 2020a.
- SOARES, M.O. et al. Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. **Marine Policy**, v. 115, p. 103879, 2020b.
- TOURNADRE, J. Anthropogenic pressure on the open ocean: The growth of ship traffic revealed by altimeter data analysis. **Geophys. Res. Lett.**, v.41, p.7924–7932, 2014.
- TURKMEN, A., et al. "Metal concentrations in blue crab (*Callinectes sapidus*) and mullet (*Mugil cephalus*) in Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean, Turkey." **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 2006.

VAN ENGEL, W. A. The blue crab and its fishery in Chesapeake Bay. Part I: Reproduction, early development, growth and migration. *Commercial Fisheries Review, Arlington*, v.20, p. 6-17, 1958.

VIJAYAVEL, K. et al. Sublethal effect of naphthalene on lipid peroxidation and antioxidant status in the edible marine crab *Scylla serrata*. *Marine Pollution Bulletin*, v. 48, p. 429-433, 2004.

WADDELL E. N.; LASCELLES N.; CONKLE L. J. Microplastic contamination in Corpus Christi Bay blue crabs, *Callinectes sapidus*. *Limnology and Oceanography Letters*, v. 5, p. 92–102, 2020.

WADE, T. L.; CANTILLO, A. Y. Use of standards and reference materials in the measurement of chlorinated hydrocarbon residues: Chemistry workbook. Technical memo. **National Ocean Service**, Seattle, WA (United States). Office of Ocean Resources Conservation and Assessment, 1994.

WEAR, R. G.; HADDON, M. Natural diet of the crab *Ovalipes catharus* (Crustacea, Portunidae) around central and northern New Zealand. *Marine Ecology Progress Series*, p. 39-49, 1987.

WILLIAMS, A. B. 1982. Natural food and feeding in the commercial sand crab *Portunus pelagicus* Linnaeus, 1766 (Crustacea: Decapoda: Portunidae) in Moreton Bay, Queensland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 59, p. 165-176.

WILLIAMS, A. B. Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States, Maine to Florida. **Washington, Smithsonian Institution**. p. 550, 1984.

ZANARDI-LAMARDO E. et al., Distribution and sources of organic contaminants in surface sediments of Hooghly river estuary and Sundarban mangrove, eastern coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, v. 146, p.39-49, 2019.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As conclusões destacam a magnitude e a complexidade dos impactos ambientais do derramamento de óleo em ecossistemas marinhos, com foco nas espécies de siris estudadas. As evidências revelam que o óleo derramado pode causar consequências persistentes e complexas, afetando negativamente a saúde e o comportamento das espécies impactadas. Isso é evidenciado pela alta incidência de células micronucleadas e microlesões no material genético dos espécimes. Confirmadas como onívoras e oportunistas, as espécies têm a capacidade de consumir acidentalmente fragmentos oleosos presentes no ambiente, o que contribui para a exposição contínua aos contaminantes. Além disso, a detecção de "tar balls" ressurgidas anos após o evento inicial ressalta que a fragmentação do óleo no ambiente é um processo demorado, o que significa que os impactos podem se estender por períodos prolongados, complicando a recuperação completa dos ecossistemas afetados.

O estudo também destaca a importância de áreas protegidas, como Carneiros, na mitigação dos efeitos do derramamento, evidenciando que a legislação ambiental pode desempenhar um papel crucial na preservação dos ecossistemas. No entanto, a persistência de fragmentos oleosos no ambiente, mesmo após quatro anos, indica que essas medidas podem não ser suficientes por si só, e que é necessário intensificar a proteção. Além disso, eventos extremos pontuais, como derramamentos de óleo, reforçam a necessidade de investigação contínua para compreender plenamente as implicações do petróleo nos organismos marinhos e nos ecossistemas.

O impacto socioeconômico também é uma consideração importante. Caso ocorram mais derramamentos de petróleo, as populações que dependem da venda e consumo desses animais podem ser ainda mais afetadas. Derramamentos de petróleo como estes comprometem não apenas a saúde dos ecossistemas, mas também a economia local que depende desses recursos marinhos.

Assim, a presente dissertação reafirma a necessidade de uma abordagem integrada e de longo prazo para monitorar, mitigar e compreender os impactos dos derramamentos de óleo. Isso inclui a ampliação das pesquisas para outras áreas afetadas, bem como a divulgação científica desses dados, de forma a promover políticas públicas mais eficazes e uma maior conscientização sobre a importância da preservação ambiental. A saúde dos siris e de outros organismos marinhos serve como um indicador crítico da qualidade do ambiente marinho e, por extensão, da saúde de todo o ecossistema costeiro.

3 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. A. G. R. et al. Public awareness and engagement in relation to the coastal oil spill in northeast Brazil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 94, n. 2, 2022. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210395>.
- ANDRADE, J. D. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, p. 17-43, 2010.
- ARECES, A. J., COCENTINO, A. L. M., REIS, T. N. V., VASCONCELOS, E. R. T. P. P., GUIMARÃES-BARROS, N. C., FUJII, M. T. Las Macroalgas como Bioindicadoras da Calidad Ambiental y Cambios Climaticos. Guia práctica. **Brazilian Journal of Ecology**, 1-64: 1516-5868, 2015.
- BHAT, S. A., CUI, G., LI, F. & VIG, A. P. Biomonitoring of genotoxicity of industrial wastes using plant bioassays. **Bioresource Technology Reports**, 6: 207-216, 2019.
- BRUM, H. D.; CAMPOS-SILVA, J. V.; OLIVEIRA, E. G. Brazil oil spill response: government inaction. **Science**, v. 367, n. 6474, p. 155–156, 2020.
- CAMPELO, R. P. S. et al. Oil spills: the invisible impact on the base of tropical marine food webs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 167, 112281, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112281>.
- CRAVEIRO, N., ALVES, R.V.A., Immediate effects of the 2019 oil spill on the macrobenthic fauna associated with macroalgae on the tropical coast of Brazil. **Marine Pollution Bulletin** 165, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112107>
- EDGAR, G. J. Predator-prey interactions in seagrass beds. II. Distribution and diet of the blue manna crab *Portunus pelagicus* Linnaeus at Cliff Head, Western Australia. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 139, n. 1-2, p. 23-32, 1990.
- EICHLER, P. P. B. et al. Evaluation of Environmental and Ecological Effects Due to the Accident in an Oil Pipe from Petrobras in Guanabara Bay, RJ, Brazil. **Open Journal of Marine Science**, v. 4, p. 298-315, 2014.

ESCOBAR, H. Mysterious oil spill threatens marine biodiversity haven in Brazil. **Science**, 2020. <https://doi.org/10.1126/science.aba1003>

FELDER, D. L., THOMA, B. P., SCHMIDT, W. E., SAUVAGE, T., L., S., CHISTOSERDOV, A., D., H., FREDERICQ, S. Seaweeds and Decapod Crustaceans on Gulf Deep Banks after the Macondo Oil Spill. **BioScience**, v. 64(9), p. 808-819, 2014. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu119>

GONZALEZ-HUNT, C. P., WADHWA, M. & SANDERS, L. H. DNA damage by oxidative stress: Measurement strategies for two genomes. **Current Opinion in Toxicology**, 7: 87-94, 2018.

GUNDLACH, E. R.; HAYES, M. O. Vulnerability of coastal environments to oil spill impacts. **Marine Technology Society Journal**, v. 12, n. 4, p. 18-27, 1978.

IARC – INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Disponível em: <http://www.iarc.fr>. Acesso em: 20 mar. 2024.

IBAMA. Localidades atingidas. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/ptbr/assuntos/fiscalizacao-e-protecao-ambiental/emergenciasambientais/manchasdeoleo/localidades-atingidas>. Acesso em: 10 mar. 2024.

INOJOSA, F. C. P. et al. Lessons learned from a mystery oil spill that hit the Brazilian coast in 2019. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 94, n. 2, 2022. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210309>.

IVAR DO SUL, J. A. et al. Plastic debris retention and exportation by a mangrove forest patch. **Marine Pollution Bulletin**, v. 78, n. 1-2, p. 252–257, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.11.011>.

JABLONSKI, S.; AZEVEDO, A. D. F.; MOREIRA, L. H. A. Fisheries and conflicts in Guanabara bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 79–91, 2006.

LEITE, D. S. L., RIUL, P., DE FREITAS, N. D. A. & DE MIRANDA, G. E. C. Evaluation of the conservation status and monitoring proposal for the coastal reefs of Paraíba, Brazil:

Bioindication as an environmental management tool. **Ocean & Coastal Management**, 194: 105208, 2020.

LEMOS, A., ANDRADE, L., FRANKLIN, L., BEZERRA, D., GHISOLFI, R., MAITA, R., NOBRE, P., Ship route oil spill modeling: a case study of the Northeast Brazil event, 2019. **Applied Sciences** 14, 865. 2024. <https://doi.org/10.3390/app14020865>

LOURENÇO, R. A. et al. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**, v. 156, 111219, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111219>.

LOURENÇO, R.A., LASSALLE, G., et al., Recurrent arrival of oil spill remnants along the Brazilian coast: in situ long-term weathering of the largest spill in Brazil's history. **Regional Studies in Marine Science** 66, 103175, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2023.103175>

MAGALHÃES, K. M. et al. Oil spill + COVID-19: A disastrous year for Brazilian seagrass conservation. **Science of The Total Environment**, v. 764, 142872, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142872>.

MAGRIS, R. A.; GIARRIZZO, T. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, 110961, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110961>.

MANTELATTO, F. L. M.; CHRISTOFOLETTI, R. A. Natural feeding activity of the crab *Callinectes ornatus* (Portunidae) in Ubatuba Bay (São Paulo, Brazil): Influence of season, sex, size and the molt stage. **Marine Biology**, v. 138, p. 585-594, 2001.

NEGREIROS-FRANSOZO, H. L.; FRANSOZO, A. Avaliação preliminar da Biologia de *C. ornatus* Ordway, 1863 e *C. danae* Smith, 1869 (crustácea, Decapoda) na região de Ubatuba (SP) Brasil. In: **ANAIS DO III SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS DA COSTA BRASILEIRA: subsídios a um gerenciamento ambiental**. ACIESP, v. 87, n. 1, p. 122–130, 1994.

OLIVEIRA, O. M. C. et al. Environmental disaster in the northeast coast of Brazil: forensic geochemistry in the identification of the source of the oily material. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, 111597, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111597>.

PHUKAOKAEW, S; SUKHSANGCHAN, C. Toxicity of water soluble fraction of crude oil on morphology and behavior of soldier crabs *Dotilla wichmanni* DeMan, 1892. **Phuket Marine Biological Center Research Bulletin**, v. 76, p. 63-70, 2019.

ROBLES, R. et al. Molecular phylogeny of the American *Callinectes* Stimpson, 1860 (Brachyura: Portunidae), based on two partial mitochondrial genes. **Marine Biology**, v. 150, n. 6, p. 1265-1274, 2007.

SANTANA, J. L.; CALADO, T. C. S.; SOUZA-FILHO, J. F. Feeding of *Eriphia gonagra* (Crustacea: Eriphiidae) in two polluted reef areas in tropical Brazil with records of ingestion of microplastics. **Thalassas: An International Journal of Marine Sciences**, v. 38, p. 431–443, 2022. <https://doi.org/10.1007/s41208-021-00380-7>.

SIQUEIRA, P.G., MOURA, M.C., DUARTE, H.O., Quantitative ecological risk assessment of oil spills: The case of the Fernando de Noronha Archipelago. **Marine Pollution Bulletin**, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114791>

SOARES, M. O. et al. Déjà vu: new oil spill poses cumulative risks to protected coastal environments in the South Atlantic. **Marine Policy**, v. 155, 105764, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2023.105764>.

SOARES, M. O. et al. The most extensive oil spill registered in tropical oceans (Brazil): the balance sheet of a disaster. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 13, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18710-4>.

SOARES, M. O.; RABELO, E. F. Severe ecological impacts caused by one of the worst orphan oil spills worldwide. **Marine Environmental Research**, v. 187, 105936, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105936>.

SOUSA, L. G. R., MIRANDA, A. C., MEDEIROS, H.B. Impacto ambiental e socioeconômico do derramamento de óleo na baía de guanabara. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9 (2), 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.17271/19800827922013633>

SUKHSANGCHAN, C. Toxicity of water soluble fraction of crude oil on morphology and behavior of soldier crabs *Dotilla wichmanni* DeMan, 1892. **Phuket Marine Biological Center Research Bulletin**, v. 76, p. 63-70, 2019.

WAKE, H. Oil refineries: A review of their ecological impacts on the aquatic environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 62, n. 1-2, 131-140, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.08.013>.

ZACHARIAS, D. C.; GAMA, C. M.; FORNARO, A. Mysterious oil spill on Brazilian coast: Analysis and estimates. **Marine Pollution Bulletin**, v. 165, 112125, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112125>

ZACHARIAS, D.C., FORNARO, A., Brazilian offshore oil exploration areas: an overview of hydrocarbon pollution. **Revista Ambiente & Água** v. 15, p. 2569, 2020. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2569>