

UNIVERSIDADE DE SÃO CARLOS – UFSCar
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS

ELAINE CRISTINA RIBEIRO DA COSTA

**Avaliação de deformidades morfológicas em larvas de *Thalassomya*
(Diptera, Chironomidae, Telmatogetoninae) da costa nordeste brasileira**

SÃO CARLOS
- SP 2023

ELAINE CRISTINA RIBEIRO DA COSTA

**Avaliação de deformidades morfológicas em larvas de *Thalassomya*
(Diptera, Chironomidae, Telmatogetoninae) da costa nordeste brasileira**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de São Carlos
como parte dos requisitos para
conclusão do curso de graduação em
Bacharelado em Ciências Biológicas

Orientadora: Prof^a Dr^a Lívia Maria
Fusari

SÃO CARLOS – SP

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que participaram diretamente e indiretamente no desenvolvimento e finalização deste trabalho.

À Prof. Dra. Livia Maria Fusari, pelas oportunidades, experiências, orientações, paciência, dedicação, compreensão, generosidade e incentivo. Mas, principalmente por acreditar que eu seria capaz e sobretudo, por todo o seu carinho.

Agradeço, além disso, a minha família, principalmente minha mãe e minha avó (Márcia e Helena), pelo amor, carinho e dedicação incondicional. Meu pai (Sebastião) por todo apoio. Meus tios (Daniel e Mary) que seguiram me apoiando e me dando forças, dividindo as tristezas e alegrias dessa graduação. Minha querida sobrinha (Alice) que apenas com um sorriso alegra meu dia.

À Rep Fita e às meninas que moraram comigo, Raissa, Mayara e Luciana, morar com vocês foi a realização de um sonho. Todos os momentos vividos em nosso pequeno apartamento trouxeram-me muitas alegrias e momentos inesquecíveis. Obrigada por toda força, apoio, pelas risadas e as jantãs maravilhosas que compartilhávamos.

À minha grande amiga Jéssica Lopes Tagliatela Navari. Não sei nem dizer o quanto você é especial e como o seu apoio me ajudou a seguir adiante. Obrigada pela amizade, por todas as palavras de incentivo, ensinamentos e por todas as risadas.

Às amigas Laiza, Mainara e Fernanda pelas festas, por tudo o que me ensinaram, pela ajuda nos trabalhos e por todos os momentos maravilhosos que vivemos.

Ao amigo Lucas Rosa, que me acompanha desde sempre, com quem dividi muitas angústias, contudo, muitos momentos bons.

Aos amigos e colegas que passaram pela minha vida e contribuíram para que essa graduação fosse insquecível. Ana, Ariel, Bruno, Carolina, Cecília, Eike, Fábio, Franciane, Jaqueline, Jéssica, João, Jorge, Isabela, Karen, Laís, Ricardo, Thais, Silvia e Yuri.

À amiga Maria Aparecida Jesus Moraes, pelo companherismo, apoio e incentivo.

À CAPES através do projeto Entre Mares (processo 88881.469655/2019-01) pelo financiamento.

Agradeço a alguns professores do curso; cuja paciência e dedicação me incentivaram a seguir carreira na área da educação.

Agradeço muito a todas essas pessoas que estiveram presentes na minha vida e a muitas outras que de alguma forma passaram por ela e marcaram minha trajetória.

Sem vocês, este sonho e objetivo não teria sido realizado jamais!

Dedicatória

Dedico este trabalho a todas pessoas que estiveram presentes na minha vida e a muitas outras que de alguma forma passaram por ela e marcaram minha trajetória.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Distribuição das populações analisadas de <i>Thalassomya gutae</i> (Telmatogetoninae, Chironomidae) nos estados da Bahia, Alagoas e Paraíba.	15
Figura 2 –	Coleta de imaturos	16
Figura 3 –	Comparação e deformidades do mento	19

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	CHIRONOMIDAE MARINHOS	12
2	OBJETIVOS	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1	ÁREA DE ESTUDO	14
3.2	COLETA	16
3.3	ANÁLISE DA CÁPSULA CEFÁLICA	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5	CONCLUSÕES	21
6	BIBLIOGRAFIA	22

RESUMO

Em agosto de 2019 as praias da costa nordestina sofreram com o derramamento de petróleo. Esse evento se tornou o maior derramamento de óleo já registrado no Atlântico Sul em termos de extensão. Aproximadamente em 1004 locais foram registradas manchas de óleo, distribuídas em 130 municípios nos estados nordestinos, Espírito Santos e Rio de Janeiro. Ao atingir a região costeira do Brasil, o óleo contaminou diversos ambientes, tais como mangues, praias, recifes e estuários presentes em aproximadamente 3.000 km da costa que foi impactada por esse material. Ecossistemas marinhos foram diretamente afetados, como, aflorações rochosas entre marés, rodólitos, praias arenosas, sistemas estuarinos, algas marinhas e os recifes de coral. Foi registrada a mortandade de peixes, aves, mamíferos marinhos, tartarugas marinhas, répteis e possivelmente se estendeu aos invertebrados. Dentre os invertebrados aquáticos, a família Chironomidae (Diptera) é reconhecida como bioindicador de qualidade ambiental, além de ser amplamente distribuída e abundante, certas peculiaridades dos quironomídeos favorecem sua utilização em avaliação de impactos ambientais, quando comparados a outros organismos. Em Chironomidae podemos observar diferentes tipos de deformidades decorrente a diversos tipos de contaminação, estas deformidades são usualmente observadas na cápsula cefálica, onde estão inseridas as peças bucais, antenas e pente epifaríngeo. Dentro desse cenário, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto causado sobre as populações de *Thalassomya gutae* através de parâmetros morfológicos em cinco populações afetadas pelo derramamento de óleo cru. Como também, verificar se a presença do petróleo pode causar anomalias morfológicas das larvas nas diferentes populações. Foi registrado 15% de algum grau de deformidade nas populações coletadas em 2020, 11% das larvas coletadas em 2021 apresentaram deformidade, e as populações coletadas em 2016 somente duas larvas apresentaram má formação no mento. Considerando os dados de 2016 como referência, podemos afirmar que o derramamento de óleo cru que ocorreu nos pontos de coleta afetou as populações de Chironomidae. Acreditamos que as populações estejam apresentando anomalias teratogênicas, que surgem devido às alterações no desenvolvimento celular e ao mau funcionamento das mesmas durante o ciclo de vida larval. Concluimos que a espécie *T. gutae* é um bom bioindicador de qualidade ambiental quando as larvas são analisadas. Considerando as adaptações feitas nesse projeto do protocolo de deformidade de mento elaborado pela CETESB utilizados para ambientes continentais, pode ser aplicado para ambiente costeiro também.

Palavras-chave: derramamento de óleo, HPAs, bioindicador

1. INTRODUÇÃO

Em agosto de 2019 as praias da costa nordestina sofreram com o derramamento de petróleo. Esse evento se tornou o maior derramamento de óleo já registrado no Atlântico Sul em termos de extensão e, inicialmente, não se sabia a origem do óleo e tampouco de onde vinha (SOARES et al., 2022). Até o boletim de 21 de janeiro de 2020, aproximadamente em 1004 locais foram registradas manchas de óleo, distribuídas em 130 municípios nos estados nordestinos, Espírito Santos e Rio de Janeiro (IBAMA, 2020).

Ao atingir a região costeira do Brasil, o óleo contaminou diversos ambientes, tais como mangues, praias, recifes e estuários presentes em aproximadamente 3.000 km da costa que foi impactada por esse material. Ecossistemas marinhos foram diretamente afetados, como, aflorações rochosas entre marés, rodólitos, praias arenosas, sistemas estuarinos, algas marinhas e os recifes de coral (SOARES, et al. 2020). Segundo o IBAMA (2020), foi registrada a mortandade de peixes, aves, mamíferos marinhos, tartarugas marinhas, répteis e possivelmente se estendeu aos invertebrados.

Um estudo que avaliou a contaminação dos organismos por compostos tóxicos do óleo, detectou a presença de HPAs em espécies de moluscos, crustáceos e peixes, indicando a contaminação das cadeias alimentares marinhas (MAGALHAES et al., 2022).

Os invertebrados aquáticos são reconhecidos bioindicadores de toxicidade e impactos ambientais (ROSEMBERG & RESH, 1993; GRIFFITHS, 1991) e refletem alterações ambientais, variações nas características físicas, químicas e ecológicas do seu habitat ao longo do espaço e do tempo (COOK, 1976; MILBRINCK, 1983). O petróleo cru pode ter vários efeitos crônicos, como problemas relacionados ao sistema nervoso, anomalias de comportamento e desenvolvimento e fertilidade reduzida (GREEN & TRETT, 1989). O óleo derramado pode também limitar a troca do oxigênio, revestindo as brânquias dos organismos aquáticos e causando lesões patológicas nas superfícies respiratórias (OLIVEIRA-SOARES et al., 2012). Isto pode impedir a colonização ou resultar em vários efeitos letais e subletais aos invertebrados (HOEHN et al., 1974). Ainda, os invertebrados utilizados como alimento humano também são impactados, como camarões, caranguejos, ostras, vieiras, mariscos, entre outros (GRAHAM et al., 2015).

Estudos realizados nos últimos anos (LYTLE & PECKARSKY, 2001; BHATTACHARYYA et al., 2003) mostraram que a abundância e a riqueza de grupos de invertebrados marinhos em ambientes que sofreram impacto por petróleo e ou seus derivados pode declinar em até 90% em relação a ambientes não impactados. Estes autores observaram também que os resíduos do derramamento podem ficar em suspensão na coluna d'água ou na região superficial por vários anos (OLIVEIRA-SOARES et al., 2012). Segundo Perelo (2010), estes resíduos constituídos principalmente por hidrocarbonetos também se acumulam nos sedimentos e substratos, devido aos processos de associação com materiais particulados em suspensão.

Em ambientes dulcícolas, Couceiro et al. (2007) observaram uma redução na abundância e riqueza de invertebrados em córregos no município de Manaus, impactado por petróleo e efluentes domiciliares. Outro estudo com invertebrados aquáticos (COUCEIRO et al., 2010) e sedimentos da região petrolífera de Urucu, no Amazonas, demonstrou que sedimentos contaminados por petróleo e seus derivados apresentam impactos negativos sobre a abundância de organismos e a diversidade desta comunidade.

Dentre os invertebrados aquáticos, a família Chironomidae (Diptera) é reconhecida como bioindicador de qualidade ambiental além de ser amplamente distribuída e abundante (ARMITAGE et al., 1995; FERRINGTON, 2008). O estágio predominante do ciclo de vida é larval, e pode habitar o ambiente terrestre, semiaquático, marinho e dulcícola.

Certas peculiaridades dos quironomídeos favorecem sua utilização em avaliação de impactos ambientais, quando comparados a outros organismos (MERRITT e CUMMINS, 1996, ROSENBERG e RESH, 1993, METCALFE, 1989, HELLAWELL, 1986). Entre essas, pode-se citar: baixo custo de coleta, ampla distribuição nos diferentes sistemas aquáticos continentais, composição de diferentes grupos taxonômicos, que incluem espécies sensíveis e espécies tolerantes às diversas influências antrópicas, alta abundância e sedentarismo (não migram rápido como os peixes, por exemplo), ciclo de vida longo em comparação, por exemplo, com os organismos zooplancônicos e, facilidade de coleta, adequando-se aos requisitos estabelecidos como fundamentais para serem bons indicadores biológicos (CAIRNS e DICKSON, 1971).

Existem diferentes tipos de deformidades que podem ser observadas nos

organismos, mas são usualmente observadas na cápsula cefálica, onde estão inseridas as peças bucais, antenas e pente epifaríngeo (WARWICK, 1990; JEYASINGHAM & LING, 1997).

Estudos têm indicado a ocorrência de deformidades no mento e mandíbulas quando as larvas de Chironomidae são expostas a óleo cru (CUSHMAN, 1984), a metais pesados (PETTIGROVE, 1989; OCHIENG et al. 2008) e contaminação orgânica (NAZAROVA et al., 2004; BURT et al., 2003).

São vários os tipos de deformidades morfológicas observadas nos estudos, não existindo padronização para a classificação. Warwick et al. (1987) consideraram as seguintes assimetrias: Köhn gap, falta de dentes laterais, excesso de dentes e fusão de processos no dente mediano ou nos dentes laterais. Dickman et al. (1992) classificaram as deformidades em “leves”, considerando o mento com irregularidades leves no tamanho e forma, mento quebrado ou lascado, e em “grosseira”, aquelas com dentes fundidos, falta, excesso, bifurcação e assimetria muito pronunciada. Bird et al. (1995) consideraram um mento como deformado caso ele apresentasse dentes extras, falta de dentes (incluindo gap) ou forma assimétrica. Dente gasto ou leve desenvolvimento de uma fissura no dente mediano era considerado como uma variação normal. Kuhlmann et al. (2000) consideraram três tipos de deformidades no mento: gap, falta de dentes e excesso de dentes.

De acordo com Cushman (1984) é difícil avaliar as implicações dessas deformidades para os indivíduos ou populações afetadas. As deformidades na parte da boca podem afetar a alimentação e o crescimento, além de deformidades possíveis nos adultos, por exemplo, adultos com genitais deformados, ocasionando a perda do sucesso reprodutivo.

1.1. CHIRONOMIDAE MARINHOS

Chironomidae é uma das famílias de Diptera mais amplamente distribuídas e abundantes no mundo, tanto em número de espécies quanto em número de indivíduos (CRANSTON, 1995; FERRINGTON, 2008; SÆTHER; ASHE; MURRAY, 2000). Atualmente, são reconhecidas 11 subfamílias de quironomídeos: Aphroteniinae, Buchonomyiinae, Chironominae, Chilenomyiinae, Diamesinae, Orthocleriinae, Podonominae, Prodiamesinae, Tanypodinae, Telmatogetoninae e Usumbaromyiinae (SPIES; REISS, 1996).

Para a Região Neotropical, o último catálogo de Chironomidae neotropicais traz 710 espécies em 155 gêneros (SPIES; REISS, 1996). No Brasil, há registro de 99 gêneros e 659 espécies de Chironomidae (PINHO, 2023), distribuídos em cinco subfamílias: Chironominae, Orthocladiinae, Podonominae, Tanypodinae e Telmatogetoninae. Chironominae, Tanypodinae e Orthocladiinae são amplamente distribuídas, enquanto Telmatogetoninae, representada pelos gêneros *Telmatogeton* e *Thalassomya*, está restrita à região litorânea e Podonominae, representada pelo gênero *Podonomus*, é registrada em áreas de elevada altitude (ROQUE; TRIVINHO-STRIXINO, 2004).

A subfamília Telmatogetoninae constitui um grupo predominantemente marinho. Seus gêneros, *Thalassomya* Schiner, 1856 e *Telmatogeton* Schiner, 1866, estão amplamente distribuídos, sendo encontrados em todas as regiões zoogeográficas, embora *Thalassomya* seja principalmente registrado em regiões de mares mais quentes (ASHE, 1983; CRANSTON, 1989). Encontram-se validadas trinta e uma espécies de *Telmatogeton* e doze espécies de *Thalassomya*.

O grupo está presente, principalmente, em costões rochosos da região entremarés, mais especificamente no médio-litoral e, em muitos casos, em sua franja supralitoral (OLIVER, 1971; NEUMANN, 1976; HASHIMOTO, 1976). No entanto, há registro de espécies vivendo em áreas que recebem escoamento de água doce, onde a salinidade é reduzida, ou, ainda, em ambientes afastados de habitats marinhos periféricos (OLIVER, 1971; HASHIMOTO, 1976).

No Brasil, há o registro de cinco espécies pertencentes à subfamília Telmatogetoninae: *T. atlanticus* Oliveira, 1950, *T. eshu* Oliveira, 2000, *T. nanus* Oliveira, 1950, *T. yamaguchiae* Marigo, Lamas & Fusari, 2020 e *Thalassomya gutae* Neubern, Silva & Trivinho-Strixino, 2013.

Estudos utilizando Chironomidae e petróleo são importantes para avaliar a sensibilidade das espécies a diferentes poluentes. Este estudo é um dos poucos que se pode fazer uma comparação, pela disponibilidade de dados anteriores ao acidente, do ano de 2016. Considerando o derramamento de petróleo na costa nordestina, a avaliação com *T. gutae* foi necessária para entender o comportamento da população diante desse impacto. Dentro desse cenário, este estudo se propôs a avaliar, utilizando parâmetros morfológicos, o impacto do petróleo sobre as larvas das populações de *T. gutae* do nordeste.

2. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar o impacto causado sobre as populações de *T. gutae* através de parâmetros morfológicos. Assim, verificar se a presença do petróleo pode causar anomalias morfológicas das larvas nas diferentes populações.

Objetivos específicos:

- (1) Analisar as estruturas cefálicas e bucais das larvas de *T. gutae*
- (2) Registrar alterações morfológicas nas larvas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDO

Para este estudo foram coletadas exemplares de cinco populações, nas seguintes localizações: Praia de Itapuã, Salvador, Bahia (12°57'10,50"S 38°21'44,51"W); Praia da Ladeira, Japaratinga (9°05'20,58"S 35°15'24,78"W), Praia da Sereia, Maceió (9°34'01,30"S 35°38'49,51"W), Pontal do Coruripe, Coruripe, (10°09'32,18"S 36°08'00,52"W), estes no estado do Alagoas; e Praia de Coqueirinho, Conde, Paraíba (7°19'41,61"S 34°47'41,92"W) (Figura 1). As cinco populações foram selecionadas baseadas no material biológico coletado em 2016 e nas localidades oleadas de acordo com boletins do Ibama (IBAMA, 2020).

A imagem utilizada para ilustrar o panorama das espécies de Telmatogetoninae na costa nordestina foi obtida utilizando o *software* QGIS 3.16.1 (QGIS.ORG, 2020).



Figura 1. Distribuição das populações analisadas de *Thalassomya gutae* (Telmatogetoninae, Chironomidae) nos estados da Bahia, Alagoas e Paraíba.

3.2. COLETA

O material biológico foi obtido a partir de coletas realizadas anteriormente, no período de 2016, e após o derramamento de petróleo na costa nordeste, em 2020 e 2021. Os imaturos foram coletados manualmente com auxílio de pincel de cerdas embebido em etanol 100% e pinça entomológica (Fig 2A - B). As larvas foram fixadas em etanol 100% e mantidos refrigerados.

Os imaturos ficavam no sedimento (Fig. 2C) e entre algas filamentosas. Para coleta, era necessário aguardar a baixa maré para acessar as populações nas aflorações rochosas (Fig. 2D), normalmente submersas.



Figura 2. Coleta de imaturos. A - B, coleta de imaturos com pincel e pinça entomológica; C, larvas de *T. gutae* retiradas do sedimento; D, aflorações rochosas no Pontal do Coruripe, AL.

3.3 ANÁLISE DA CÁPSULA CEFÁLICA E DEFORMIDADES NO MENTO

Foram utilizadas as larvas maduras e grandes, pois garante sua exposição mais prolongada aos agentes causadores de deformidade. Para microscopia, a cápsula cefálica foi separada do corpo da larva com pinça de ponta fina e montada entre lâminas e lamínulas com a parte ventral para cima em meio Hoyer. Esse meio é composto de goma arábica, hidrato de cloral, glicerol e água e é usado para fazer montagens de lâminas semipermanentes para exame da cápsula cefálica ao microscópio.

Após a montagem das lâminas, foram tomadas fotos com auxílio de um câmera fotográfica Canon acoplada ao microscópio, em seguida as imagens foram combinadas automaticamente em uma única imagem com maior profundidade de campo usando o *software* Helicon Focus® e editadas no Photoshop versão Trial.

Para o cálculo das frequências de deformidades, o mento foi considerado deformado quando apresentava: excesso ou falta de dentes, bifurcação central e lateral dos dentes ou Köhn *gap*. Também levou-se em consideração mandíbula com má formação.

A incidência de deformidades foi calculada através da porcentagem de anomalias verificadas no mento, sendo o número de larvas com deformidades dividido pelo número total de larvas analisadas (N) e multiplicado por 100 (protocolo de acordo com Kuhlmann *et al.*, 2012 e Moura e Silva *et al.* 2019).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisamos 287 larvas dentre as cinco populações. Das amostras coletadas em 2020, 120 indivíduos foram analisados, destes 15% apresentaram algum grau de deformidade. Nas amostras de 2021, 87 indivíduos foram analisados e 11% das larvas apresentaram deformidade (Fig. 3). Das populações coletadas em 2016 foram 80 larvas analisadas, e somente duas larvas apresentaram má formação no mento.

Em estudos com o gênero *Chironomus* apresentam uma grande variedade de valores de incidência natural. Warwick (1988) verificou que a incidência de deformidades em locais não poluídos variou de 1% a 14%. Dickman *et al.* (1990) encontraram 9% de incidência de deformidades em *Chironomini* e *Tanytarsini* em Welland River, Ontario, enquanto que Lenat (1993) encontrou 5,4% de deformidades em águas classificadas como limpas. Dermott (1991) e Hudson e Ciborowski (1996) sugeriram que uma incidência de deformidades de 3% é típica de ambiente referência da região dos Grandes Lagos. Nos estudos de incidências de deformidades em Chironomidae nos Grandes Lagos, Canadá, Burt *et al.* (2003) encontrou 3,15% de deformidades em larvas de *Chironomus*.



Figura 3. Comparação e deformidades do mento. A, mento saudável de *T. gutae*. B e E, Köhn *gap*. C e G, falta de dentes laterais. F – H, duplicação de dentes laterais. D, H – I, mandíbula com má formação e ausência de dentes internos.

Considerando os dados de 2016 como referência, podemos afirmar que o derramamento de óleo cru que ocorreu nos pontos de coleta afetou as populações de Chironomidae.

Variações e flutuações em características simétricas existem naturalmente, em porcentagens que variam de acordo com a população de organismos estudada, mas uma

variação além do normal esperado poderia ser um indicativo de alteração do ambiente. Muitos autores tratam essas variações e mudanças na simetria como anormalidades ou deformidades (JOHNSON et al., 1993; SERVIA et al., 1998; WARWICK, 1985).

Brinkhurst *et al.* (1968) foram os primeiros a relatar deformidades em peças bucais de larvas de Chironomidae, indicando que essas deformidades seriam reflexo da contaminação por metais pesados e compostos orgânicos tóxicos. Posteriormente, Hamilton e Sæther (1971) discutiram com mais detalhes as deformidades em larvas de Chironomidae, as quais possivelmente teriam sido causadas por efluentes industriais contendo poluentes agrícolas (inseticidas e fertilizantes).

Segundo Lenat (1993) as deformidades são reflexos da poluição do sedimento por metais pesados e compostos orgânicos tóxicos e não por poluição de efluentes domésticos ou altas cargas orgânicas.

As deformidades em peças bucais de Chironomidae têm sido examinadas em numerosos estudos e experimentos em laboratório, no geral em resposta à ação de contaminantes, tais como metais, Bifenilas Policloradas – PCBs, organoclorados, HPAs, pesticidas, fenol, e esgotos domésticos.

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos presentes no petróleo que apresenta efeitos tóxicos, carcinogênicos e teratogênicos aos organismos que os assimilam. Segundo Dickman et al. (1992) os HPAs agem como teratógeno, os quais iniciam processos que resultam na falta de dentes ou malformação dentária, como deformidades registradas neste estudo. Anomalias teratogênicas surgem devido às alterações no desenvolvimento celular e ao mau funcionamento das mesmas durante o ciclo de vida larval (HUDSON & CIBOROWSKI, 1996). Segundo Kuhlmann et al. (2000), essas deformidades estão associadas à presença de contaminantes químicos no ambiente, como por exemplo, HPAs.

As deformidades consideradas de natureza teratogênica não são transferidas para a geração seguinte, desaparecendo o efeito assim que o agente causador for afastado (BIRD et al., 1995). Mas, ainda segundo esses autores, algumas deformidades que mantêm assimetria bilateral do espécime podem ser mutagênicas, neste caso, passando para a prole. De qualquer maneira, parece não haver inviabilidade da população, servindo como medida de efeitos subletais *in situ*.

Em todas as coletas, após o contato com o óleo cru, as populações se mantiveram em seus locais, como as coletadas em 2016. Em todas as coletas foi possível coletar todos os estágios de vida da espécie. Os dados apresentados demonstram que possivelmente as

populações estejam sofrendo um efeito teratogênico, que aparentemente teve uma leve diminuição no ano de 2021. Entretanto, indicamos mais coletas e um monitoramento a longo prazo para certificar que o efeito esteja diminuindo com a ausência do contaminante.

5. CONCLUSÕES

Todas as populações analisadas são pertencentes à espécie *T. gutae*, o que nos permitiu fazer as comparações de material biológico proveniente de diferentes períodos.

Através da incidência de deformidades do mento das larvas, podemos sugerir que há um efeito teratogênico sobre as populações, entretanto, as deformidades apresentadas são restritas a esse estágio de vida. Entretanto, os HPAs não são suscetíveis à degradação pela maioria dos organismos devido a sua baixa solubilidade em água, ficando bioacumulado na rede trófica.

Acreditamos que as populações estejam apresentando anomalias teratogênicas, que surgem devido às alterações no desenvolvimento celular e ao mau funcionamento das mesmas durante o ciclo de vida larval.

Porém, essas deformidades consideradas de natureza teratogênica não são transferidas para a geração seguinte, desaparecendo o efeito assim que o agente causador for afastado. Devido a essa espécie se tratar de um inseto holometábolo, as deformidades estão restritas à fase larval.

Concluimos que a espécie *T. gutae* é um bom bioindicador de qualidade ambiental quando as larvas são analisadas. Considerando as adaptações feitas nesse projeto do protocolo de deformidade de mento elaborado pela CETESB utilizados para ambientes continentais, pode ser aplicado para ambiente costeiro também.

Há que se considerar ainda que, ao longo do tempo, as características do petróleo mudam e, portanto, os impactos associados também, incluindo efeitos cumulativos em locais nos quais derramamentos são frequentes. Dentro desse tópico, concluimos a necessidade de monitoramento a longo prazo das larvas de *T. gutae* verificando a porcentagem de deformidades no mento.

6. BIBLIOGRAFIA

ARMITAGE, P., CRANSTON, P.S. & PINDER, L.C.V. The Chironomidae. The biology and ecology of non-biting midges. — *Chapman & Hall*, London, p. 572, 1995.

ASHE, P. A catalogue of chironomid genera and subgenera of the world including synonyms (Diptera: Chironomidae). *Entomologica Scandinavica*, Copenhagen, v. 17, p. 3-17, 1983, Supplement.

BIRD, G. A.; SCHWARTZ, W. J.; JOSEPH, L. D. The effect of ^{210}Pb and stable lead on the induction of menta deformities in *Chironomus tentans* larvae and on their growth and survival. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol.14, No.12, p.2125-2130, 1995.

BHATTACHARYYA, S., KLERKS, P. L. & NYMAN, J. A. Toxicity to freshwater organisms from oils and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. *Environmental Pollution*, v. 122, no. 2, p.205-215, 2003.

BRINKHURST, R. O.; HAMILTON, A. L.; HERRINGTON, H. B. Components of the Bottom Fauna of the St. Lawrence Great Lakes. *Great Lakes Institute*, Univ. of Toronto, No. PR33. 50p, 1968.

BRODIN, Y.; EJDUNG, G.; STRANDBERG, J.; LYRHOLM, T. Improving environmental and biodiversity monitoring in the Baltic Sea using DNA barcoding of Chironomidae (Diptera). *Mol. Ecol. Resour*, vol 13, p. 996–1004, 2012.

BURT, J., CIBOROWSKI, J. J.H. & REYNOLDSON, T. B. Baseline Incidence of Mouthpart Deformities in Chironomidae (Diptera) from The Laurentian Great Lakes, Canada. *Journal of Great Lakes Research*, p. 172-180, 2003.

CAIRNS, J. JR. & DICKSON, K. L. A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharges on aquatic bottom-dwelling organisms. *Water Pollution Control Federation*, p.755–772, 1971.

CHENG, L.; HASHIMOTO, H. The marine midge *Pontomyia* (Chironomidae) with a description of females of *P. oceana* Tokunaga. *Syst Entomol*, Oxford, v. 3, p. 189- 196, 1978.

COOK, S. E. Quest for an index of community structure sensitive to water pollution. *Environmental Pollution*, p. 268-287, 1976.

COUCEIRO, S. R. M., HAMADA, N., FERREIRA, R. L. M., FORSBERG, B. R. &

SILVA, J. O. Domestic Sewage and Oil Spills in Streams: Effects on Edaphic Invertebrates in Flooded Forest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Water, Air & Soil Pollution*, v.180, p.249- 259, 2007.

COUCEIRO, S. R. M., HAMADA, N., FORSBERG, B. R. & PADOVESI-FONSECA, C. Effects of anthropogenic silt on aquatic macroinvertebrates and abiotic variables in streams in the Brazilian Amazon. *Journal of Soils Sediments*, v.10, p.89-103, 2010.

CRANSTON, P. S. The adult males of Telmatogetoninae (Diptera: Chironomidae) of the Holarctic region: keys and diagnoses. *Entomologica scandinavica*, Copenhagen, v. 34, pt. 3, p. 17-22, 1989. Supplement.

CRANSTON, P. S. Introduction. In: ARMITAGE, P. D.; CRANSTON, P. S.; PINDER, L. C. V. (eds). *The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges*. London, UK: Chapman & Hall, p.1-7, 1995.

CUSHMAN, RM., Chironomid deformities as indicators of pollution from a synthetic, coal-derived oil. *Freshwater Biology*, vol. 14, no. 2, p. 179-182, 1984.

DERMOTT, R.M. Deformities in larval Procladius spp. and dominant Chironomini from the St.Clair River. *Hydrobiologia*, vol. 219, p.171-185, 1991.

DICKMAN, M.; YANG, J.R.; BRINDLE, I. D. Impacts of Heavy Metals on higher aquatic plant, diatom and benthic invertebrate communities in the Niagara River watershed near Welland, Ontario. *Water Pollution Research Journal of Canada*, vol 25, no.2, p.131-159, 1990.

DICKMAN, M.; BRINDLE, I.; BENSON, M. Evidence of Teratogens in Sediments of The Niagara River Watershed as Reflected by Chironomid (Diptera: Chironomidae) Deformities. *J. Great Lakes Research*. vol.18. no.3, p. 467-480, 1992.

EKREM, T.; WILLASSEN, E.; STUR, E. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, vol. 43, p. 530–542, 2007.

EKREM, T.; STUR, E.; HEBERT, P.D.N. Females do count: Documenting Chironomidae (Diptera) species diversity using DNA barcoding. *Org. Divers. Evol.*, vol. 10, p. 397–408, 2010.

EPLER, J. H. Biosystematics of the genus *Dicrotendipes* Kieffer, 1913 (Diptera: Chironomidae: Chironominae) of the world. *Memoirs of American Entomological Society*, Philadelphia, v. 36, p. 1-214, 1988.

FERRINGTON, L.C., JR. (2008) Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 447–455.

- GOWER, J. Generalized Procrustes analysis. *Psychometrika*. 1975; 40:33–51.
- GRAHAM, L., HALE, C., MAUNG-DOUGLASS, E., SEMPIER, S., SWANN, L., AND WILSON, M. (2015). Oil Spill Science: The Deepwater Horizon Oil Spill's Impact on Gulf Seafood. MASGP-15-014.
- GREEN, J. & TRETT, M.W. (1989) The Fate and Effects of Oil in Freshwater. Elsevier Applied Science, London.
- GRIFFITHS, R. W. (1991) Environmental quality assessment of the St Clair River as reflected by the distribution of benthic macroinvertebrates in 1985. *Hydrobiologia*, v. 219: pp. 143-164.
- HAMILTON, A. L.; SÆTHER, O. A. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *Canadian Entomologist*, 103: 363-368, 1971.
- HASHIMOTO, H. Non-biting midges of marine habitats (Diptera: Chironomidae). In: CHENG, L. (ed.). *Marine Insects*. Amsterdam: North-Holland, 1976. ch. 14. p. 377- 414.
- HEBERT, P.; CYWINSKA, A.; BALL, S.; DE WAARD, J. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B* 2003, 270, 313–321.
- HELLAWELL, J.M. (1986) Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. In: Melanby, K., Ed., *Pollution Monitoring Series*, vol. 17, p. 546.
- HOEHN, R. C., STAUFFER, J. R., MASNICK, M. T. & HOCUTT, C. H. (1974) Relationships between sediment oil concentrations and the macroinvertebrates present in a small stream following an oil spill. *Environmental Letters*, v. 7: pp. 345–352.
- HUDSON, L. A.; CIBOROWSKI, J. J. H. Teratogenic and genotoxic responses of larval *Chironomus salinarius* group (Diptera: Chironomidae) to contaminated sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:1375-1381, 1996.
- IBAMA. Localidades Oleadas no Litoral Brasileiro Identificadas a partir de 30/Agosto/2019. 2020. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/manchasdeoleo-localidades-atingidas>
- JEYASINGHAM, K.; LING, N. Head capsule deformities in *Chironomus zealandicus*

(Diptera: Chironomidae), influence of site and substrate. *New Zealand J. mar. Freshwat. Res.* vol. 31, p. 175–184, 1997.

JIRAKANJANAKIT N, DUJARDIN JP. Discrimination of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) laboratory lines based on wing geometry. *Trop Med Public Health*, vol. 36, no. 6, p. 858-61, 2007.

KUHLMANN, M. L.; HAYASHIDA, C. Y.; ARAÚJO, R. P. A. Using *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) mentum deformities in environmental assessment. *Acta Liminol. Bras.*, vol. 12, p. 55-61, 2000.

KUHLMANN, M. L.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; OGURA, L. L.; IMBIMBO, H. R. V. Protocolo para o Biomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do Estado de São Paulo. CETESB, 2012. 113 p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>. Acesso em: nov. 2020.

LENAT, D. R. Using mentum deformities of *Chironomus* larvae to evaluate the effects of toxicity and organic loading in streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* vol. 12, no. 3. p. 265-269, 1993.

LUNDRIGAN, B., ANTHONY, M., GARLAND Jr, T. Developmental regulation of skull morphology. I. Ontogenetic dynamics of variance. *Evol. Dev.*, vol 6, p. 194–206, 2004.

LYTLE, D. A. & PECKARSKY, B. L. Spatial and temporal impacts of a diesel fuel spill on stream invertebrates. *Freshwater Biology*, v 46, p. 693-704, 2001.

MAGALHAES, K M; CARREIRA, R S; ROSA, J S; ROCHA, P P; SANTANA, F M; YOGUI, G T. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 175, 2022.

MARIGO, T. C., LAMAS, C. J. E.; FUSARI, L. M. A new marine intertidal chironomid from the Brazilian coast (Diptera: Chironomidae: Telmatogetoninae). *Zootaxa*, Auckland, v. 4763, n. 1, p. 117-124, 2020.

MATTHEW D. DEAN & J. WILLIAM O. BALLARD. Factors affecting mitochondrial DNA quality from museum preserved *Drosophila simulans*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* vol. 98. p. 279–283, 2001.

MERRITT, R.W.; CUMMINS, K.W. An Introduction to the aquatic insects of North America. 3 ed. Iowa: Kendall / Hunt Publishing Company, p. 862, 1996.

METCALFE, J. (1989) Biological Water Quality Assessment of Running Waters Based on Macroinvertebrate Communities: History and Present Status in Europe. *Environmental Pollution*, vol. 60, p. 101-139.

MILBRINK, G. (1983) An improved environmental index based on the relative abundance of Oligochaete species. *Hydrobiologia*, v. 102, p. 89-97.

MONTAÑO-CAMPAZ, M. L.; GOMES-DIAS, L.; TORO RESTREPO, B. E.; GARCÍA-MERCHÁN, V. H. Incidence of deformities and variation in shape of mentum and wing of *Chironomus columbiensis* (Diptera, Chironomidae) as tools to assess aquatic contamination. *PLoS ONE*, v. 14, n. 1, e 0210348, 2019.

MOURA E SILVA, M. S. G.; MARIGO, A. L. S.; VIVEIROS, W.; KUHLMANN, M. L. Frequency of mentum deformity in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) in a laboratory culture. *Rev. Ambient. Agua*, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2019.

NAZAROVA, L. B., WOLFGANG, R., ANTJE, K. & BERND, W. Some Observations Of Buccal Deformities in Chironomid Larvae (Diptera: Chironomidae) from the Ciénaga Grande De Santa Marta, Colombia. *Caldasia*. vol. 26, no.1, p. 275-290, 2004.

NEUMANN, Dietrich. Adaptations of chironomids to intertidal environments. *Annu Rev Entomol*, Palo Alto, v. 21, p. 387-414, 1976.

OCHIENG, H., RUYTER VAN STEVENINCK, E. D. & WANDA, F. M., Mouthpart deformities in Chironomidae (Diptera) as indicators of heavy metal pollution in northern Lake Victoria, Uganda. *African Journal of Aquatic Science*, vol. 33. no. 2, p. 135–142, 2008.

OLIVER, D. R. Life history of Chironomidae. *Annu Rev Entomol*, Palo Alto, v. 16, p. 211-230, 1971.

OLIVEIRA, S.J. Sobre duas novas espécies neotrópicas do gênero *Telmatogeton* Schiner, 1866 (Diptera, Chironomidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 48, p. 369–477, 1950.

OLIVEIRA, S.J. Contribution to the knowledge of the Brazilian marine chironomids. I. Description of a new of the genus *Telmatogeton* Schiner, 1866 (Diptera, Chironomidae, *Telmatogetoninae*). *Late 20th Century Research on Chironomidae: an Anthology from the 13th International Symposium on Chironomidae*, p. 197–200, 2000.

OLIVEIRA-SOARES, I., FERREIRA, M. J. N., SILVA, S. L. R., WAICHMAN, A. V. & GASNIER, T. R. (2012) Efeito da contaminação da água por petróleo sobre a fauna de invertebrados aquáticos associada à *Salvinia auriculata* Aublet (Salvineaceae) e seu uso como bioindicadora de poluição ambiental. In: Marcon, J. L., Menin, M., Araújo, M. G. P. & Hrbek, T. (eds.) Biodiversidade Amazônica: caracterização, ecologia e conservação. Manaus: Edua.

OLIVEIRA, C.S.N., SILVA, F.L., TRIVINHO-STRIXINO, S. (2013) *Thalassomya gutae* sp. n., a new marine chironomid (Diptera: Chironomidae: Telmatogetoninae) from the Brazilian coast. *Zootaxa*, vol. 3701, no. 5, p 589–595.

PINHO, L. C. 2023. In: Catálogo taxonômico da fauna do Brasil. [S.l.]. Disponível em: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/2>. Acesso em: 23 agosto, 2023.

PRAMUAL, P., KUVANGKADILOK, C., BAIMAI, V. & WALTON, C. Phylogeography of the black fly *Simulium tani* (Diptera: Simuliidae) from Thailand as inferred from mtDNA sequences. *Molecular Ecology*. vol. 14, p. 3989–4001, 2005.

PERELO, L. W. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of Hazardous Materials*, v. 177, p. 81-89, 2010.

PETTIGROVE, V. Larval mouthpart deformities in *Procladius paludicola* Skuse (Diptera: Chironomidae) from the Murray and Darling Rivers, Australia. *Hydrobiologia*, vol. 179, p. 111–117, 1989.

QGIS.ORG. QGIS Geographic Information System. Versão 3.16.1, 2020. Disponível em: <http://www.qgis.org>. Acesso em: 24 nov. 2020.

ROHLF, F. D. Slice. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, vol. 39, p. 40–59, 1990.

ROHLF, J. Relative warps V. 1.45. *Ecology & Evolution*, SUNY at Stony Brook. New York, National Science Foundation Grant Deb- 0212023. 2007.

ROHLF, F. The tps series of software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*. vol 26, no. 1, p. 9–12, 2015.

ROQUE, F. O.; TRIVINHO-STRIXINO, S. *Podonomus pepinelli* n. sp., first record of the genus and subfamily from Brazil (Chironomidae: Podonominae). *Zootaxa*, Auckland, vol. 689, p. 1-7, 2004.

ROSENBERG, D. M. & RESH, V. H. (ed.), (1993) Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. New York: Chapman & Hall.

SÆTHER, O. A.; ASHE, P.; MURRAY, D. E. Family Chironomidae. In: PAPP, L.; DARVAS, B. (ed.). Contributions to a manual of Palaearctic Diptera (with special reference to the flies of economic importance). Budapest: Science Herald, vol. 4, p. 113-334, 2000.

SERVIA, M.J.; COBO, F.; GONZÁLEZ, M.A. Deformities in larval *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) and their use as bioindicators of toxic sediment stress. *Hydrobiologia*, vol. 385, p. 153-162, 1998.

SILVA, F.L.D.; EKREM, T.; FONSECA-GESSNER, A.A. DNA barcodes for species delimitation in Chironomidae (Diptera): A case study on the genus *Labrundinia*. *Can. Entomol.*, vol. 145, p. 589–602, 2013.

SINCLAIR CS, GRESENS SE. Discrimination of *Cricotopus* species (Diptera: Chironomidae) by DNA barcoding. *Bull Entomol Res.*, vol. 98, no. 6, p. 555-63, 2008.

SOARES, M.O., TEIXEIRA¹, C.E.P., BEZERRA¹, L.E.A., ROSSI, S., TAVARES, T. & CAVALCANTE R.M. Brazil oil spill response: Time for coordination. *Science*, vol. 367, no. 6474, p. 155, 2020.

SONG C, WANG Q, ZHANG R, SUN B, WANG X. Exploring the utility of DNA barcoding in species delimitation of *Polypedilum* (*Tripodura*) non-biting midges (Diptera: Chironomidae). *Zootaxa*, vol. 4079, no. 5, p. 534-50, 2016.

SPIES, M.; REISS, F. Catalog and bibliography of Neotropical and Mexican Chironomidae (Insecta, Diptera). *Spixiana*, München, v. 22, p. 61-119, 1996. Supplement.

STRAMMA, L. 1989. The Brazil Current transport south of 23°S. *Deep-Sea Res.*, vol. 36, no. 4, p. 639-646, 1989.

WARWICK, W.F. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus* Meigen. *Canadian Journal of Fisheries of and Aquatic Sciences*, vol. 42, p. 1881-1914, 1985.

WARWICK, W.F.; FITCHKO, J.; MCKEE, P.M.; HART, D.R.; BURT; A.J. The incidence of deformities in *Chironomus* spp From Port Hope Harbour, Lake Ontario. *J.Great Lakes Res.* vol. 13, no. 1, p. 88-92, 1987.

WARWICK, W.F. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae as biological indicators of toxic stress. Pp. 281-320. In: EVANS, M.S. (ed.). Toxic Contaminants and Ecosystem Health; a Great Lakes Focus. Nova York: Wiley and Sons, vol. 45, no. 7, p. 602, 1988.

WARWICK, W.F. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae from the Lac St. Louis and Laprairie Basins of the St. Lawrence River. *J.Great Lakes Res.*, vol. 16, no. 2, p. 185-208, 1990.

WRIGHT S. *Evolution and the Genetics of Populations Volume 4*. Chicago: University of Chicago Press. 1978.