



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MATHEUS BARBOSA DOS SANTOS

Condição fisiológica de ostras *Crassostrea* sp. dos estuários dos rios Paraíba do Norte e Mamanguape do Estado da Paraíba

João Pessoa
2015

Matheus Barbosa dos Santos

**Condição fisiológica de ostras *Crassostrea* sp. provenientes dos estuários dos rios
Paraíba do Norte e Mamanguape no Estado da Paraíba**

Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas
Área de concentração: Fisiologia Animal
Comparada

Orientadora: Prof^a. Dra. Enelise Marcelle
Amado.

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Ana Lúcia Vendel.

**João Pessoa
2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S237c Santos, Matheus Barbosa dos
Condição fisiológica de ostras *crassostrea* sp. dos estuários dos rios Paraíba do Norte e Mamanguape (Paraíba, Brasil) [manuscrito] / Matheus Barbosa dos Santos. - 2015.
52 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2015.

"Orientação: Profa. Dra. Enelise Marcelle Amado, Departamento de Ciências Biológicas".

"Co-Orientação: Profa. Dra. Ana Lúcia Vendel, Departamento de Ciências Biológicas".

1. Índice de condição. 2. Teor de hidratação tecidual. 3. Anidrase carbônica. 4. Poluição. I. Título.

21. ed. CDD 628.112

CONDIÇÃO FISIOLÓGICA DE OSTRAS *Crassostrea sp.* DOS ESTUÁRIOS
DOS RIOS PARAIBA DO NORTE E MAMANGUAPE (PARAIBA, BRASIL).

Monografia apresentada ao curso de
graduação em Ciências Biológicas
do Campus V da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito
final à obtenção do grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

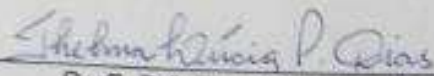
Área de concentração: Fisiologia
Comparada.

Aprovada em: 16/06/2015.

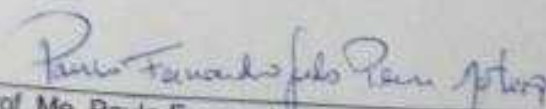
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Enelise Marcelle Amado (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a. Dr.^a. Theima Lúcia Pereira Dias
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Paulo Fernando Guedes Pereira Montenegro
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

“A persistência é o caminho do êxito”

Charles Chaplin

*“Toda ação humana, quer se torne positiva ou negativa, precisa depender de
motivação”*

Dalai Lama

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer primeiramente a minha orientadora, Prof^a Enelise pela sua grande paciência que foi escrever esse trabalho, obrigado por me fazer crescer academicamente, mas também como pessoa, obrigado pela dedicação e disponibilidade.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha graduação que me ensinaram muito, e vou levar comigo para sempre todo esse conhecimento, em especial as minhas “co-orientadoras” Daniela, Brígida e Tacyana, pelos puxões de orelha que as vezes eram necessários.

Agradeço também ao CNPq por financiar o projeto universal da minha orientadora que dessa forma foi possível a realização desse trabalho.

Agradeço a minha co-orientadora Prof^a Ana Lúcia que me ajudou na realização das coletas e na elaboração do trabalho e no início da pesquisa disponibilizou o seu laboratório para triagem das ostras

Agradeço a todos os laboratório da UEPB (LSVM e Laboratório de Botânica) pela sua disponibilidade dos equipamentos, sem eles não teria como chegar a esses resultados. Agradeço principalmente a técnica de laboratório Amanda que me ajudou muito na hora de analisar as minhas amostras.

Gratidão aos pescadores (Seu Wilson, Seu Geraldo e o seu filho Thiago) por tornarem viável a coleta das ostras, sem eles não teria conseguido as ostras.

Gratidão pelos meus amigos de graduação, Rafaela, Anny, Jessica, Lays, Isley, Adriene, Julia, Thuanny, vocês desde o início estavam lá, obrigado pelas risadas, aperreios e histórias. Espero encontrar todas vocês num futuro próximo. Aqueles que já se formaram a um tempo também, Mayara, Vanessa, Thais, sucesso para nós.

Gratidão pelas amigas que eu fiz no laboratório, Daniela, Camilla e Nathalia especialmente, muito obrigado pelos ótimos momentos, bons e ruins, lembrarei de todos os nossos dias no espetinho. E todos os que não foram citados, agradeço também, porque de alguma forma me ajudou.

Não posso deixar de agradecer a minha família, que sem eles eu não seria nada, agradeço a minha mãe e ao meu pai por terem me dado a minha base, por tentarem me aconselhar, agradeço ao meu irmão por ser meu irmão e fazer o seu papel. Gratidão.

Por fim, quero agradecer aos meus amigos da vida, aqueles que não fazem parte do meu convívio acadêmico, mas são de suma importância na minha vida, Amanda, Mary, Milca, Flávia, Jéssica, Vinicius, Adriana cada um de vocês tem um lugarzinho especial na minha vida. Agradeço aqueles que estiveram comigo por todos esses anos de graduação, pelas cachaças e viagens, agradeço a Pedro por me apoiar nesse final da graduação, gratidão gente.

RESUMO

Estuários são ambientes dinâmicos, que apresentam oscilações de vários fatores, tais como, salinidade, temperatura e pH. Estes corpos d'água são alimentados por rios que transpassam grandes cidades e sofrem com o despejo de dejetos, como esgoto e descarte de fábricas, comprometendo a capacidade homeostática dos animais estuarinos. Sendo assim, a condição fisiológica de ostras *Crassostrea* sp. foi utilizada como parâmetro para inferir sobre a qualidade do ambiente. Moluscos bivalves são considerados organismos "sentinela" devido possuir características como hábito sésil, e o hábito filtrador, que promove a acumulação poluentes em seus tecidos. Foram escolhidos dois ambientes de estudo, um estuário impactado do Rio Paraíba do Norte, e o Estuário do Rio Mamanguape, que está inserido em uma Área de Proteção Ambiental (APA). Foram realizadas análise morfométrica, índice de condição (IC), teor de hidratação tecidual (TH) das brânquias e músculo e a atividade da enzima anidrase carbônica (AC) nas brânquias e manto. Os resultados demonstraram que as ostras do estuário do Rio Mamanguape são maiores, porém, o índice de condição, o teor de hidratação tecidual e a atividade da AC nas brânquias e manto foram maiores nas ostras coletadas no estuário do Rio Paraíba do Norte. De acordo com os dados, a dificuldade de regulação do teor hídrico nos tecidos das ostras do estuário Paraíba, já que não conseguiram manter o volume celular, bem como uma maior atividade enzimática da anidrase carbônica, que pode ser uma suposta defesa contra a presença de poluente, sugerem que a fisiologia das ostras estão comprometidas em relação as ostras do estuário do Mamanguape. Com isso, concluímos que existem diferenças entre as ostras coletadas nos dois estuários estudados e que a fisiologia das ostras do rio Paraíba do Norte está prejudicada, uma vez que este estuário é conhecido por possuir um maior impacto ambiental.

Palavras – chave: Índice de condição; teor de hidratação tecidual, anidrase carbônica, poluição.

ABSTRACT

Estuaries are dynamic environments, that is, animals that inhabit them suffer from many variations of various factors, such as salinity, temperature and pH. Estuaries are fed by rivers that trespass big cities and suffer from the dumping of waste, such as sewage and disposal plants, which can also affect the physiology of the animals living there. Thus, the physiological condition of oyster *Crassostrea* sp. was analyzed to infer the quality of the environment in which they live. Bivalve molluscs are considered great environmental sentinels because they are sessile and filter feeders that accumulate pollutants in their tissues. We choose two kinds of environments, a polluted area, the estuary of the Rio Paraíba do Norte, and another located within the a protected area, the estuary of the Rio Mamanguape. In addition to morphometry, the following physiological parameters were analyzed; condition index (CI), tissue hydration content (TH) of gills and muscle and the activity of the enzyme carbonic anhydrase (CA) in the gills and mantle. The results showed that the oysters are bigger in the estuary of the Rio Mamanguape, the largest condition index was found at the estuary of the Rio Paraíba do Norte, the tissues have a higher degree of hydration in oysters in the estuary of the Rio Paraíba do Norte, as well as the highest activity of AC in the gills and mantle were found in these animals. The data reveal a greater disturbance of physiology in oysters from the Rio Paraíba do Norte estuary because a higher hydration of the tissues showed a dysregulation of cell volume maintenance, and increased the enzyme activity could be an alleged defense against presence of pollutants. Thus, we conclude that there are differences between the two estuaries oysters collected and studied the physiology of oysters from Rio Paraíba do Norte is impaired, since this estuary is known to possess a greater environmental impact.

Key – words: Condition index; Tissue hydration content; Carbonic Anhydrase; pollution

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mapa de localização das áreas de estudo, estuário do Rio Mamanguape (A) e estuário do Rio Paraíba do Norte (B)	20
Figura 2. Fotografias do local de coleta – Cabedelo – rio Paraíba do Norte – Ponto 2	21
Figura 3. Fotografias do local de coleta – Bayeux – rio Paraíba do Norte – Ponto 1	22
Figura 4. Fotografias do local de coleta – Barra de Mamanguape – Rio Mamanguape – Pontos 1 e 2	23
Figura 5. Ilustração da morfometria (altura, largura e comprimento) dos exemplares coletados	24

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1. Dados abióticos dos locais de coleta	26
Tabela 2. Dados morfométricos dos exemplares	27
Gráfico 1. Índice de condição das ostras <i>Crassostrea sp.</i> coletadas nos pontos 1 e 2 dos estuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte	28
Gráfico 2. Gráfico 2 - Teor de hidratação tecidual das brânquias e músculo de <i>Crassostrea sp.</i> coletadas nos pontos 1 e 2 dos estuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte.....	29
Gráfico 3. Atividade da enzima anidrase carbônica das brânquias e manto de <i>Crassostrea sp.</i> coletadas nos pontos 1 e 2 dos estuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte.....	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. Respostas fisiológicas dos animais no ecossistema estuarino.....	11
1.2. Ações antrópicas sobre o ecossistema estuarino	13
1.3. <i>Crassostrea sp.</i>	14
1.4. Parâmetros fisiológicos analisados	16
1.4.1. Índice de condição	16
1.4.2. Teor de hidratação tecidual	17
1.4.3. Anidrase carbônica	18
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. METODOLOGIA	20
3.1. Local de estudo	20
3.1.1. Rio Paraíba do Norte	20
3.1.2. Rio Mamanguape	22
3.2. Coleta e manuseio dos exemplares	23
3.3. Morfometria	24
3.4. Índice de condição	24
3.5. Teor de hidratação tecidual	24
3.6. Análise da atividade da enzima Anidrase Carbônica	25
3.7. Análises estatísticas	25
4. RESULTADOS	26
4.1. Dados abióticos	26
4.2. Morfometria	26
4.3. Índice de condição	27
4.4. Teor de hidratação tecidual	28
4.5. Análise da atividade da enzima Anidrase Carbônica	29
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

1.1. Respostas fisiológicas de animais no ecossistema estuarino

Estuários caracterizam-se como ambientes semifechados de água, como a foz de um rio ou uma baía costeira, com salinidade intermediária, sendo a ação da maré, um regulador físico importante que promove a mistura entre a água doce e a salgada proporcionando um aporte de energia para o ambiente (Jackson, 2013).

As oscilações de maré, ocasionam mudanças complexas no ambiente aquático estuarino, principalmente na salinidade, temperatura e pH, tornando-o um habitat desafiador para os animais. Essas mudanças acarretam efeitos no balanço osmótico e térmico, nas trocas respiratórias e também influencia nas estratégias de alimentação dos animais (Willmer et al., 2005; Heilmayer et al., 2008). Além das oscilações de maré, as variações de salinidade que ocorrem nos estuários podem ser geradas pela pluviosidade ou por correntes marinhas diluídas. Um dos distúrbios osmóticos é a perda de água para o ambiente, caso a sua concentração osmótica esteja superior à do animal, ou o inverso também pode ocorrer (Schmidt-Nielsen, 2002).

Os animais que vivem no estuário sofrem influência de vários parâmetros mutáveis, porém, temperatura e salinidade são os fatores abióticos mais importantes, e existe uma complexa co-relação entre eles, onde a temperatura possui influência na salinidade, e a salinidade pode modificar os efeitos da temperatura, havendo um efeito sinérgico entre eles (Yanfang & Shichun, 2006; Heilmayer et al., 2008; Kloh, 2011). A elevação da temperatura ocasiona um aumento das reações químicas que estão intimamente relacionadas com o metabolismo do animal, além de influenciar na obtenção e excreção de químicos através da membrana (Nikinmaa, 2014). A salinidade por sua vez, afeta o balanço osmótico e hídrico do animal, pois suas mudanças no meio acarretam perda ou ganho de água, sendo assim, se o animal está num meio hipertônico, suas células perdem água para o meio, porém, se o animal está num meio hipotônico, o corpo incha pela entrada de água (Burton, 1983; Heugens et al., 2001).

Por possuírem uma tolerância e resistência para grandes variações, alguns animais conseguem habitar ambientes desafiadores, como os estuários.

Os animais vivem em diferentes zonas no ambiente e a partir do seu habitat podem ser classificados de acordo com a sua capacidade de suportar alterações de salinidade. São chamados de eurialinos os animais que suportam amplas variações de salinidade, já os estenoalinos suportam apenas estreitas variações de salinidade (Gilles, 1987; Moyes & Schulte, 2010).

Animais eurialinos possuem múltiplos mecanismos para sobreviver em tais ambientes, como os estuários. Estes mecanismos podem ser comportamentais, mecânicos (Audesirk & Audesirk, 1985; Michalec et al., 2010) ou fisiológicos (Burton, 1983). Animais que possuem conchas podem fechá-las quando as condições são adversas para, protegerem-se de choques osmóticos ou contra a dessecação. Outros mecanismos que ajudam na sobrevivência dos animais são alterações na permeabilidade da membrana, mecanismos de transporte iônico e adaptação osmótica da célula (Willmer et al., 2005).

A regulação osmótica dos fluídos corpóreos é de suma importância para que os animais tolerem as oscilações naturais de salinidade do ambiente estuarino. Diante de um estresse osmótico os animais podem apresentar duas estratégias: a osmorregulação, onde o animal mantém a concentração osmótica da hemolinfa diferente da concentração osmótica do meio externo, impedindo que as células sofram um choque osmótico; ou a osmoconformação, na qual os animais permitem que a concentração osmótica do fluído extracelular se iguale com a concentração osmótica do meio, promovendo um choque osmótico na célula que leva a variação do volume celular (Schmidt-Nielsen, 2002; Larsen et al., 2014). Em animais osmoconformadores devido à ausência de transporte ativo entre o meio interno e externo, ocorre uma maior permeabilidade osmótica e iônica dos seus epitélios, e a concentração do fluído extracelular acompanha a variação da salinidade do meio (Yu et al., 2013; Larsen et al., 2014).

Para manter o funcionamento ótimo de seu organismo, animais osmoconformadores possuem uma capacidade de regular o seu volume celular em função das alterações osmóticas do meio externo que afetam o meio interno. Essa capacidade de regulação existe para os dois tipos de meio, hipo e hiperosmótico. Quando o meio está hipotônico as células tendem a inchar e o animal deve realizar o processo de RVD (Regulatory Volume Decrease), caso o

ambiente esteja hipertônico as células dos animais tendem a murchar e o animal deve realizar o processo de RVI (Regulatory Volume Increase) (Wehner et al., 2003; Larsen et al., 2014). No processo de RVD as células dos animais liberam no fluido extracelular osmólitos como íons ou aminoácidos para que a água saia da célula por osmose, assim o meio intracelular atinge um novo equilíbrio osmótico com o meio extracelular que pode estar diluído ou concentrado (Pierce, 1982; Deaton et al., 1989; Deaton, 1992; Souza & Scemes, 2000; Veiga, 2013). O processo de RVI também se dá através de osmólitos, sendo os mais importantes a taurina e betaina, esses são armazenados no interior das células dos animais para que a concentração de soluto seja maior e ocorra a entrada da água (Yancey, 2005). Os moluscos marinhos e estuarinos são animais osmoconformadores e realizam ambos os processos de RVD e RVI quando enfrentam uma variação de salinidade (Larsen et al., 2014).

Segundo Palmer et al. (1995) a ostra *Crassostrea virginica* muda a concentração de peptídeos nas brânquias dependendo da salinidade. Alguns osmoconformadores utilizam como osmólitos, aminoácidos quaternários para mudar a sua concentração osmótica intracelular e assim restabelecer o volume celular. Em alguns bivalves, onde a concentração externa alterna ciclicamente num período de tempo curto há pouco ou nenhum RVD e RVI em muitas de suas células, pois elas podem inchar ou encolher facilmente com a oscilação do meio, já que estão bem adaptadas, sendo previsto uma economia de energia que poderá ser utilizada na tentativa de regular o volume celular em momentos mais críticos. Porém, células do coração e nervos realizam esse processo continuamente (Willmer et al., 2005).

1.2. Ações antrópicas sobre o ecossistema estuarino

As ações antrópicas sobre o meio ambiente resultam em alterações, com forte grau de impacto no equilíbrio de populações e comunidades. O aumento populacional e a necessidade do aumento da produção ocasionou uma expansão da industrialização, adicionando ainda mais impactos ao meio. Essas mudanças afetaram toda a conformação da sociedade e os processos ecológicos, levando a uma maior fragilidade e deixando mais indefeso o meio ambiente (Rodrigues et al., 2009; Castello, 2010).

Devido a urbanização e industrialização são liberados no meio ambiente poluentes como metais pesados, pesticidas, herbicidas, fertilizantes, dentre outros, e a acumulação de poluentes em organismos aquáticos é um processo complicado havendo uma variação significativa de espécie para espécie (Skaggs & Henry, 2002; Shulkin et al., 2003).

Para monitorar os ambientes são utilizados vários artifícios, como o monitoramento da qualidade da água e estudos do solo. Porém, esses estudos não contemplam os efeitos que tais poluentes acarretam nos indivíduos, e para uma análise mais acurada começaram a ser realizados estudos nos animais, para saber o efeito direto desses poluentes nos organismos (Shulkin et al., 2003; Jorge et al., 2013; Morabito et al., 2013; Monroy et al., 2014; Nikinmaa, 2014). Nesse contexto alguns animais são ótimas espécies sentinelas, pois, tem a capacidade de acumular os poluentes nos seus tecidos (Hansen et al., 2007). Um bom exemplo de animal sentinela são as ostras, que por serem animais sésseis, filtradores, bem distribuídos e possuírem uma ampla tolerância a fatores abióticos são excelentes biondicadores de qualidade ambiental (Hansen, 2003; Oehlmann & Oehlmann, 2003).

A influência dos poluentes nos tecidos animais podem ter efeitos deletérios, como por exemplo, lesionar tecidos dos animais, principalmente o branquial (Domingos et al., 2007), afetar a atividade de várias enzimas (Azevedo, 2005; Bianchini et al., 2005; Caricato et al., 2010 Lionetto et al., 2012), influenciar na capacidade dos animais serem infectados por parasitas (Wilson & Burnett, 2000; Sabry et al., 2013), aumentar a mortalidade (Lanning et al 2006), diminuir a capacidade de reprodução (Rebelo et al., 2005) e alterar o balanço osmo-iônico (Amado et al., 2006; 2010).

Os impactos causados no meio ambiente ocorrem devido a vários fatores, um exemplo desses fatores é a falta de saneamento básico em várias cidades. A cidade de Bayeux possui apenas 6% da sua área saneada, e isso acarreta um grande aporte de esgoto para o rio, uma vez que, as casas ribeirinhas liberam os seus dejetos diretamente nas águas do rio, além disso, próximo a este rio existe uma fábrica de cimento, que despeja seus dejetos no corpo aquático (Monteiro, 2014).

1.3. *Crassostrea sp.*

Os moluscos fazem parte de um grupo animal morfológicamente diverso que apresenta uma grande diversidade de bauplans (Brusca & Brusca, 2007). Moluscos de água-doce são osmorreguladores mantendo a concentração osmótica da sua hemolinfa diferente da concentração osmótica do meio externo (Moyes & Schulte, 2010). Os moluscos marinhos são osmoconformadores onde a hemolinfa corresponde a aproximadamente de 30 a 80% das partes moles e a sua composição iônica se assemelha ao meio, porém, a hemolinfa tende a ser mais concentrada em ambientes instáveis, como os costões rochosos e os estuários, em relação a ambientes estáveis como o oceano (Larsen et al., 2014).

As ostras são da família Ostreoidae, pertencentes à classe Bivalvia e são animais abundantes em todo o mundo. Sua distribuição é ampla, desde o Caribe até a América do Sul (Rios, 1994). No bauplan dos bivalves podemos constatar a existência de duas conchas, músculos adutores para o fechamento das valvas, cabeça rudimentar, existência de uma cavidade do manto vasta, também a presença de sífões inalante e exalante (Cummings & Graf, 2010). As ostras são osmoconformadoras e eurialinas e devem sobreviver através da conformação com a salinidade do meio (McMahon & Bogan, 2001; Brusca & Brusca, 2007).

Os bivalves possuem uma grande importância como alimento, pois é rica em carboidratos, possui poucos lipídeos e uma grande quantidade de água (Wakamatsu, 1973). Sua produção na aquicultura é em maior escala na região sul do Brasil, porém, em toda a região costeira existem comunidades que utilizam esses animais como fonte de renda e alimentação (Christo, 2006). Além da sua importância econômica, as ostras possuem uma grande importância ecológica, pois, providenciam a várias populações de peixes, crustáceos e invertebrados um local seguro que funciona como berçários, também representam alimento e habitat; são filtradores naturais de fitoplâncton, detritos, bactérias e contaminantes e são sequestradoras de carbono (Volety et al., 2014).

O gênero *Crassostrea* já foi utilizado diversas vezes como bioindicadoras (Silva et al 2005; Silva et al., 2006). Lee e colaboradores (1996) usaram a ostra *Crassostrea gigas* para monitorar a poluição por metais em uma área costeira de Taiwan; Silva et al (2001) realizaram experimentos com a ostra *Crassostrea*

rhizophorae para monitoração de metais no estuário Potengi, Natal; Zanette et al (2006) estudaram as ostras através de biomarcadores bioquímicos em brânquias em diferentes estuários no Brasil; Volety et al (2009) estudaram a *Crassostrea virginica* para indicar a saúde ambiental da costa sudoeste da Florida, USA.

1.4. Parâmetros fisiológicos analisados

Para a análise da condição fisiológica dos animais, alguns parâmetros fisiológicos foram escolhidos. Um que contemplasse a saúde do animal como um todo, como é o caso do índice de condição; um que demonstrasse o desafio osmótico que esses animais enfrentam no estuário, como é o caso do teor de hidratação tecidual; e a atividade de uma enzima que possui função crucial em vários sistemas fisiológicos, como a anidrase carbônica.

1.4.1. Índice de Condição (IC)

O índice de condição representa um parâmetro utilizado para avaliar a condição do animal perante o meio, sendo utilizado para averiguar como as ostras estão se desenvolvendo, indicando se o despêndio de energia está direcionado para o crescimento das conchas ou vísceras. Quanto maior a proporção das vísceras em relação à concha, melhor o estado fisiológico do animal (Lawrence & Scott, 1982; Lucas & Beninger, 1985). Assim, temos uma relação entre concha e víscera, onde o primeiro parâmetro nos diz se o animal está crescendo em tamanho, e o segundo, no caso as vísceras, nos diz se o animal está aumentando o seus órgãos para um melhor desempenho.

O IC tem sido utilizado tanto para propósitos comerciais, como para ter conhecimento sobre a qualidade do produto para o mercado, mas também para propósitos ecofisiológicos. Sabe-se que as ostras são influenciadas por diversos fatores, como a salinidade, que afeta o balanço osmótico do animal, disponibilidade de alimento, compromete a quantidade de energia do animal, temperatura, está intrinsecamente ligada ao metabolismo, e também a poluentes que desregulam várias enzimas que levam o animal a sua fisiologia ótima (Heugens et al., 2001). Todos esses fatores podem afetar o crescimento do animal. Assim, através do IC podemos inferir sobre como o local onde a ostra se encontra, está afetando sua fisiologia.

Existem na literatura alguns trabalhos utilizando o IC como indicadores da condição do ambiente. Roesijadi & Anderson (1979) analisando o índice de condição em *Macoma inquinata* expostas a óleo, demonstraram uma diminuição do IC, e aumentou a mortalidade; Li et al (2009) analisaram a ecologia das ostras *Crassostrea gigas* em diferentes parâmetros ambientais, os resultados demonstraram um aumento do IC durante o ano, porém uma diminuição antes da desova e um aumento um mês depois; Rebelo e colaboradores (2005) analisaram o índice de condição nas ostras *Crassostrea rhizophorae* em uma lagoa poluída, foi relatado uma mudança do IC de uma estação para outra, onde a estação chuvosa apresentou o maior IC, e as causas para esse resultado foram a liberação de gametas e disponibilidade de matéria orgânica e que metais pesados e parasitas não possuíram tanta influência. Domingos e seus colaboradores (2007) estudaram ostras *Crassostrea rhizophorae* em 3 estuários do Brasil, em diferentes regiões, com diferentes graus de impactos ou poluentes diferentes e chegaram ao resultado que o IC em todos os locais de coleta foram semelhantes, sendo o maior encontrado no estuário de Itamaracá no verão.

1.4.2. Teor de hidratação tecidual

A análise do teor de hidratação tecidual pode ser utilizado para observar a capacidade do animal de regular seu volume celular em função da salinidade do meio, pois o grau de hidratação do tecido reflete o volume de água das células. Sabemos que a poluição afeta os mecanismos de transporte iônico e consequentemente afeta a regulação do volume celular (Franklin et al., 2001; Amado et al., 2012; Morabito et al., 2013; Machado & Soares, 2014), e por isso, analisar as alterações na capacidade de manutenção do teor de hidratação tecidual pode ser um indicador da presença de poluentes no ambiente. A análise desse parâmetro já foi utilizada em muitos trabalhos fisiológicos. Entre os trabalhos realizados temos Shumway (1977) que analisou a mudança da quantidade de água nos tecidos em oito espécies de bivalves em diferentes meios; Gilles (1987) descreveu na sua revisão a regulação de volume celular em invertebrados eurihalinos; Amado (2010) na sua tese mensurou o teor de hidratação tecidual para comparar a capacidade de regulação de volume celular em dois tipos de crustáceos, com estratégias osmorregulatórias diferentes;

Veiga (2013) também na sua tese analisou o teor de hidratação tecidual afim de relatar a capacidade de regulação de volume em moluscos usados na malacocultura no Brasil. Entretanto, estudos utilizando a capacidade de regulação de água tecidual como biomarcador de poluição ambiental não foram encontrados na literatura, embora possa representar uma abordagem bastante interessante, conforme sugere Ayrapetyan (2012).

1.4.3. Anidrase Carbônica (AC)

A anidrase carbônica representa uma das enzimas necessárias para sobrevivência de diversos animais sendo encontrada tanto em procariotos como eucariotos, e é mantida em toda a história evolutiva dos seres vivos, desde bactérias até mamíferos. Suas funções envolvem o equilíbrio ácido-base, secreção, calcificação, fotossíntese, respiração, transporte iônico, entre outros, e ocorre pela hidratação do CO_2 que tem como fórmula: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ (Bundy, 1977, Henry, 1996; Tripp et al., 2001).

A AC é dividida em 5 famílias que não são relacionadas evolutivamente, elas são as famílias α , β , γ , δ e ϵ . A família α é a mais estudada sendo encontradas 16 isoformas em animais, e difere das demais em propriedades cinéticas, distribuição no tecido e localização subcelular, bem como são inibidas de formas diferentes (Tripp et al., 2001). A família β é na sua grande maioria encontrada em plantas superiores, γ encontrada apenas na bactéria *Methanosarcina thermophila* (Alber & Ferry, 1994), a δ -AC foi encontrada na diatomácea marinha *Thalassiosira weissflogi* (Caricato et al., 2010).

Mesmo com diferenças estruturais, os sítios de ligação de todas as classes funcionam, geralmente, com um átomo de zinco para catálise, porém algumas classes usam outros metais além do Zn, como a classe γ que também utiliza o ferro e o cobalto e a classe δ utiliza o zinco e o cádmio (Caricato et al., 2010). Metais como Ag^+ , Cd^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} são conhecidos por inibirem a atividade da AC (Lionetto et al., 2012).

Nos últimos anos a anidrase carbônica vem sendo utilizada como biomarcador de contaminação aquática e é sensível a presença de certos poluentes no meio (Jensen, 2003; Blanchard & Grosell, 2006; Grosell et al., 2007). Na literatura citamos alguns trabalhos realizados para diversos fins com

essa enzima, tais como, Nielsen & Friden (1972) analisaram as propriedades químicas e cinéticas da anidrase carbônica em ostras; Marin & Luquet (2004) analisaram as proteínas das conchas dos moluscos, onde a anidrase carbônica atua na biomineralização; Skaggs & Henry (2002) analisaram o efeito dos metais Ag^+ , Cd^{2+} , Cu^{2+} e Zn^+ na atividade da anidrase carbônica em dois crustáceos eurialinos, *Callinectes sapidus* e *Carcinus maenas*, em *C. sapidus* houve inibição pelos 4 metais, já *C. maenas* se mostrou mais resistente aos poluentes; Ren et al (2014) analisaram a AC no manto de *Hyriopsis cumingii*, foi isolado uma α CA cDNA e submetido a vários parâmetros para analisar sua expressão, diferenças na expressão foi observada nas diferentes idades onde a maior expressão foram nos indivíduos com 1 ano e o local com maior expressão foi o centro do manto, sobre a exposição do ar foi observado que a expressão de HcCA foi up-regulated no dia 2 e down-regulated no dia 3. Caricato e seus colaboradores (2010) estudaram o efeito do cádmio na enzima anidrase carbônica na glândula digestiva do bivalve *Mytilus galloprovincialis* *in vivo* e *in vitro* e pela primeira vez foi demonstrado um aumento, de cerca de 40%, na sua atividade pela presença de um metal pesado.

Uma vez que os poluentes presentes no ambiente aquático podem afetar várias funções fisiológicas dos animais, a intenção desse trabalho foi analisar a condição fisiológica de ostras *Crassostrea* sp. de dois ecossistemas estuarinos para inferir como as mesmas enfrentam os estresses ambientais.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Comparar a condição fisiológica de ostras (*Crassostrea* sp) em dois estuários paraibanos, um sob maior e outro sob menor influência antrópica.

2.2. Específicos

- Analisar a morfometria e o índice de condição de indivíduos coletados em 2 locais de cada estuário
- Analisar o teor de hidratação tecidual das brânquias e músculo de indivíduos provenientes de 2 pontos de cada estuário

- Analisar a atividade da enzima Anidrase Carbônica nas brânquias e no manto de indivíduos coletados em 2 pontos de cada estuário

3. METODOLOGIA

3.1. Local de estudo

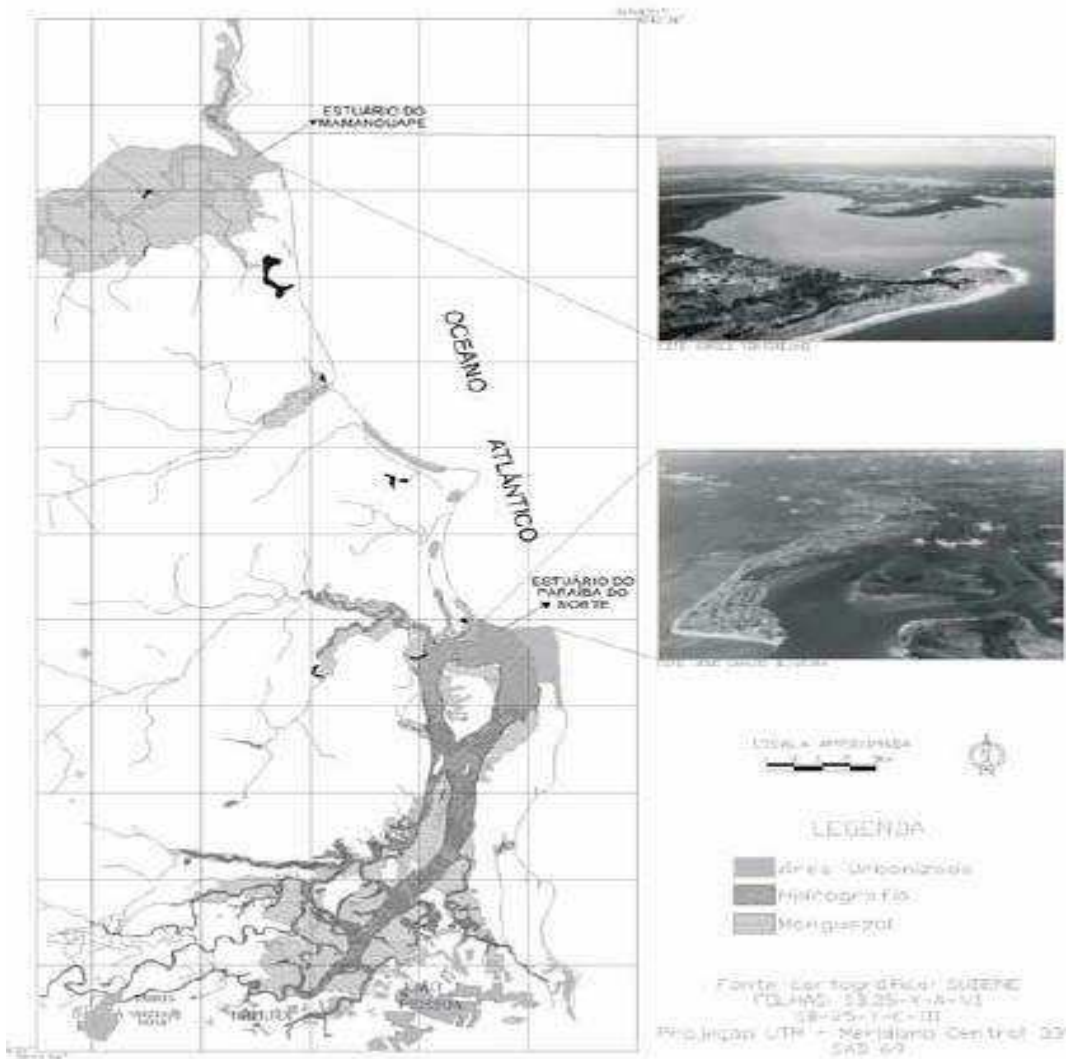


Fig. 1 Mapa de localização das áreas de estudo, estuário do Rio Mamanguape (A) e estuário do Rio Paraíba do Norte (B). Fonte: Nishida et al., 2003.

3.1.1. Rio Paraíba do Norte

O Rio Paraíba do Norte possui uma extensão de 380 km, onde é dividido em Bacia do Alto Paraíba, do Médio Paraíba e do Baixo Paraíba. A Bacia do Baixo Paraíba é onde encontramos as feições estuarinas que se estendem por 20 km, o seu curso está inserido nas cidades de João Pessoa, Bayeux, Santa Rita, Lucena e Cabedelo. Situado entre as latitudes 6°54'14" e 7°07'36" S e as longitudes 34°58'16" e 34°49'31" O. Sul, e 06°56'58" e 07°08'18" Oeste. O

estuário do rio Paraíba do Norte, encontra-se próximo a áreas urbanas industrializadas, abriga mais de 1 milhão de habitantes no seu entorno (IBGE, 2010), acarretando um grande impacto ambiental devido a sua proximidade com a região metropolitana de João Pessoa, por esse motivo suas águas encontram-se num estado de poluição onde foram registrados impactos nas comunidades de peixes, por exemplo (Rodrigues et al., 2009). Alguns rios deságuam na Bacia do Baixo Paraíba, quatro pela margem esquerda (Rios Paroeira, Tiriri, Ribeira e da Guia) e outros três pela margem direita (Rios Sanhauá, Tambiá e Mandacaru), que contribui com o aporte de água superficial com pouca salinidade, como também leva material particulado e poluentes. Ao longo de sua extensão o estuário apresenta áreas de mangue já bastante descaracterizadas, principalmente nas proximidades de aglomerados de ocupação urbana. O desmatamento ocorre devido a construção de loteamentos, criação de camarão, ou mesmo para a exploração do calcáreo presente na região (Guedes, 2002; Silva *et al.*, 2011 (a)).

Foram escolhidos dois pontos para a coleta de exemplares. A escolha se deu pela diferença de salinidade, pois é um parâmetro que define muitos processos fisiológicos em animais osmoconformadores, como também para análise de diferentes fontes de poluição. Os pontos foram nomeados como ponto 1 e ponto 2. O ponto 1 é o local mais próximo da ocupação urbana, onde existe uma fábrica de cimento, e uma salinidade entre 11 e 16. Já o ponto 2 fica próximo a um porto e a ocupação humana se encontra na outra margem do estuário, e a salinidade é relativamente igual à do mar.



Fig 2. - Local de coleta – Cabedelo – estuário do rio Paraíba do Norte, PB – ponto 2.



Fig 3 – Local de coleta – Bayeux – estuário do rio Paraíba do Norte, PB – ponto 1.

3.1.2. Rio Mamanguape

O Estuário da Barra do Mamanguape, litoral norte do Estado da Paraíba, está situado entre as coordenadas 06°43'02" Sul e 35°67'46" Oeste, possui cerca de 25 km de extensão e 2,5 km de largura, e uma área de 14.460 hectares. O estuário abrange os municípios de Marcação e Rio Tinto e está inserido numa Área de Proteção Ambiental (APA da Barra de Mamanguape). Tem um ciclo de maré semidiurna, com uma amplitude de variação máxima de 2,5 metros nas marés sizigiais. Na APA existem cerca de 6000 ha de mangues, representando a maior área conservada de mangues no Estado da Paraíba, além de remanescentes de Mata Atlântica e Mata de Restinga (Embrapa, 2008). O Rio Mamanguape é o de maior importância na drenagem da porção oriental do Estado da Paraíba, com uma diversidade de relevo, clima, tipos de ocupação e atividades econômicas que diferenciam as regiões em seu curso (Alves et al. 2005; Rocha et al., 2008). É considerado um estuário bastante preservado, apesar de apresentar alguns focos de influência antrópica, como desmatamento, cultivo de cana de açúcar e carcinocultura que ocorrem em seu entorno (Nishida et al., 2004; Silva, et al., 2011 (b)).

Foram escolhido dois pontos dentro do rio Mamanguape, mas nesses locais não foi observado influência antrópica, pois a extensão do rio estudado se encontra dentro da APA, sendo sua área preservada. Nesse caso foi utilizado como critério apenas a salinidade e de locais que se assemelhassem com a salinidade do rio Paraíba do Norte, sendo o ponto 1 o local com o menor valor

para salinidade e o ponto 2 o local com uma salinidade relativamente alta, ou seja, semelhante a salinidade do mar. Uma particularidade da coleta no rio Mamanguape é que o ponto 2 é um cultivo de ostras, onde as ostras são cultivadas em gaiolas que os pescadores chamam de velas.

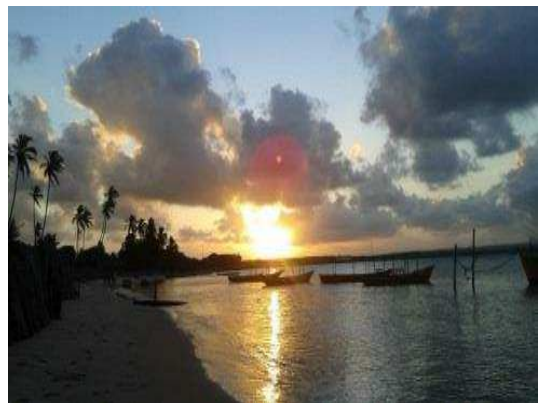


Fig 4 – Local de coleta – APA – rio Mamanguape – pontos 1 e 2.

3.2. Coleta e manuseio dos exemplares

As ostras foram coletadas como dito, ou nas raízes das árvores ou no costão rochoso, foi utilizado um facão para a retirada dos exemplares e posteriormente colocadas em caixas no barco com água até todos os exemplares estarem submersos. Essa retirada foi feita pelos pescadores e com a precaução para não danificar os exemplares.

As caixas foram levadas para o LEFA (Laboratório de Ecofisiologia Animal) – UEPB. Durante as coletas, em todos os pontos, a salinidade e a temperatura da água foram medidas através de uma sonda (HI 9821 com GPS). Foram escolhidos

10 indivíduos de cada ponto para serem abertos para a análise dos seus tecidos (manto, brânquia e músculo).

3.3. Morfometria

Com o auxílio de um paquímetro foram medidas a largura, altura e comprimento dos exemplares para uma caracterização do tamanho dos animais.

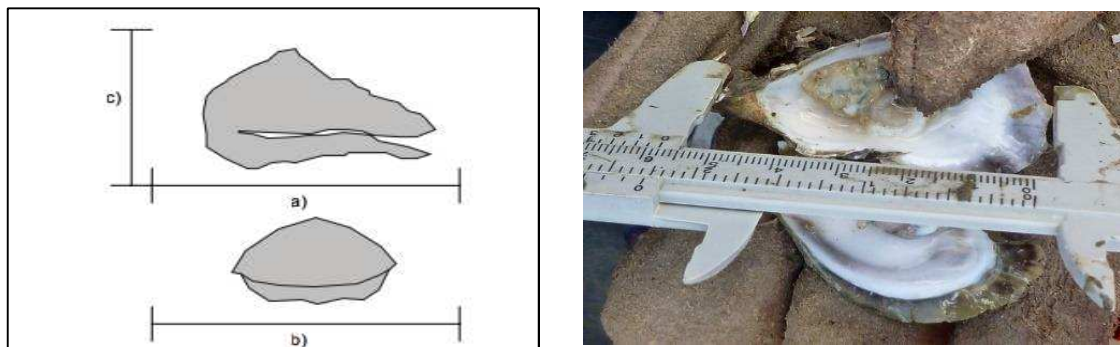


Fig 5 – Demonstração da medição da morfometria (altura, largura e comprimento) dos exemplares coletados.

3.4. Índice de Condição

Após a morfometria, a concha foi aberta com o auxílio de uma faca e o conteúdo visceral total foi retirado e pesado, como também a concha (Lucas & Beninger, 1985). Para calcular o IC foi utilizada a fórmula: $\text{Peso visceral total (PT)} / \text{Peso concha (PC)} \times 100$.

3.5. Teor de hidratação tecidual

Foram analisados o teor de hidratação da brânquia e do músculo adutor. Esses tecidos foram retirados e pesados para determinar o peso úmido (PU). Em seguida foram colocados na estufa por 24 hrs a 60°C e pesados novamente para obtenção do peso seco (PS). O teor hídrico foi calculado através da seguinte equação:

$$\text{Th (\%)} = \frac{(PU - PS)}{PU} \times 100$$

Por um erro metodológico foram perdidas duas amostras de músculo das ostras coletadas no ponto 1 do rio Paraíba do Norte. Para essa condição, o n foi, portanto, = 8. E por um delineamento da amostra, também foram retiradas para os outros parâmetros estudados.

3.6. Análise da enzima Anidrase Carbônica

Para a determinação da atividade da enzima Anidrase Carbônica foi utilizado o método de Vitale e colaboradores (1999). A metodologia consiste na observação da alteração do pH da amostra estudada. A atividade da enzima aumenta a concentração de H^+ na amostra, através da hidratação do CO_2 que resulta em íons H^+ e íons HCO_3^- , portanto, quanto maior a produção de H^+ , menor será o pH da solução analisada. A amostra consiste num homogeneizado do tecido a ser analisado em tampão tris-fosfato (225mM Manitol, 75mM Sacarose, 10mM tris base e 10mM NaH_2PO_4 , pH 7,4) onde é acrescentado água deionizada saturada com gás carbônico (substratos para o funcionamento da enzima).

A preparação do homogeneizado se dá pelo descongelamento do tecido (brânquia ou manto), a sua pesagem e posterior homogenização a 5%P/V em tampão tris-fosfato utilizando um micro-homogenizador (Homomix). O homogeneizado foi centrifugado a 800 g e o sobrenadante foi retirado. Uma amostra do sobrenadante foi utilizada para a medida da atividade da AC e uma outra alíquota foi utilizada para a dosagem de proteínas totais segundo método de Bradford (1976). O resultado foi expresso pela atividade da enzima por mg de proteína total do tecido analisado.

3.7. Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. Para a análise dos parâmetros teor de hidratação tecidual e atividade da anidrase carbônica foi utilizado o teste *t* para realizar as seguintes comparações: comparação entre os tecidos do mesmo ponto em cada estuário (brânquia x manto), comparação do mesmo tecido entre os dois pontos do mesmo estuário (ex.: brânquia ponto 1 x brânquia ponto 2) e comparação do mesmo tecido entre os pontos de estuários diferentes (ex.: brânquia ponto 1 Paraíba x brânquia ponto 1 Mamanguape). Para o índice de condição e morfometria foi utilizado o

teste *Kruskal-Wallis one way ANOVA on ranks* seguido de *Tukey test* para correlacionar todos os pontos. O software utilizado foi o Sigma plot® versão 11.0

4. RESULTADOS

4.1. Dados abióticos

No ponto 1 do rio Paraíba do Norte a salinidade encontrada foi de 12,82 e no rio Mamanguape esse valor foi de 22,5, no ponto 2 as salinidades foram mais altas, pois estão mais próximos ao mar, no rio Paraíba do Norte o valor encontrado foi de 26,7 e no rio Mamanguape 32,33. Outros parâmetros abióticos também foram medidos, entre eles a temperatura e o pH, esses valores estão representados na tabela 1. A escolha dos pontos de coleta, como já mencionado, levou em consideração a salinidade. Foram escolhidos 2 pontos sendo um caracteristicamente de maior salinidade e outro de menor salinidade. Entretanto, na ocasião da coleta se observarmos os dados abióticos, constatamos que há uma diferença na salinidade entre os pontos que supostamente deveriam ser parecidos (ponto 1 x ponto 1 e ponto 2 x ponto 2). Isso provavelmente ocorreu pela pluviosidade do mês em que foram realizadas as coletas. No mês de setembro nas cidades de Bayeux e João Pessoa, choveu 188 mm e 235,9 mm, respectivamente. Não há informações a respeito da pluviosidade da cidade de Cabedelo no site da AESA. Em Mamanguape o índice de pluviosidade foi de 23,4 mm, demonstrando uma maior diluição da água nos locais de coleta do rio Paraíba do Norte em relação aos locais do rio Mamanguape (AESA, 2015).

Tabela 1. Dados abióticos do local de coleta.

	<i>Estuário do Rio Mamanguape</i>		<i>Estuário do Rio Paraíba</i>	
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 1	Ponto 2
<i>Salinidade</i>	22,5	32,33	12,82	26,7
<i>pH</i>	7,72	8,38	7,35	7,72
<i>Temperatura</i>	28,05°C	29 °C	29,86 °C	27,47 °C

4.2. Morfometria

Os dados morfométricos foram utilizados para ter uma melhor observação do desenvolvimento da ostra, sendo assim, após uma análise estatística observamos que as ostras do ponto 1 do estuário do rio Mamanguape apresentaram um maior comprimento e largura, a altura foi estatisticamente igual nas ostras do ponto 1 e 2 do estuário do rio Paraíba do Norte e ponto 1 no estuário do rio Mamanguape e as menores ostras foram encontradas no ponto 2 do estuário do rio Mamanguape, a largura foi estatisticamente igual nos pontos 2 do estuário do rio Paraíba do Norte e Mamanguape. Os dados são demonstrados na tabela 2.

Tabela 2: Valores da média com os respectivos erros padrões da altura, largura e comprimento das ostras coletadas nos dois estuários. Letras diferentes significa diferença estatística, $p < 0,05$, $n = 10$.

	<i>Estuário do Rio Mamanguape</i>		<i>Estuário do Rio Paraíba</i>	
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 1	Ponto 2
<i>Altura (cm)</i>	$2 \pm 0,13^a$	$1 \pm 0,12^b$	$2,15 \pm 0,17^a$	$2 \pm 0,12^a$
<i>Largura (cm)</i>	$5,25 \pm 0,21^c$	$3,1 \pm 0,1^a$	$4,4 \pm 0,24^b$	$3,05 \pm 0,14^a$
<i>Comprimento (cm)</i>	$9,1 \pm 0,26^c$	$5,35 \pm 0,17^a$	$6,45 \pm 0,26^b$	$5,6 \pm 0,17^a$

4.3. Índice de Condição

Para o índice de condição foram obtidos os seguintes resultados: no rio Paraíba do Norte o valor das médias do IC das ostras do ponto 1 foi de $17,96 \pm 1,22$ e no ponto 2 foi $12,67 \pm 0,45$. Para o rio Mamanguape o valor para as médias do índice de condição das ostras no ponto 1 foi de $12,78 \pm 0,44$ e no ponto 2 $11,21 \pm 0,63$.

Segundo as análises estatísticas observamos que os valores dos pontos 1 e 2 do rio Mamanguape e o ponto 2 do rio Paraíba do Norte são similares, apenas o ponto 1 do rio Paraíba do Norte foi diferente estatisticamente (Gráfico 1)

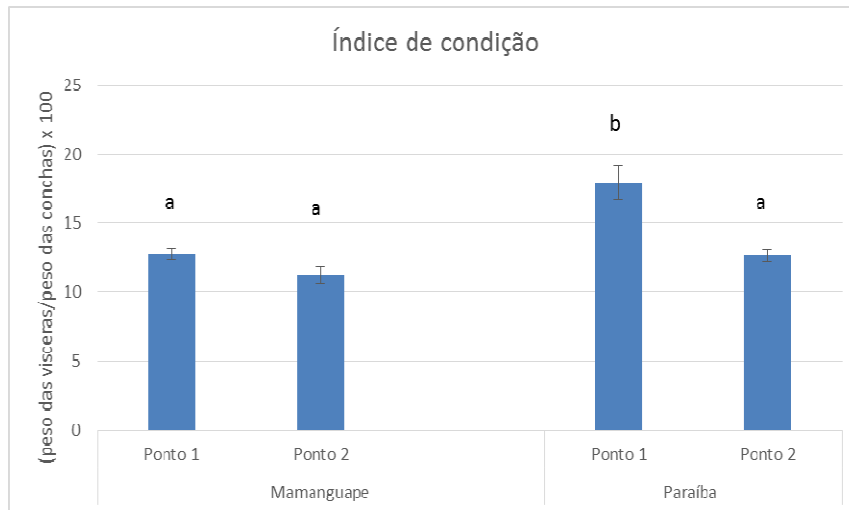


Gráfico 1: Índice de condição das ostras *Crassostrea sp.* coletadas nos pontos 1 e 2 dos estuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de coleta, $p < 0,05$, $n = 8-10$.

4.4. Teor de hidratação tecidual

Em relação às ostras de Mamanguape, não houve diferença significativa entre o teor de hidratação das brânquias das ostras coletadas no ponto 1 ou no ponto 2. Os valores encontrados foram $83,2 \pm 0,4\%$ e $81,3 \pm 0,98\%$, respectivamente. Entretanto, o teor de hidratação do músculo foi menor no ponto 2 ($77,2 \pm 0,16\%$) quando comparado ao ponto 1 ($79,46 \pm 0,4\%$).

Não houve diferença significativa no teor de hidratação das brânquias ($86,21 \pm 0,43\%$, ponto 1 e $85,38 \pm 0,3\%$, ponto 2), nem no teor de hidratação do músculo adutor ($83,24 \pm 0,65\%$, ponto 1 e $81,5 \pm 0,63\%$, ponto 2) das ostras coletadas no Paraíba do Norte.

A comparação entre os dois estuários mostrou que existe diferença no teor de hidratação dos dois tecidos nos dois pontos amostrados entre o estuário Paraíba do Norte e o estuário Mamanguape. As ostras do rio Paraíba do Norte são mais hidratadas do que as ostras de Mamanguape.

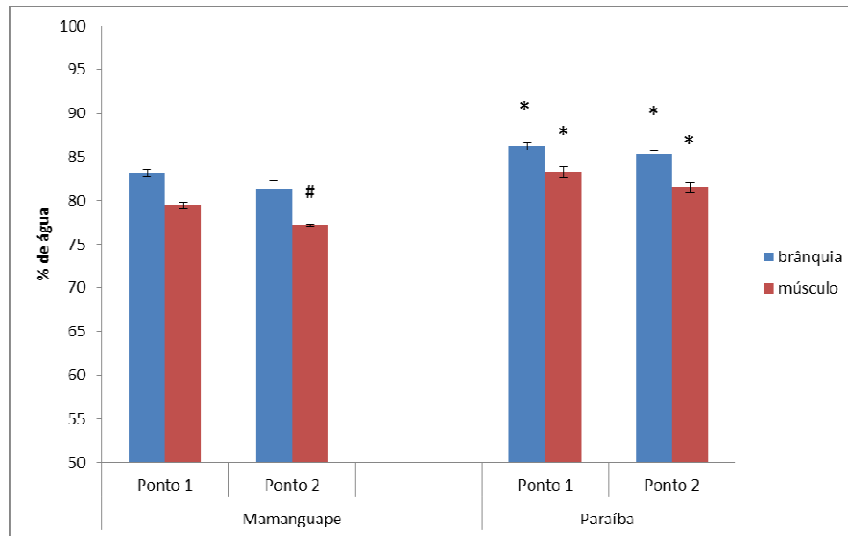


Gráfico 2: Teor de hidratação tecidual das brânquias e músculo de *Crassostrea* sp. coletadas nos pontos 1 e 2 dos esuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte. # indica diferença significativa entre os pontos dentro do mesmo estuário (mesmo tecido) e * indica diferença significativa entre os estuários, $p < 0,05$, $n = 8-10$.

4.5. Anidrase Carbônica

Sobre a análise da atividade da enzima Anidrase Carbônica (AC) foi observado uma diferença entre os estuários, onde a atividade da enzima está maior nas brânquias e manto das ostras coletadas no ponto 1 do estuário do rio Paraíba do Norte quando comparadas com as ostras coletadas no rio Mamanguape.

As brânquias do ponto 2 do rio Paraíba do Norte apresentam o seguinte valor para sua atividade $10,31 \pm 1,81$ atividade específica/mg ptn, porém, não houve diferença estatística entre o ponto 2 e o ponto 1 no mesmo estuário ($7,81 \pm 0,74$ atividade específica/mg ptn), como também não houve diferença entre as brânquias do ponto 2 no rio Mamanguape ($6,96 \pm 1,5$ atividade específica/mg ptn). Entretanto, há uma diferença quando comparada a brânquia do ponto 1 no rio Paraíba do Norte com o ponto 1 no rio Mamanguape, onde os seus valores são $7,81 \pm 0,74$ atividade específica/mg ptn e $5 \pm 0,74$ atividade específica/mg ptn, respectivamente.

Quando analisamos o manto ocorre uma diferença na atividade da anidrase carbônica entre as ostras coletadas no ponto 1 do rio Paraíba do Norte ($9,38 \pm 0,37$ atividade específica/mg ptn) e no ponto 1 do rio Mamanguape ($4,69 \pm 0,3$ atividade específica/mg ptn). Entre os pontos 1 e 2 no rio Paraíba do

Norte, também houve diferença estatística, os valores da atividade da enzima no manto são $9,38 \pm 0,37$ atividade específica/mg ptn e $4,71 \pm 0,46$ atividade específica/mg ptn, respectivamente. Observamos uma diferença entre a atividade do manto nos pontos 1 e 2 no rio Mamanguape, onde temos $4,69 \pm 0,3$ atividade específica/mg ptn e $3,66 \pm 0,8$ atividade específica/mg ptn. Também ocorre uma diferença entre os tecidos, manto e brânquia, no ponto 2 do rio Paraíba do Norte. Para uma melhor visualização os resultados são demonstrado no gráfico abaixo.

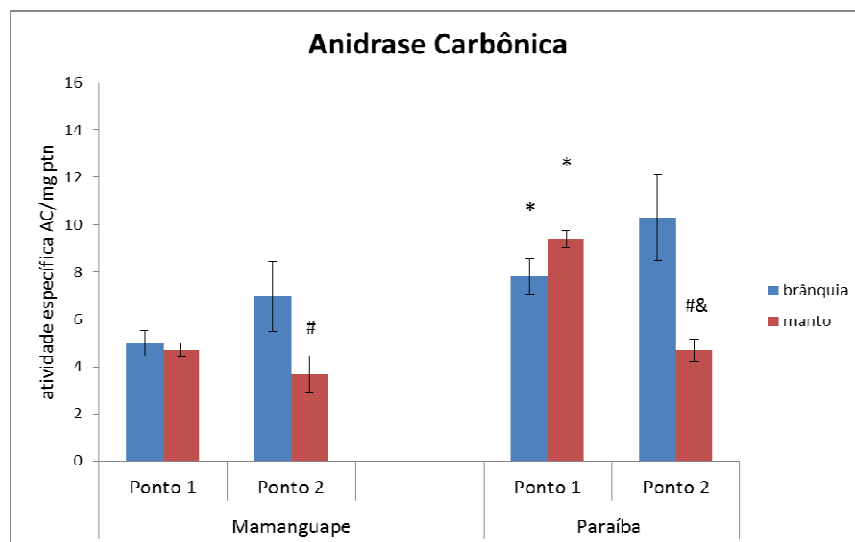


Gráfico 3: Atividade da enzima anidrase carbônica das brânquias e manto de *Crassostrea* sp. coletadas nos pontos 1 e 2 dos estuários dos rios Mamanguape e Paraíba do Norte. # indica diferença significativa entre os pontos dentro do mesmo estuário (mesmo tecido) e * indica diferença significativa entre os estuários, e & indica diferença entre tecidos no mesmo ponto e no mesmo estuário ($p < 0,05$, $n = 8-10$).

5. Discussão

O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a condição fisiológica de ostras encontradas em dois estuários da Paraíba e relacionar essa condição com o grau de interferência antrópica nesses ecossistemas, sem ignorar a influência de fatores abióticos na fisiologia desses animais.

O tamanho das ostras foi mensurado para uma melhor observação da condição dos exemplares e após a análise estatística observamos que as ostras no ponto 1 do rio Paraíba são maiores do que as ostras do ponto 2 no mesmo estuário. Em Mamanguape, as ostras do ponto 1 além de serem maiores do que

as ostras do ponto 2, também são maiores do que as demais. Esses dados indicam que as ostras crescem melhor numa salinidade mais baixa. Existem trabalhos que demonstram que fatores abióticos como salinidade e temperatura influenciam o desempenho das ostras em relação ao crescimento (Mann & Gallager, 1985; Nell & Holliday 1988; Bashevkin & Pechenik, 2015; Marr et al., 2015). Quando as ostras dos pontos de menor salinidade dos dois estuários são comparadas, Mamanguape apresenta indivíduos maiores em comprimento e largura. Esse fato pode ser atribuído ao local ser um cultivo artesanal. Entretanto, analisando os dados do índice de condição (conforme discutido abaixo) percebemos que o peso do conteúdo visceral das ostras do ponto 1 do Paraíba é semelhante ao peso do conteúdo visceral das ostras do ponto 1 de Mamanguape.

Em relação ao índice de condição, foi observado que as ostras do ponto 1 do rio Paraíba do Norte, apresentaram um índice de condição mais alto do que nos outros pontos. Como o índice de condição indica a saúde geral do animal (relação vísceras/concha), esse resultado surpreende, porque esse é o ponto supostamente mais poluído, através de um levantamento feito na área, onde podíamos ver certo grau de impacto. O índice de condição foi calculado a partir de uma fórmula que considera o peso visceral total do animal no numerador da fórmula e o peso total da concha no denominador da fórmula. Se analisarmos os dados brutos das médias do peso das vísceras sobre as médias do peso das conchas, perceberemos que o índice foi maior no ponto 1 do Paraíba porque o denominador (peso da concha) está menor e não porque o numerador (peso das vísceras) está maior.

PB 1	PB 2
$\frac{5,3}{29,9} = 17,96 \pm 1,23$	$\frac{1,6}{13,6} = 12,7 \pm 0,45$
Mam 1	Mam 2
$\frac{6,04}{45,14} = 12,8 \pm 0,44$	$\frac{1,8}{16,64} = 11,21 \pm 0,63$

Como já indicado nos dados de morfometria, as ostras dos pontos 2 são menores, e portanto apresentam peso das vísceras e peso das conchas também menores, porém semelhantes (entre os pontos), e por isso o índice de

condição também semelhantes. No entanto as ostras do ponto 1 do Paraíba tem o peso das vísceras semelhante ao peso das vísceras das ostras do Mamanguape, mas o peso da concha é 35% menor. Por isso um índice de condição maior nesse ponto.

Analisando os dados de morfometria e índice de condição podemos supor que a presença de poluentes no ponto 1 do Paraíba estaria prejudicando o crescimento/peso das conchas das ostras que ali vivem. Sabe-se que a presença de metais no ambiente aquático pode interferir nesse processo. Soto et al., (2000) encontraram uma diminuição no peso das conchas do mexilhão *Mytilus galloprovincialis* na presença de metais como zinco e cádmio.

O baixo peso/crescimento também pode estar relacionado com uma baixa deposição de cálcio na concha. Essa deposição de cálcio está intrinsecamente ligada à atividade da anidrase carbônica do manto, pois é essa enzima que catalisa a deposição de cálcio nos animais com conchas (Freeman, 1960; Yu et al., 2006; Werner et al., 2013; Bharti et al., 2014). Alguns estudos encontraram prejuízo no crescimento da concha de moluscos na presença de inibidores da anidrase carbônica do manto, como 2-benzotiazolesulfonamida (Wilbur & Jodrey, 1955; Freeman 1960). Assim, o menor tamanho/peso da concha poderia estar relacionado com uma inibição/baixa atividade da anidrase carbônica do manto na presença de poluentes uma vez que, embora não existam relatos de inibição da atividade da AC no manto na presença de poluentes, esse tipo de inibição já foi observada em outros tecidos de moluscos, como também em outras espécies aquáticas (Lionetto et al., 1998, 2012; Skaggs & Henry, 2002; Azevedo, 2005) Entretanto nossos resultados da atividade da anidrase carbônica não suportam essa ideia. Ao invés de diminuição, observamos um aumento da atividade dessa enzima tanto no manto, como nas brânquias das ostras do ponto 1, conforme será discutido abaixo. Assim, uma possível inibição da anidrase carbônica não parece ser o motivo do menor crescimento das conchas desses moluscos.

Embora existam alguns trabalhos indicando que animais que vivem em ambientes poluídos apresentam um IC menor do que animais que vivem em ambientes preservados (Veldhuizen – Tsoerkan et al., 1991; Grout & Levings, 2001; Pampanin et al., 2005; Scarlet et al., 2015), resultados como os nossos não foram encontrados na literatura. Domingos et al (2007) analisaram as ostras

Crassostrea rhizophorae em 3 locais, 2 com distintos tipos de poluição e 1 distante da fonte de poluição, os ICs foram semelhantes entre eles. Rebelo et al (2005) também analisaram as ostras *Crassostrea rhizophorae*, foi realizada a relação do IC com metais pesados presentes no ambiente e chegaram à conclusão que a captação de poluentes como o Zn e o Cd não interferem no IC. Esses trabalhos, somados aos nossos resultados, indicam que talvez o IC não seja um bom parâmetro ecotoxicológico.

Um parâmetro para entender a capacidade de regulação do volume celular do animal foi a análise do teor de hidratação tecidual. As ostras são moluscos osmoconformadores e eurihalinos e por isso bons reguladores de volume celular (Shumway, 1977; Akberali & Davenport, 1981 Gilles, 1987; Larsen et al., 2014). Entretanto, nossos resultados do teor de hidratação tecidual demonstram que os tecidos (brânquias e músculo) das ostras dos dois pontos do Paraíba apresentam uma maior quantidade de água quando comparados aos tecidos das ostras de Mamanguape. É verdade que a salinidade dos pontos do Paraíba estavam mais baixas do que as dos pontos de Mamanguape (Ponto 1 Pb 12,82 e Ponto 1 Mam 22,5; Ponto 2 Pb 26,7 e Ponto 2 Mam 32,3). Mas a diferença de salinidade por si só não justifica esse aumento no teor de água tecidual nas ostras do Paraíba. Primeiro porque, espera-se que diante de uma diminuição ou aumento de salinidade, as células desses animais realizem regulação de volume (RVD e RVI) e mantenham seu volume celular e conseqüentemente o teor de água tecidual inalterado. Segundo que se analisarmos os pontos de diferentes salinidades dentro do mesmo estuário perceberemos que não houve diferença no teor de hidratação entre esses pontos, a não ser para o músculo no ponto mais salino de Mamanguape.

Nossos resultados, portanto, sugerem que existe um erro na regulação de volume celular nas ostras do Paraíba, local supostamente mais contaminado, pois, há um acúmulo maior de água nos tecidos desses animais. Isso deve ter ocorrido, porque as células incharam diante da diluição da água do estuário e não realizaram o mecanismo de RVD de forma eficiente. Existem trabalhos na literatura que demonstram o efeito de poluentes na capacidade de regulação de volume celular de vários tipos celulares e/ou tecidos em invertebrados (Bianchini et al., 2005; Amado et al., 2012; Torre et al., 2013).

Experimentos feitos no nosso laboratório (TCC Daniela Dantas David) demonstram que as ostras provenientes do estuário do rio Paraíba do Norte quando submetidas a uma variação de salinidade experimental possuem uma maior dificuldade para regular o seu volume celular e, portanto, manter sua hidratação tecidual.

A anidrase carbônica (AC) é uma importante enzima que possui papel crucial em vários processos biológicos. Sabe-se que a AC é afetada por agentes químicos que podem estar presentes no ambiente aquático em função da atividade antrópica, tais como, metais pesados (Skaggs & Henry, 2002) e pesticidas (Işık et al., 2004; Dogan, 2006), e assim sua atividade foi analisada nesse trabalho com o objetivo de observar a sua sensibilidade aos locais de coleta, pois qualquer alteração em sua atividade influencia diretamente inúmeros processos fisiológicos.

Nossos resultados demonstram uma atividade aumentada da enzima anidrase carbônica nas ostras do ponto 1 do estuário do Paraíba do Norte e em um tecido (brânquia) das ostras do ponto 2 no mesmo estuário. Sabendo que a atividade da AC é inibida por contaminantes (Vitale et al., 1999; Lionetto et al., 2000; Skaggs & Henry, 2002), nossos resultados surpreendem porque a maior atividade da enzima foi encontrada nos pontos supostamente mais poluídos. Entretanto nossos resultados corroboram com o trabalho de Azevedo (2005) realizado com ostras da mesma espécie nos estados de Pernambuco, Espírito Santo e Paraná, onde ela também observou um aumento da atividade dessa enzima para ambientes poluídos. Assim como o trabalho de Caricato e colaboradores (2010) que observaram um aumento da atividade da AC na glândula digestiva do bivalve *Mytilus galloprovincialis* num experimento *in vivo* e *in vitro* através da exposição ao cádmio. Um aumento na atividade da AC também foi observada em anêmonas da espécie *Exaiptasia pallida*, onde Patel & Bielmyer-Fraser (2015) demonstraram um aumento significativo da atividade da AC numa salinidade 20 e numa concentração de 5µm de Cu e Siddiqui et al (2015) observaram um aumento em *E. pallida* numa exposição de 3 dias numa concentração de 10µg/L de CuO.

Analisando os trabalhos citados acima, percebemos que a inibição da AC foi relatada em trabalhos que analisaram a influência de poluentes durante um

estresse de curta duração, Vitale e seus colaboradores (1999) conduziram os seus experimentos num tempo de 96 horas, Skaggs & Henry (2002) realizaram estudos de 7 dias, enquanto os trabalhos que encontraram aumento da atividade ou os animais foram coletados em um ambiente impactado, ou foram submetidos a experimentos de longa duração (acima de 7 dias). Pois, Caricato et al (2010) fez o seu experimento no ambiente com animais exposto ao contaminante por 30 dias, demonstrando um estresse crônico. Esse aumento na atividade em um estresse de longa duração pode estar relacionado, segundo Azevedo (2005) com uma adaptação a presença de poluentes no meio, ou seja, uma forma de defesa para os animais sobreviverem a exposições crônicas desses estresses. Entretanto, mais estudos se fazem necessários para resolver essa questão.

Um fato curioso desse trabalho foi que houve um aumento da atividade da anidrase carbônica para a brânquia, mas não para o manto no ponto 2 do estuário do rio Paraíba do Norte. Essa resposta tecido específica já foi relatada na literatura Lionetto et al (1998, 2000) estudando a atividade da AC no intestino e nas brânquias da enguia *Anguilla anguilla* encontrou que a AC na brânquia é mais sensível a metais do que a AC do intestino. Outro dado que corrobora com a tecido especificidade da inibição da AC foi o resultado encontrado por Soto et al (2000) que relatou uma diminuição do crescimento de ostras na presença de metais pesados, e como discutido, a enzima AC tem papel nesse processo fisiológico, ou seja, podemos inferir que a sua atividade nos tecidos mole está inibida, consequentemente no manto de *Mytilus galloprovincialis*.

Acreditamos que a salinidade não é o motivo para o aumento da atividade da AC, pelo menos no tecido branquial, pois essa enzima não possui um papel fundamental na estratégia de osmoconformação, já que não existem mecanismos para a troca iônica nas brânquias de osmoconformadores como ocorre com os osmorreguladores. A AC é importante para osmorreguladores pois fornece os substratos para a captação ativa de sal através dos trocadores Na^+/H^+ e $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. De fato, Henry e seus colaboradores (2003) através da análise de caranguejos com diferentes estratégias fisiológicas concluíram que ocorre um aumento da atividade da enzima AC em baixas salinidades para uma melhor captura de sal. Porém, quando o caranguejo se encontrava numa salinidade de 32, eles se comportavam como osmoconformadores e a atividade

da enzima diminuía. Vários trabalhos realizados com crustáceos afirmam que a atividade da AC aumenta com a diminuição da salinidade (Henry 2001,2005; Henry et al., 2002). Atividade aumentada da AC em função da salinidade também foi encontrada em moluscos, entretanto apenas em espécies de água doce, que são necessariamente osmorreguladoras (Henry & Saintsing, 1982). Através do exposto, podemos concluir que o aumento da atividade da enzima AC não ocorreu devido a baixa salinidade do estuário Paraíba.

6. Conclusões e considerações finais

Segundo os nossos resultados podemos considerar que:

- Existem diferenças nos TH, IC e AC das ostras coletadas nos estuários estudados;
- As ostras do estuário do rio Paraíba do Norte apresentaram maior disfunção fisiológica;
- As ostras do estuário do rio Mamanguape se encontram mais sadias;
- Parâmetros, tais como, sazonalidade e análise da água devem ser realizados em trabalhos futuros;
- Também irá ser de grande ajuda a averiguação do efeito do tipo de estresse, agudo ou crônico, no animal.

7. Referências Bibliográficas

- AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba. Meteorologia - Chuvas. Paraíba, 2015. Disponível em <<http://site2.aesa.pb.gov.br/aesa/medicaoPluviometrica.do?metodo=chuvasDiariasMa pa>>. Acesso em <2 maio 2015, as 15:35 horas>.
- ALBER, B. E. & Ferry, J. G., 1994. **A carbonic anhydrase from the archaeon *Methanosarcina thermophila***. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 91, pp, 6909 – 6913.
- ALVES, R. R. N.; Nishida, A.K. & Hernandez, M. I.M., 2005. **Environmental perception of gatherers of the crab ‘caranguejo-uca’ (*Ucides cordatus*, Decapoda, Brachyura) affecting their collection attitudes**. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* vol. 1, pp, 1-8.
- AMADO, E. M., 2010. **O efeito do chumbo sobre a fisiologia celular branquial de crustáceos**. Tese de doutorado. Curitiba – UFPR.
- AMADO, E. M.; Freire, C. A. & Souza, M. M., 2006. **Osmoregulation and tissue water regulation in the freshwater red crab *Dilocarcinus pagei* (Crustacea, Decapoda) and the effect of waterborne inorganic lead**. *Aquat. Toxicol.* Vol. 79, pp, 1 – 8.
- AMADO, E. M.; Freire, C. A.; Grassi, M. T. & Souza, M. M., 2012. **Lead hampers gill cell volume regulation in marine crabs: Stronger effect in a weak osmoregulation than in an osmoconformer**. *Aquatic Toxicology*, vol. 106 – 107, pp, 95 – 103.
- AUDESIRK, T. & Audesirk, G., 1985. **The Mollusca**. Neurobiology and Behavior, Part 1, vol. 8, pp, 1 – 94.
- AYRAPETYAN, S., 2012. **Cell hydration as a universal marker for detection of environmental pollution**. *Environmentalist*, vol. 32, pp, 210 – 221.
- AZEVEDO, M., 2005. **A osmorregulação como bioindicador para análise do impacto de contaminantes e avaliação de regiões costeiras brasileiras**. Dissertação de Mestrado. Curitiba – UFPR.

- **BASHEVKIN, S. M. & Pechenik, J. A., 2015. The interactive influence of temperature and salinity on larval and juvenile growth in the gastropod *Crepidula fornicata* (L).** J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 470, pp, 78 – 91.
- **BHARTI, R. K.; Srivastava, S. & Thakur, I. S., 2014. Isolation, purification, characterization and mass spectoscopic analysis of carbonic anhydrase from *Serratia* sp. for sequestration of carbon dioxide and formation of calcite.** Journal of Environmental Chemical Engineering, vol. 2, pp, 31 – 39.
- **BIANCHINI, A.; Playle, R. C.; Wood, C. M. & Walsh, P. J., 2005. Mechanism of acute silver toxicity in marine invertebrates.** Aquatic Toxicology, vol. 72, pp, 67 – 82.
- **BLANCHARD, J. & Grosell, M., 2006. Copper toxicity across salinities from freshwater to seawater in the euryhaline fish *Fundulus heteroclitus*: Is copper an ionoregulatory toxicant in high salinities?.** Aquatic Toxicology, vol. 80, pp, 131 – 139.
- **BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Anal. Biochem, vol. 72, pp, 248-254.
- **BRUSCA, R.C. & Brusca, G.J. 2007. Invertebrados. 2a.ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 968p.**
- **BUNDY, H.F., 1977. Carbonic Anhydrase.** Comp. Biochem. Physiol. Vol. 57B, pp, 1 – 7.
- **BURTON, R. F., 1983. The Mollusca.** Physiology, Part 1, vol. 5, pp, 291 – 352.
- **CARICATO, R.; Lionetto, M. G.; Dondero, F.; Viarengo, A. & Schettino, T., 2010. Carbonic anhydrase activity in *Mytilus galloprovincialis* digestive gland: sensitivity to heavy metal exposure.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, Vol. 152, pp, 241 – 247.
- **CASTELLO, B. F. L., 2010. Avaliação dos teores de As, Cu, Cd, Ni e Zn em ostras, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) nas baías de Paranaguá e Guaratuba, Paraná.** Dissertação de mestrado, Pontal do Paraná – UFPR.

- CHRISTO, S. W., 2006. **Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea sacco*, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): subsídio ao cultivo**. Tese de doutorado, Curitiba – UFPR.
- CUMMINGS, K. S.; Graf, D. L., 2010. **Mollusca: Bivalvia**. Chapter 11. In: Thorp, J.H., Covich, A.P., (Eds.), **Ecology and classification of North American freshwater invertebrates**, 3 ed. Academic press, Boston, MA, pp 309 – 384
- DEANTON, L.E.; Derby, J.G.S.; Subhedar, N. & Greenberg, M.J., 1989. **Osmoregulation and salinity tolerance in two species of bivalve molluscs: *Limnoperna fortunei* and *Mytilopsis leucophaeta***. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 133, pp, 67 – 79.
- DEATON, L.E., 1992. **Osmoregulation and epithelial permeability in two euryhaline bivalve molluscs: *Mya arenaria* and *Geukensia demissa***. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 133, pp, 67 – 79.
- DOGAN, S., 2006. **The *in vitro* effects of some pesticides on carbonic anhydrase activity of *Oncorhynchus mykiss* and *Cyprinus carpio carpio* fish**. J. Hazard. Mater., vol. 132, pp, 171 – 176.
- DOMINGOS, F. X. V.; Azevedo, M.; Silva, M. D.; Randi, M. A. F.; Freire, C. A.; Assis, H. C. S. & Ribeiro, C. A. O., 2007. **Multibiomarker assessment of three Brazilian estuaries using oyster as bioindicators**. Environmental Research, vol. 105, pp, 350 – 363.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2008. **Gestão ambiental territorial na Área de Proteção Ambiental da Barra do rio Mamanguape (PB)**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN 1516 – 4675.
- FRANKLIN, N. M.; Stauber, J. L. & Lim, R. P., 2001. **Development of flow cytometry-based algal bioassays for assessing toxicity of copper in natural waters**. Environmental toxicology and chemistry, vol. 20, pp, 160 – 170.
- FREEMAN, J. A., 1960. **Influence of carbonic anhydrase inhibitors on shell growth of a freshwater snail, *Physa heterostropha***. Biological Bulletin, vol. 118, pp, 412 – 418.

- GILLES, R., 1987. **Volume regulation in cells of euryhaline invertebrates.** Current topics in membranes and transport, vol. 30, pp, 205 - 247
- GINGRAS, M. K.; MacEachern, J. A.; Dashtgard, S. E.; Zonneveld, J. P.; Schoengut, J.; Ranger, M. J. & Pemberton, S. G., 2012. **Estuaries.** Developments in Sedimentology, vol. 64, pp, 463 – 505.
- GROSELL, M.; Blanchard, J.; Brix, K. V. & Gerdes, R., 2007. **Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates.** Aquatic Toxicology, vol. 84, pp, 162 – 172.
- GROUT, J. A. & Levings, C. D., 2001. **Effects of acide mine drainage from na abandoned copper mine, Britannia Mones, Howe Sound, British Columbia, Canada, on transplanted blue mussels (*Mytilus edulis*).** Marine Environmental Research, vol. 51, pp, 265 – 288.
- GUEDES, L. D., 2002. **Monitoramento geoambiental do estuário do rio Paraíba do Norte – PB por meio da cartografia temática digital e de produtos de sensoriamento remoto.** Dissertação de Mestrado. Natal – RN.
- HANSEN, P. D., 2003. **Biomarkers. Bioindicators and biomonitors,** Bioindicators and biomonitors, Chapter 6, pp, 203 – 220.
- HANSEN, P. D.; Blasco, J.; DelValls, T. A.; Poulsen, V. & Heuvel-Greve, M., 2007. **Biological analysis (Bioassays, Biomarkers, Biosensors). Sustainable management of sediment resources: sediment quality and impact assessment of pollutants.** Sustainable management of sediment resources: sediment quality and impact assessment of pollutants, pp, 131 – 161.
- HEILMAYER, O.; Digialleronardo, J.; Qian, L. & Roesijadi, G., 2008. **Stress tolerance of subtropical *Crassostrea virginica* population to the combined effects of temperature and salinity.** Estuarine, Coastal and Shelf Science, vol. 79, pp, 179 – 185.
- HENRY, R. P., 2001. **Environmentally mediated carbonic anhydrase induction in the gills of euryhaline crustaceans.** J. Exp. Biol., vol. 204, pp, 991 – 1002.
- HENRY, R. P., 2005. **Critical salinity, sensitivity, and commitment of salinity-mediated carbonic anhydrase induction in the gills of two**

- euryhaline species of decapod crustaceans.** J. Exp. Zool., part A, vol. 303, pp, 45 – 56.
- HENRY, R. P., Garrelts, E. E., McCarty, M. M. & Towle, D. W., 2002. **Differential induction of branchial carbonic anhydrase and Na⁺/K⁺ - ATPase activity in the euryhaline crab, *Carcinus maenas*, in response to low salinity exposure.** J. Exp. Zool. vol., 292, pp, 595 – 603.
 - HENRY, R. P.; Gehnrich, S.; Weihrauch, D. & Towle, D. W., 2003. **Salinity – mediated carbonic anhydrase induction in the gills of the euryhaline green crab *Carcinus maenas*.** Comparative Biochemistry and Physiology, part A, vol. 136, pp, 243 – 258.
 - HENRY, R.P., 1996. **Multiple roles of carbonic anhydrase in cellular transport and metabolism.** Annu. Rev. Physiol. vol. 58, pp, 523–538.
 - HEUGENS, E. H. W.; Hendriks, A. J.; Dekker, T.; Straalen, N. M. & Admiraal, W., 2001. **A Review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment.** Critical Reviews in Toxicology, vol. 31, pp, 247 – 284.
 - IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Síntese dos Indicadores de 2009. Rio de Janeiro: IBGE; 2010. Disponível em <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=250750> >, Acesso em <12 de novembro de 2014, às 14:55 horas>.
 - IŞIK, S.; Kockar, F.; Ozensoy, F. & Arslan, O., 2004. **Differential *in vitro* effects of some pesticides on CA activities from same freshwater and seawater fish erythrocytes.** Fresen. Environ. Bull., vol. 13, pp, 25 – 29.
 - JACKSON, N. L., 2013. **Estuaries.** Treatise on Geomorphology, vol. 10, pp, 308 – 327.
 - JENSEN, F. B., 2003. **Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, vol. 135, pp, 9 – 24.
 - JORGE, M. B.; Loro, V. L.; Bianchini, A.; Wood, C. M. & Gillis, P. L., 2013. **Mortality, bioaccumulation and physiological responses in**

- juvenile freshwater mussels (*Lampsilis siliquoidea*) chronically exposed to copper.** *Aquatic Toxicology*, vol. 126, pp, 137 – 147.
- KLOH, A. S., 2011. **Tolerância fisiológica do bivalve *Mytella charruana*, dos cirripédios *Amphibalanus reticulatus*, *Fistulobalanus citerosum* e *Megabalanus coccopoma* e potencial invasor.** Dissertação de Mestrado. Curitiba – UFPR.
 - LANNING, G.; Flores, J. F. & Sokolova, I. M., 2006. **Temperature-dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: Pollution reduces temperature tolerance in oysters.** *Aquatic Toxicology*, vol. 79, pp, 278 – 287.
 - LARSEN, E.H.; Deaton, L.E.; Onken, H.; O'Donnell, M.; Grosell, M.; Dantzler, W.H. & Weihrauch, D., 2014. **Osmoregulation and Excretion.** *Comprehensive Physiology*, vol.4, pp, 405 – 573.
 - LAWRENCE, D. R. & Scott, G. I., 1982. **The determination and use of condition index of oysters.** *Estuaries*, vol. 5 n° 1, pp, 23 – 27.
 - LEE, C. L.; Chen, H. Y. & Chuang, M. Y., 1996. **Use of oyster, *Crassostrea gigas*, and ambiente water to assess metal pollution status of the charting coastal area, Taiwan, after the 1986 green oyster incident.** *Chemosphere*, vol. 33, pp, 2505 – 2532.
 - LI, Y.; Qin, J. G.; Li, X. & Benkendorff, K., 2009. **Monthly variation of condition index, energy reserves and antibacterial activity in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Stansbury (South Australia).** *Aquaculture*, vol. 286, pp, 64 – 71.
 - LIONETTO, M. G.; Maffia, M.; Cappelo, M.; Giordano, M. E.; Storelli, C. & Schettino, T., 1998. **Effect of cádmium on carbonic anhydrase and Na⁺-K⁺ATPase in eel, *Anguilla anguilla*, intestine and gill.** *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, vol. 120, pp, 89 – 91.
 - LIONETTO, M.G.; Giordano, M.E.; Vilella, S.; Schettino, T., 2000. **Inhibition of eel enzymatic activities by cadmium.** *Aquat. Toxicol.* vol. 48, pp, 561–571
 - LIONETTO, M. G.; Caricato, R.; Giordano, M. E.; Erroi, E. & Schettino, T., 2012. **Carbonic anhydrase as pollution biomarker: an ancient**

- enzyme with a new use.** Int. J. Environ. Res. Public Health, Vol. 9, pp, 3965 – 3977.
- LUCAS, A. & Beninger, P., 1985. **The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture.** Aquaculture, vol. 44, pp, 187 – 200.
 - MACHADO, M. D. & Soares, E. V., 2014. **Modification of cell volume and proliferative capacity of *Pseudokirchneriella subcapitata* cells exposed to metal stress.** Aquatic toxicology, vol. 147, pp, 1 – 6.
 - MANN, R. & Gallager, S. M., 1985. **Growth, morphometry and biochemical composition of the wood boring molluscs *Teredo navalis* L., *Bankia gouldi* (Bartsch), and *Nototeredo knoxi* (Bartsch) (Bivalvia: Teredinidae).** J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 85, pp, 229 – 251.
 - MARR, M.; Saurel, C.; Landes, A.; Dolmer, P. & Petersen, J. K., 2015. **Growth potential of blue mussels (*M. edulis*) exposed to diferente salinities evaluated by a Dinamic Energy Budget model.** Journal of Marine Systems, vol. 148, pp, 48 – 55.
 - MCMAHON, R. F. & Bogan, A. E., 2001. **Mollusca: Bivalvia. Ecology and classification of North American freshwater invertebrates**, 2 ed., pp, 331 – 429.
 - MICHALEC, F., Souissi, S., Dur, G., *et al.* 2010. **Differences in behavioral responses of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) adults to salinity variations.** Journal of Plankton Research, vol.32, pp, 805 - 813.
 - MONROY, M.; Veiga, A. M. & Sostoa, A., 2014. **Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale environmental concern.** Science of the Total Environment, vol. 487, pp, 233 – 244.
 - MONTEIRO, R. C, 2014. **Um bairro no Mangue: Condições de vida no bairro do Baralho – Bayeux – PB.** Monografia, UFPB – Paraíba.
 - MORABITO, R.; Marino, A. & La Spada, G., 2013. **Heavy metals affect regulatory volume decrease (RVD) in nematocytes isolated from the jellyfish *Pelagia noctiluca*.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, vol. 165, pp, 199 – 206.

- MOYES, C. D. & Schulte, P. M., 2010. **Princípios de Fisiologia Animal**. 2. Ed. – Porto Alegre: Artmed.
- NELL, J. A. & Holliday, J. E., 1988. **Effects of salinity on the growth and survival of Sydney Rock oyster (*Saccostrea commercialis*) and Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae and spat**. Aquaculture, vol, 68, pp, 39 – 44.
- NIKINMAA, M., 2014. **An introduction to aquatic toxicology**. Academic press. Ed Elsevier. 253p.
- NISHIDA, A. K.; Nordi, N. & Alves, R. R. N., 2004. **Abordagem etnoecologica da coleta de moluscos no litoral paraibano**. *Trop. Oceanogr.*, vol. 32, pp, 53-68.
- OEHLMANN, J. & Oehlmann, U. S., 2003. **Molluscs as bioindicators**. Bioindicators and biomonitors, chapter 17, pp, 577 – 635.
- PALMER, P.A.; Friedl, F.E.; Giordano, A.T. & Vesely, D.L., 1995. **Alteration of environmental salinity modulates atrial natriuretic peptide concentrations in the gills of the oyster, *Crassostrea virginica***. *Com. Biochem. Physiol.* Vol. 110A, No. 2, pp, 171 – 178.
- PAMPANIN D.M.; Volpato E. & Marangon I., Nasci C. 2005. **Physiological measurements from native and transplanted mussel (*Mytilus galloprovincialis*) in the canals of Venice. Survival in air and condition index**. *Comp. Biochem. Physiol.*, part A, vol. 140, pp, 41 – 52.
- PATEL, P. P. & Bielmyer-Fraser, G. K., 2015. **The influence of salinity and copper exposure accumulation and physiological impairment in the sea anêmona, *Exaiptasia pallida***. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, vol. 168, pp, 39 – 47.
- PIERCE, S.K., 1982. **Invertebrate cell volume control mechanisms: a coordinated use of intracelular amino acids and inorganic ions as osmotic solute**. *Biol. Bull.*, vol. 163, pp, 405 – 419.
- REBELO, M. F; Amaral, M. C. & Pfeiffer, W. C., 2005. **Oyster condition index in *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) from a heavy-metal polluted coastal lagoon**. *Braz. J. Biol.*, vol. 65, pp, 345 – 351.
- REN, G.; Wang, Y.; Qin, J.; Tang, J.; Zheng, X. & Li, Y., 2014. **Characterization of a novel carbonic anhydrase from freshwater**

- pearl mussel *Hyriopsis cumingii* and the expression. **Profile its transcript in response to environmental conditions.** *Gene*, vol. 546, pp, 56 – 62.
- RIOS, E. C., 1994. **Seashells of Brazil.** Rio Grande, Museu Oceanografia Prof. E. C. Rios da Fundação Universidade de Rio Grande, 2 ed., 368p.
 - ROCHA, M. S. P.; Mourão, J. S.; Souto, W. M. S.; Barboza, R. R. D. & Alves, R. R. N., 2008. **O uso dos recursos pesqueiros no estuário do rio Mamanguape, Estado da Paraíba, Brasil.** *Interciencia*, vol. 33, nº 12, pp, 903 – 909.
 - RODRIGUES, I.; Rodrigues, T. P. T.; Farias, M. S. S. & Araújo, A. F., 2009. **Diagnóstico dos impactos ambientais advindos de atividades antrópicas na margem do rio Sanhauá e Paraíba.** Centro Científico Conhecer, Enciclopédia Biosfera, vol. 5, n 8.
 - ROESIYADI, G. & Anderson, J. W., 1979. **Condition index and free amino acid content of *Macoma inquinata* exposed to oil-contaminated marine sediments.** *Marine Pollution: Functional Responses.*
 - SABRY, R. C.; Gesteira, T. C. V.; Magalhães, A. R. M.; Barracco, M. A.; Guertler, C.; Ferreira, L. P.; Vianna, R. T. & Silva, P. M., 2013. **Parasitological survey of mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, in the Pacoti River Estuary, Ceará State, Brazil.** *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 112, pp, 24 – 32.
 - SCARLET, M. P. J.; Halldórsson, H. P. & Granmo, A., 2015. **Scope of growth and condition index in the clam *Meretrix meretrix* (L.) as biomarkers of pollution in Espírito Santo Estuary, Mozambique.** *Regional Studies in Marine Science*, vol. 1, pp, 63 – 71.
 - SCHMIDT-NIELSEN, K., 2002. **Fisiologia Animal.** 5ª ed., São Paulo, editora Santos.
 - SHULKIN, V. M.; Presley, B. J. & Kavun, V. Ia., 2003. **Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambiente sediments.** *Environmental Internacional*, vol. 29, pp, 493 – 502.

- SHUMWAY, S. E., 1977. **The effect of fluctuating salinity on the tissue water content of eight species of bivalve molluscs.** J. Comp. Physiol., vol. 116, pp, 269 – 285.
- SIDDIQUI, S.; Goddard, R. H.; Bielmyer-Fraser, G. K., 2015. **Comparative effects of dissolved copper and copper oxide nanoparticle exposure to the sea anemone, *Exaiptasia pallida*.** Aquatic Toxicology, vol. 160, pp, 205 – 213.
- SILVA, A. Z.; Zanette, J.; Ferreira, J. F.; Guzenski, J.; Marques, M. R. F. & Bainy, A. C. D., 2005. **Effects of salinity on biomarker responses in *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) exposed to diesel oil.** Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 62, pp, 376 – 382.
- SILVA, C. A. R.; Rainbow, P. S.; Smith, B. D. & Santos, Z. L., 2001. **Biomonitoring of trace metal contamination in the Potengi Estuary, Natal (Brazil), using the oyster *Crassostrea rhizophorae*, a local food source.** Wat. Res., vol. 35, pp, 4072 – 4078.
- SILVA, C. A. R.; Smith, B. D. & Rainbow, P. S., 2006. **Comparative biomonitors of coastal trace metal contamination in tropical South America (N. Brazil).** Marine Environmental Research, vol. 61, pp, 439 – 455.
- SILVA, E. L. P.; Conserva, M. S. & Oliveira, P. A., 2011(a) . **Sociologia do processo de trabalho das pescadoras artesanais do Estuário do Rio Paraíba, Nordeste, Brasil.** Ecologi@, vol. 3, pp, 44 – 56.
- SILVA, K. G.; Paludo, D.; Oliveira, E. M. A.; Lima, R. P. & Soavinski, R. J., 2011 (b). **Distribuição e ocorrência do Peixe-boi Marinho (*Trichechus manatus*) no estuário do rio Mamanguape, Paraíba, Brasil.** Natural Resources, Aquidabã, vol. 1, n. 2, pp, 5 – 14.
- SKAGGS, H. S. & Henry, R. P., 2002. **Inhibition of carbonic anhydrase in the gills of two euryhaline crabs, *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*, by heavy metals.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, vol. 133, pp, 605 – 612.
- SOTO, M.; Ireland, M. P. & Marigómez, I., 2000. **Changes in mussel biometry on exposure to metals: implications in estimation of metal**

- bioavailability in ‘Mussel-Watch’ programmes.** The Science of the Total Environment, vol. 247, pp, 175 – 187.
- SOUZA, M.M & Scemes, E., 2000. **Volume changes in cardiac ventricles from *Aplysia brasiliana* upon exposure to hyposmotic shock.** Comp. Bioch. and Phys., Part A, vol. 127, pp, 99 – 111.
 - TORRE, A.; Trischitta, F. & Faggio, C., 2013. **Effect of CdCl₂ on Regulatory Volume Decrease (RVD) in *Mytilus galloprovincialis* digestive cells.** Toxicology in Vitro, vol. 27, pp, 1260 – 1266.
 - TRIPP, B. C.; Smith, K. & Ferry, J. G., 2001. **Carbonic anhydrase: new insights for an ancient enzyme.** The journal of biological chemistry, vol. 276, nº 52, pp, 48615 – 48618.
 - VEIGA, M.P.T., 2013. **Fisiologia osmorregulatória em Mollusca: *Perna perna*, *Crassostrea gigas* e *Stramonita brasiliensis*.** Tese de doutorado. Curitiba – UFPR
 - VELDHUIZEN – Tsoerkan, M. B.; Holwerda, D. A.; de Bont, A. M.; Smaal, A. C. & Zandee, D. I., 1991. **A field study on stress indices in the sea mussel, *Mytilus edulis*: application of the “stress approach” in biomonitoring programmes.** Biomarkers, vol. 4, pp, 455 – 466.
 - VITALE A.M., Monserrat J.M., Castilho P., Rodriguez E.M. 1999. **Inhibitory effects of cadmium on carbonic anhydrase activity and ionic regulation of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Grapsidae).** Comp. Biochem. Physiol. Part C, vol. 122, pp, 121-129.
 - VOLETY, A. K.; Savarese, M.; Tolley, S. G.; Arnold, W. S.; Sime, P.; Goodman, P.; Chamberlain, R. H. & Doering, P. H., 2009. **Eastern oysters (*Crassostrea virginica*) as an indicator for restoration of Everglades Ecosystems.** Ecological indicators, vol. 9, pp, 120 – 136.
 - VOLETY, A.K.; Haynes, L.; Goodman, P. & Gorman, P., 2014. **Ecological condition and value of oyster reefs of the Southwest Florida shelf ecosystem.** Ecological Indicators. Article in press.
 - WAKAMATSU, T., 1973. **A ostra de Cananéia e seu cultivo.** São Paulo, Superintendência do Desenvolvimento do Litoral Paulista/Instituto Oceanográfico USP, 141p.

- WEHNER, F.; Olsen, H.; Tinel, H.; Kinne-Saffran, E. & Kinne, R. K. H., 2003. **Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport and signal transduction.** Ver. Physiol. Biochem. Pharmacol., vol. 148, pp, 1 – 80.
- WHITFIELD, A. & Elliott, M., 2011. **Ecosystem and biotic classifications of estuaries and coasts.** pp, 99 – 123.
- WERNER, G.D., Gemmell, P., Grosser, S., Hamer, R. & Shimeld, S.M., 2013. **Analysis of a deep transcriptome from the mantle tissue of *Patella vulgata* Linnaeus (Mollusca: Gastropoda: Patellidae) reveals candidate biomineralising genes.** Mar. Biotechnol. vol. 15, pp, 230–243
- WILLMER, P.; Stone, G. & Johnston, I., 2005. **Environmental physiology of animals.** Second edition. Ed. Blackwell Publishing.
- WILLSON, L. L. & Burnett, L. E., 2000. **Whole animal and gill tissue oxygen uptake in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Effects of hypoxia, hypercapnia, air exposure, and infection with the protozoan parasite *Perkinsus marinus*.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, vol. 246, pp, 223 – 240.
- YANCEY, P. H., 2005. **Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses.** The Journal of Experimental Biology, vol. 208, pp, 2819 – 2830.
- YANFANG, Z.; Shichun, S., 2006. **Effects of salinity, temperature and pH on the survival of the nemertean *Procephalothrix simulus* Iwata, 1952.** J. Exp. Mar. Biol. Ecol. (328) 168 – 176.
- YU, X.; Pan, K.; Liu, F.; Yan, Y. & Wang, W., 2013. **Spatial variation and subcellular binding of metals in oysters from a large estuary in China.** Marine Pollution Bulletin, vol. 70, pp, 274 – 280.
- YU, Z.; Xie, L.; Lee, S. & Zhang, R., 2006. **A novel carbonic anhydrase from the mantle of the pearl oyster (*Pinctada fucata*).** Comparative biochemistry and physiology, part B, vol. 143, pp, 190 – 194.
 - ZANETTE, J.; Monserrat, J. M. & Bianchini, A., 2006. **Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, vol. 143, pp, 187 – 195.