

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

JOSÉ RODOLFO DE LIMA E SILVA

**SAZONALIDADE DE IMPACTO AMBIENTAL DECORRENTE DO FLUXO
TURÍSTICO EM PORTO DE GALINHA – IPOJUCA (PE) AVALIADA POR DANOS
GENÔMICOS EM *ABUDEFDUF SAXATILIS***

Recife

2021

JOSÉ RODOLFO DE LIMA E SILVA

**SAZONALIDADE DE IMPACTO AMBIENTAL DECORRENTE DO FLUXO
TURÍSTICO EM PORTO DE GALINHAS – IPOJUCA (PE) AVALIADA POR
DANOS GENÔMICOS EM *ABUDEFDUF SAXATILIS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientadora: Dra. Mônica Lúcia Adam

Recife

2021

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Silva, José Rodolfo de Lima e

Sazonalidade de impacto ambiental decorrente do fluxo turístico em Porto de Galinhas – Ipojuca (PE), avaliada por danos genômicos em *Abudefduf saxatilis* / José Rodolfo de Lima e Silva - 2021.

76 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Mônica Lúcia Adam

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Monitoramento ambiental 2. Praias 3. Genotoxicidade
I. Adam, Mônica Lúcia (Orientadora) II. Título

597.72 CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-353

JOSÉ RODOLFO DE LIMA E SILVA

Orientadora: Dra. Mônica Lúcia Adam

**SAZONALINIDADE DE IMPACTO AMBIENTAL DECORRENTE DO FLUXO
TURÍSTICO EM PORTO DE GALINHAS – IPOJUCA (PE) AVALIADA POR
DANOS GENÔMICOS EM *ABUDEFDUF SAXATILIS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Aprovado em: 29/10/2021

BANCA EXAMINADORA:

Professor Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho

Universidade Federal de Pernambuco

(Departamento de Zoologia)

Professor Dr. Paulo Jorge Parreira do Santos

Universidade Federal de Pernambuco

(Departamento de Zoologia)

Professora Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal

Universidade Federal de Pernambuco

(Departamento de Genética)

AGRADECIMENTOS

Como em qualquer sucesso em minha vida devo, inicialmente, meus agradecimentos a meus pais e minha irmã, que sempre estiveram presentes para tornar toda a minha formação possível. Me doando oportunidades, educação, apoio e confiança que não teriam como vir de mais ninguém.

Agradeço imensamente a equipe do Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental (LAGEA), a minha orientadora Mônica Adam, pela sua paciência e acolhimento desde a graduação, e me deu a oportunidade de começar uma pesquisa científica e levá-la a uma pós-graduação. Que me trouxe mais do que uma experiência acadêmica, mas uma vivência pessoal.

Ao professor e chefe do laboratório Rodrigo Torres, que abriu as portas do laboratório para mim e que me deu conhecimentos-chaves para me orientar na minha graduação.

A todos os demais membros dos laboratórios, mas especialmente a Maria Clara Queiroz, por sempre ser uma amiga que me deixou à vontade para conversar; Anderson Rodrigues, que foi meu guia tanto no meu aprendizado quanto no sucesso dessa pesquisa; Demétrios Lucas, sendo uma das pessoas mais confiáveis e prestativas comigo; a Marina Falkowski, por atender ao suporte que precisei incontáveis vezes quando estava indeciso; Claudio Neto, ajudando nos perrengues das disciplinas e Camilla Araújo, por ser uma pessoa tão agradável.

Sincero agradecimento a gangue do “Michoquinhos”, pela companhia nas partidas nas tardes das noites, que viravam uma terapia pra esquecer os estresses da produção acadêmica.

A todo o suporte que recebi do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em meio aos seus serviços e as amizades que fiz, mas principalmente aos professores Bruna Bezerra e Ulisses Pinheiro, que sempre me atenderam de forma minimamente excelente.

Ao Centro Acadêmico de Vitória, estrutura onde realizei análises importantes da pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, por ter financiado o meu mestrado

A Amaro Joaquim de Araújo (Seu Bau), jangadeiro que nos acompanhou em todas as coletas sem faltar ao serviço uma única vez.

E a minha amiga Marina Siqueira, me acompanhando em suas lições que, praticamente, me re-apresentaram à escrita.

RESUMO

A ocupação turística nos litorais é um processo que gera preocupação ao setor ambiental por ameaçar a estabilidade dos vários ecossistemas costeiros. Por esta razão é importante realizar monitoramentos ambientais que analisem e quantifiquem o impacto ambiental dos seus ecossistemas. A praia de Porto de Galinhas (Pernambuco - Brasil) possui uma das maiores demandas de visitação do Brasil, e sofreu igualmente as restrições de mobilidade humana devido à pandemia do Covid 19. Tais restrições possibilitaram avaliar o impacto do turismo na praia de Porto de Galinhas e o efeito da desocupação turística durante o período de lockdown de 2020. Amostras de sangue da espécie *Abudefduf saxatilis* foram coletadas mensalmente, durante um ano e no trimestre de lockdown, para realização do Teste de Micronúcleo (MN), Alterações Morfológicas Nucleares (AMN) e de forma sazonal (período seco/chuvoso) do Ensaio Cometa. Como grupo controle, espécimes de *A. saxatilis* foram coletados em área de proteção ambiental na praia de Tamandaré (68Km de Porto de Galinhas). Os testes de MN e AMN mostraram, de forma significativa, a relação de maior ocorrência de danos genômicos com o maior fluxo turístico. Em relação ao ensaio cometa, o teste novamente mostrou uma maior incidência e frequência de danos genômicos no cenário normal de atividade turística, do que nos cenários quando a mobilidade humana estava restrita (Lockdown e controle). Os resultados mostraram que o turismo vem causando significativo impacto ambiental na praia de Porto de Galinhas. As observações levantadas no período de lockdown mostraram como a ausência da movimentação humana resultou em mudanças favoráveis à recuperação ambiental, demonstrada pela menor ocorrência de danos genômicos.

Palavras-chave: monitoramento ambiental; praias; genotoxicidade; impacto do turismo; pandemia do covid 19.

ABSTRACT

Tourist occupancy in coastal environments threatens the stability of various coastal ecosystems and is thus, a cause for concern for the environmental sector. As such, it is important to perform environmental monitoring in a way that analyses and quantifies the environmental impact of coastal ecosystems. Porto de Galinhas beach (Pernambuco – Brazil) has one of the highest visitation rates in Brazil and suffered from restrictions to human mobility due to the Covid 19 pandemic. These restrictions allowed for the evaluation of the impact of tourism on Porto de Galinhas beach and the effects that the lack of tourist occupancy had during the lockdown period of 2020. Blood samples from the species *Abudefduf saxatilis* were collected monthly over a period of one year and during the lockdown quarter, in order to perform Micronucleus (MN) and Nuclear Morphological Alteration (NMA) tests, and seasonally (dry/rainy period) using a Comet Assay. For the control group, *A. saxatilis* were collected in an environmentally protected area on Tamandaré beach (68km from Porto de Galinhas). The MN and NMA tests showed a greater frequency of genomic damage with greater tourist flow. In relation to rain seasonality, the Comet Assay showed a greater incidence of genomic damage during the dry period, where there was greater tourist migration compared to the rainy period. The lockdown period presented a lower incidence of genotoxic damage compared to the period without restrictions on human mobility and the control. The results show that tourism has been causing a significant environmental impact on Porto de Galinhas beach. The data collected during the lockdown period demonstrated how the absence of human movement results in changes that are favourable to environmental recuperation, demonstrated by the lower frequency of genomic damage.

Key words: environment monitoring; beaches; genotoxicity; tourism impact; pandemia do covid 19.

LISTA DE FIGURAS

Fundamentação Teórica

Figura 1 - Distrito de Porto de Galinhas, mapa gráfico (A) e físico (B).....	19
Figura 2 - Piscinas naturais de Porto de Galinhas (A), localizada frente à praia de Porto de Galinhas (B), destino turístico dos banhistas para passeios de barco e jangada (C).....	20
Figura 3 - Explicação gráfica do Ensaio Cometa. As células são isoladas, embebidas em agarose e colocadas na lâmina. Em seguida, passam pelo processo de lise e banho alcalino para a desnaturação das fitas de DNA. Por fim, é submetida à corrida de eletroforese, fixada e observada em microscópio de epifluorescência para análise.....	25
Figura 4 - Ensaio Cometa expressando os níveis de dano de acordo com a fragmentação do núcleo (de 0 a 4).....	25
Figura 5 - Expressão de micronúcleos (seta) nas espécies <i>Oncorhynchus mykiss</i> (A) e <i>Cirrhinus mrigala</i> (B).....	26
Figura 6 - Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares analisadas em <i>Oreochromis niloticus</i> , (A) micronúcleo; (B) bud nuclear; (C) micrócito (seta); (D) núcleo vacuolado; ((E)-(F)) fragmentação nuclear (setas); (G) retração nuclear; (H) cariólise; (I) citoplasma; ((J)-(L)) núcleo binucleado (setas); (M) núcleo beirando mais do que um simples micronúcleo (setas); (N) núcleo polinucleado; (O) núcleo notched; (P) núcleo lobado; (Q) núcleos blebbed (1000x).....	28
Figura 7 - Espécie bioindicador, <i>Abudefduf saxatilis</i>	30

Artigo

Figura 1 – Mapa de localização das praias de Porto de Galinhas e Tamandaré (Estado de Pernambuco Brazil). A. Praia de Porto de Galinhas e a piscina natural onde foi realizada a coletados animais. B. Jangadas na piscina natural, local de amostragem. C. A espécie amostrada *Abudefduf saxatilis*. D. Coleta de sangue em *Abudefduf saxatilis*.....53

Figura 2 – Análise de Variância (ANOVA: média e desvio padrão) dos números de células micronucleadas observadas nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas (período com e sem turismo) e no controle ao longo do período de estudo, em relação à amostra controle e o período de lockdown.....58

Figura 3 – Análise de Variância (ANOVA: média e desvio padrão) das alterações morfológicas nucleares observadas nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas, em relação ao controle e o período de lockdown.....59

Figura 4 – Gráfico da Análise Canônica de Coordenadas Principais das variáveis de danos genômicos e áreas com e sem turismo e controle. Os vetores à direita indicam as variáveis com correlação de Pearson maior que 0,5, em relação à divisão dos grupos.....60

Figura 5 – Análise de Variância (ANOVA: média e desvio padrão) dos índices de danos (ensaio Cometa) observados nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas, em relação ao controle e o período de lockdown.....62

Figura 6 – Análise de Variância (ANOVA) das Frequências de Danos (ensaio Cometa) observados nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas, em relação ao controle e o período de lockdown.....63

LISTA DE TABELAS

Artigo

Tabela 1 – Valores médios de precipitação pluviométrica, temperatura da água, taxa de ocupação hoteleira, número de visitas de jangadas nas piscinas naturais e número de células micronucleadas e com alterações morfológicas nucleares em <i>Abudefduf saxatilis</i> . Com turismo (Porto de Galinhas de julho/17 a junho/18), Sem turismo (Porto de Galinhas de jun-ago/20, período de restrição de mobilidade humana) e Controle (Praia de Tamandaré).	56
Tabela 2 – Índices de Proporcionalidade das médias gerais de células micronucleadas e alterações morfológicas nucleares de <i>Abudefduf saxatilis</i> nos períodos de estudo.....	57
Tabela 3 – Comparações pelo teste de Tukey entre os números de micronúcleos em eritrócitos de <i>Abudefduf saxatilis</i> , coletados em Porto de Galinhas no período de monitoramento (Jul/17-Jun/18) e lockdown (Jun/20-Ago/20) em relação ao Controle. Nível de significância 0,05.	58
Tabela 4 – Comparações entre os números de alterações morfológicas nucleares em eritrócitos de <i>Abudefduf saxatilis</i> , coletados em Porto de Galinhas no período de monitoramento (Jul/17-Jun/18) e lockdown (Jun/20-Ago/20) em relação ao Controle. Nível de significância 0,05.	59
Tabela 5 – Comparações (PERMANOVA) entre os momentos com e sem turismo e área controle em relação aos números de micronúcleos e danos genômicos totais (micronúcleos + alterações morfológicas nucleares).....	60
Tabela 6 – Modelos lineares baseados em distância ajustados entre os danos genômicos e as variáveis ambientais.....	61
Tabela 7 – Comparações entre os índices de danos (ensaio Cometa) em eritrócitos de <i>Abudefduf saxatilis</i> , coletados em Porto de Galinhas nos períodos seco, chuvoso e lockdown em relação ao Controle. Nível de significância 0,05.....	63

Tabela 8 – Comparações entre as Frequências de danos (ensaio Cometa) em eritrócitos de <i>Abudefduf saxatilis</i> , coletados em Porto de Galinhas nos períodos Seco, Chuvoso e Lockdown em relação ao Controle. Nível de significância 0,05.....	64
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJPG	Associação de Jangadeiros de Porto de Galinhas
AMN	Alterações Morfológicas Nucleares
ANOVA	Análise de Variância
APA	Área de Proteção Ambiental
APAC	Agência Pernambucana de Águas e Clima
CA	Ensaio Cometa
CAP	Análise Canônica das Coordenadas Principais
COVID-19	Coronavírus – Sars-Cov-2
DistLM	Modelos Lineares Baseados em Distância
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EMPETUR	Empresa Pernambucana de Turismo
ENAS	Alterações Morfológicas Nucleares em Eritrócitos
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICTN	Índice de Competitividade do Turismo Nacional
IP	Índice de Proporcionalidade
mA	Miliampere
MN	Micronúcleo
NaCl	Cloreto de Sódio

OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão de fosfato-salino
PE	Pernambuco
TBE	Tris/Borato/EDTA
TiO ₂	Dióxido de Titânio
UNWTO	Organização Mundial do Turismo
V	Volt

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	IMPACTO AMBIENTAL DO TURISMO: IMPLICAÇÕES NO AMBIENTE COSTEIRO	17
2.2	A PRAIA DE PORTO DE GALINHAS	19
2.3	MONITORAMENTO AMBIENTAL	21
2.4	GENÉTICA TOXICOLÓGICA EM AMBIENTE MARINHO	22
2.4.1	Genotoxicidade	23
2.4.2	Ensaio para a avaliação de genotoxicidade	24
2.4.2.1	O Ensaio Cometa	24
2.4.2.2	O Teste do Micronúcleo	26
2.4.2.3	Alterações morfológicas nucleares	27
2.5	ESPÉCIES BIOINDICADORAS	28
2.5.1	<i>Abudefduf saxatilis</i> como bioindicador	30
2.6	PANDEMIA DO CORONAVIRUS SARS-COV-2 (COVID 19) E O EFEITO DO LOCKDOWN NO IMPACTO TURÍSTICO NO LITORAL	31
	REFERÊNCIAS	33
3.	ARTIGO – TOXICIDADE GENÔMICA, CONTRASTE DO REGIME TURÍSTICO, O LOCKDOWN DO COVID-19 E OS EFEITOS NO AMBIENTE RECIFAL	49
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXO	74

1. INTRODUÇÃO

Ambientes costeiros são importantes ecossistemas devido aos diferentes recursos que disponibilizam, entre eles: habitat para uma ampla biodiversidade, garantindo alimento, abrigo e reprodução para a biota residente, fonte de recurso alimentício para a população humana, proteção física da costa e cenários turísticos. Devido à sua importância, tanto natural quanto sócio-econômica, tais ambientes são objeto de várias pesquisas acadêmico-científicas, de preservação e de cunho industrial (Oliveira & Souza, 2012; Gerling et al, 2016). Todas essas características contribuem para a ocupação humana neste ambiente. Porém, esta ocupação tem causado perturbações ambientais que ameaçam a vida marinha (Garcia & Severa, 2003; Oliveira et al, 2018). Por este motivo, a preservação desta riqueza de recursos frente à excessiva atividade humana tem levado à urgência do estabelecimento de planos de monitoramento e gestão ambiental em ecossistemas costeiros (Cabral et al, 2014).

No Brasil, cerca de 26,6% da população habita o litoral (IBGE, 2011). A costa brasileira se estende por 10.959 km (IBGE, 2019), compreendendo 17 estados, incluindo mais de quatrocentas cidades, possibilitando uma posição estratégica que contribui para o incremento das atividades portuárias, turísticas, pesqueira e industrial (Tischer, 2016).

Entretanto, o impacto ambiental do turismo em regiões costeiras tem sido alvo de grande preocupação mundial (Burak et al, 2004; Goliath et al, 2018). A utilização dos recursos costeiros para fins turísticos tem levado a consequências negativas, tais como um maior aporte de resíduos e perturbações ambientais (p. ex. aumento de ruídos, pisoteamento de corais, etc) devido às atividades recreativas (mergulhos, passeios de barco), e a expansão imobiliária/hoteleira. A preocupação com a descaracterização ambiental pelas atividades turísticas não deve focar apenas na perda do valor paisagístico, mas principalmente nas consequências ambientais, muitas vezes irreversíveis, como a perda de habitats naturais e de espécies nativas (Burak et al, 2004; Zahedi, 2008; Ahmad et al, 2018; Nunes et al, 2020).

Sendo um frequente destino turístico nacional e internacional, o balneário de Porto de Galinhas, localizado em Ipojuca – PE, atrai cerca de 1,2 milhões de turistas por ano, com fluxo médio de 60.000 visitantes por mês na alta temporada (Barradas et al 2012; ICTN, 2015; Kina, 2017; IBGE, 2017). Isso torna o mercado turístico a principal renda local, fator que estimulou o investimento em vias de acesso e a intensa expansão urbanística do distrito, desde 1970 (Nascimento & Silva, 2018). A paisagem com praias, recifes e manguezais são alguns dos elementos que atraem a maioria dos visitantes. Entretanto, a intensificação da ocupação humana tem levado a uma maior extração de recursos naturais e ao despejo de dejetos e transformação do ecossistema (Melo et al; 2014). Em particular, ambientes recifais, como o encontrado em Porto de Galinhas, costumam ser impactados quando próximos a centros urbanos devido à intensa interação antrópica, afetando seus processos naturais. Cerca de 69% dos visitantes mensais em Porto de Galinhas entram em contato com a faixa de recifes, através de passeios de jangadas e mergulhos amadores, impactando consideravelmente este ambiente (Barradas et al, 2012).

Surpreendentemente, no ano de 2020, a Pandemia do Coronavírus Sars-Cov-2 (COVID 19) propiciou mudanças na dinâmica ambiental no nível mundial. Em resposta à crise pandêmica, medidas de restrição de mobilidade humana (como o lockdown) foram impostas na tentativa de conter o avanço do vírus. A medida causou efeitos em vários setores econômicos, incluindo o turístico (Zielinski & Botero, 2020). Segundo pesquisas recentes, zonas litorâneas tiveram impactos positivos e negativos devido ao lockdown (Cheval et al, 2020; Zambrano-Monserrate & Ruano, 2020). Em algumas praias foi observado um aumento na produção de resíduos domésticos provenientes do confinamento (Manenti et al, 2020). Porém, a ausência de turistas em diversas praias diminuiu as pressões antrópicas (ruídos, lixo e turbidez) com a consequente restauração dos parâmetros de qualidade (Soto et al, 2021). Em Porto de Galinhas, a média da ocupação turística reduziu de 75% para 25%, com redução das atividades na faixa de areia e mar imposta pelas restrições/proibições devido à pandemia (EMPETUR).

Através do uso de espécies locais sensíveis a mudanças no ambiente (bioindicadores) é possível diagnosticar e monitorar impactos de perturbadores ambientais (Hara et al, 2018). Peixes são considerados bioindicadores adequados para estudos de ambientes aquáticos devido a sua dinâmica com o ambiente (Lins et al, 2010).

Em Porto de Galinhas, a espécie *Abudefduf saxatilis* (Linnaeus, 1758) popularmente conhecida como Sargentinha, é predominante no local, sendo bastante comum em águas rasas e ambientes recifais. Esta espécie tem hábito onívoro, procurando alimento na coluna d'água, superfícies de recifes e sedimentos (www.fishbase.org; Pineros & Gutiérrez-Rodríguez, 2017). Tais características contribuem para que esta espécie seja um bom bioindicador para estudos locais.

A quantificação de lesões genômicas é uma abordagem metodológica de grande acurácia para fins de monitoramento e avaliação da qualidade ambiental, (Pampanin et al, 2017). Entre tais abordagens metodológicas se encontram o Teste do Micronúcleo, as Alterações Morfológicas Nucleares e o Ensaio Cometa (Araldi et al, 2015; Butrimavičienė et al, 2018; Bolognesi et al, 2019) Micronúcleos são formados durante a anáfase da divisão celular. Isso pode acontecer devido à quebra de algum cromossomo ou falha no fuso mitótico resultando em efeitos clastogênicos e aneugênicos via contato com substâncias genotóxicas (Gutiérrez et al, 2015; Cuevas & Zorita, 2018; Hussain et al 2018). Este teste objetiva a comparação entre as frequências de células micronucleadas e células normais através da análise microscópica (Duarte et al, 2012).

As alterações morfológicas nucleares, lesões resultantes do contato com agentes tóxicos com o organismo (Hussain et al, 2018; Tripathy et al, 2020), acontecem durante o período de divisão da célula, sendo descritas por transformações na morfologia nuclear. A quantificação destas alterações contribui para a avaliação de impactos decorrentes de perturbadores ambientais (Hussain et al, 2018; Shahjahan et al 2019)

O ensaio cometa é uma metodologia aplicada a diversos tipos celulares que avalia o nível de dano em células individuais submetidas à corrida eletroforética em lâmina (Matsumoto et al, 2006). Os fragmentos de DNA resultantes, na eletroforese, migram diferencialmente conforme seu tamanho e peso molecular, formando um arrasto (cauda), com desenho similar a um cometa. A quantificação dos diferentes

comprimentos da cauda é representativa do nível de dano no DNA sofrido por uma determinada célula (Duarte et al, 2012; Hussain, 2018; Kaur et al, 2018).

O presente estudo realizou o monitoramento ambiental, por cerca de um ano, na praia de Porto de Galinhas, utilizando os parâmetros de danos genômicos em eritrócitos da espécie *Abudefduf saxatilis*. Os ensaios genotóxicos do teste do micronúcleo, alterações morfológicas nucleares e ensaio cometa foram utilizados para a quantificação dos impactos ambientais, sendo os mesmos correlacionados com o fluxo turístico, a sazonalidade climática, a temperatura da água, a pluviometria, e o período de restrição de mobilidade humana devido à pandemia do COVID 19.

Este estudo objetivou avaliar sazonalmente (período seco/chuvoso) e mensalmente (durante cerca de um ano e um trimestre de restrição de mobilidade humana) o impacto ambiental em Porto de Galinhas por meio de métodos que quantificam o grau de danificação genômica relacionado às variáveis ambientais selecionadas. Comparando resultados obtidos na avaliações mensais e sazonais de danificação genômica pela metodologia do teste Micronúcleo, Alterações Morfológicas Nucleares e Ensaio Cometa em espécimes de *Abudefduf saxatilis*, no período compreendido entre junho de 2017 a julho de 2018, nas piscinas naturais de Porto de Galinhas em relação ao grupo controle (Praia de Tamandaré) e o período de restrição de mobilidade humana devido à pandemia do COVID 19. Avaliando a correlação desses danos genômicos com a temperatura da água, pluviometria, passeios de jangadas mensais e ocupação hotelaria; e levantando as devidas interpretações.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 IMPACTO AMBIENTAL DO TURISMO: IMPLICAÇÕES NO AMBIENTE COSTEIRO

O mercado turístico é a principal estratégia empregada em inúmeros centros costeiros para aumentar a renda local (Zuo & Hang, 2018), pelo incremento do consumo de serviços por parte dos visitantes, que são atraídos por um cenário que estimula as interações com a natureza (Zahadi, 2008; Zuo & Hang, 2018; Ehigiamusoe, 2020). Nos meses com uma maior estiagem e temperaturas maiores, o número de turistas que freqüentam as praias é maior quando comparado aos meses chuvosos (Nunes et al, 2020). Porém, a maior movimentação nas praias no período de verão faz com que a maioria desses ambientes receba mais pessoas do que são capazes de suportar (Younes-Baraillé et al, 2005; Nunes et al, 2020).

As alterações ambientais em decorrência do turismo se tornaram um problema mundial, revelando a necessidade de uma gestão ambiental local adequada, fundamental para atenuar a degradação das fontes naturais nos ecossistemas costeiros (Vijay et al, 2016). Porém, o turismo sustentável, apesar de ser uma ideia antiga, ainda encontra muitos entraves em decorrência de não solucionar problemas de serviços básicos (Nascimento & Silva, 2018). Por exemplo, a grande população flutuante nos períodos de alta temporada pode colapsar as fontes de água potável, comprometendo a comunidade residente (Garcia & Servera, 2003). Outro exemplo se deve ao fato de que apesar de alguns centros turísticos terem políticas

locais para gestão de resíduos, muitos atuam de forma ineficiente na gestão de serviços de saneamento público (uso de lixão e esgoto a céu aberto) e com assimetria nos serviços de limpeza (locais desvalorizados tem menos coleta de lixo do que os valorizados) resultando em impacto ambiental (Santos & Cândido, 2018).

O turismo também ocupa o espaço físico que era destinado à moradia da comunidade local, resultando no deslocamento de tal comunidade para áreas afastadas do centro urbano, e muitas vezes para áreas de natureza preservada (Nascimento & Silva, 2018). Essa ocupação gera aterros, poluição e desmatamento, além de serem, em muitos casos, inadequadas para ocupação humana pela falta planejamento urbano (p. ex. Saneamento básico) (Santos & Cândido, 2018). As comunidades de Pantanal e Salinas, localizadas no distrito de Porto de Galinhas – Pernambuco (Brasil) são resultantes da expansão turística do centro de Porto de Galinhas, e se enquadram na descrição acima (Nascimento & Silva, 2018).

Especificamente aos danos no ambiente, as intensas atividades recreativas na faixa de areia e no mar alteram a turbidez da água pela ressuspensão de areia e resíduos e a contaminação por produtos de uso pessoal como filtros solares e outros fármacos, tornando o ambiente nos períodos de intensa atividade turística mais susceptível aos efeitos nocivos destes elementos (Gladstone, 2013; Goliath et al, 2018). Também os derivados de metais, dejetos orgânicos e microplásticos, já mostraram efeitos nocivos em comunidades costeiras (Burak et al 2004; Zahadi, 2008, Barradas et al, 2012; Goliath et al, 2018; Riniwati et al, 2019; Nunes et al, 2020; Kroon et al, 2020). Tais problemas podem ser agravados quando a gestão local é ineficaz em destinar adequadamente a quantidade de rejeitos produzidos, agravando a poluição do ambiente (Vijay et al, 2016; Mohamed, 2018; Nunes et al, 2020), principalmente pela redução na qualidade da água (Kroon et al, 2020). Além disso, o turismo praiano pode causar impacto físico pelo pisoteio resultando na supressão de corais (Sarmiento & Santos, 2012; Kroon et al, 2020), como também perturbações sonoras neste ambiente (Zahadi, 2008; Riniwati et al, 2019).

Todas essas formas de atuação antrópica podem implicar na destruição de habitats, perda de biodiversidade e descaracterização de ecossistemas (Dey et al, 2018; Kroon et al, 2020). Além dos problemas locais, Dube et al (2020) sugerem que o turismo pode alimentar a crise das mudanças climáticas, devido à queima de combustíveis fósseis processo que desajusta a temperatura e acidificação dos mares (Barroso et al, 2018).

Pesquisas têm revelado o impacto ambiental do turismo em regiões costeiras. Em uma investigação de impacto ambiental do turismo de cruzeiros no Porto de Trujillo (Honduras), MacNeill & Wozniak (2018) perceberam que, apesar do alto investimento na atividade do porto prevendo vários benefícios para as comunidades locais, a iniciativa acabou causando várias perturbações sócio-ambientais. O principal problema encontrado foi o maior despejo de rejeitos de esgoto/industriais não tratados, nos municípios próximos ao porto (Cristales e San Martín) do que naqueles mais distantes (Chachahuat e East End), levando a um prejuízo na qualidade de tais ambientes.

Wong et al (2019), ao investigarem as implicações do intenso turismo para a observação de tubarões-baleia na vila de Bangaray (Tan-awan, Filipinas), constataram sinais de intensa degradação nos

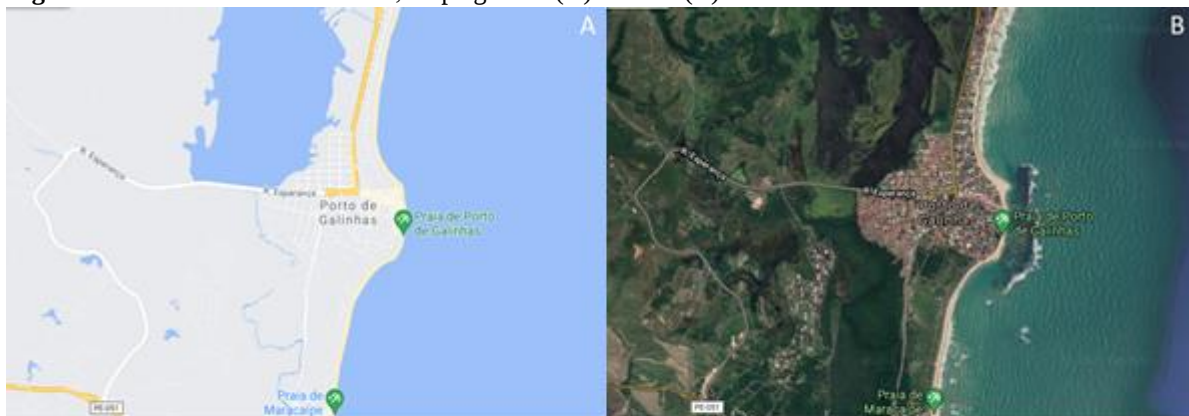
recifes locais. Os pontos do recife onde se concentrava a visitação mostravam dominância de espécies coralíneas resistentes a estresses, menor cobertura de corais e alta cobertura de macroalgas em relação aos locais de referência.

Em onze praias de Santa Clara (Caribe colombiano), Garcés-Ordóñez et al (2020), avaliaram o impacto da poluição na alta e baixa temporada de turismo, através da avaliação da densidade de turistas, microlixo e microplástico. Os pesquisadores evidenciaram que a alta temporada correspondeu à época de maior poluição, onde foram encontrados cerca de 30% - 77% de microplástico no microlixo coletado por m², apontando o turismo como a principal fonte de poluição.

2.2 A PRAIA DE PORTO DE GALINHAS

A praia de Porto de Galinhas, e o seu distrito homônimo, situada no município de Ipojuca, litoral de sul do estado de Pernambuco, Brasil (8° 59' 00" a 8° 33' 33" Latitude S e 35° 00' 27" a 34° 59' 00" Longitude W) é o maior polo turístico pernambucano (Fonseca et al, 2002; Pereira & Salazar, 2007) (Fig. 1). Com uma população estimada de 97 mil habitantes, Ipojuca (incluindo Porto de Galinhas) tem apenas 50% das casas com esgotamento sanitário adequado e urbanização competente em 22% dos domicílios (cidades.IBGE, 2010). Seu principal bioma é a Mata Atlântica, com inclusão de outros ecossistemas como mangues, estuários, recifes e extensas faixas de areia branca. Seus recifes são areníticos, formando substratos para algas e corais, e protegem a costa da energia das ondas (Fonseca et al, 2002; Falcão et al, 2009; Barradas et al, 2012). A faixa costeira entre o Rio Maracaípe e o Rio Ipojuca comporta o principal núcleo turístico do distrito (Falcão et al 2009).

Fig. 1. Distrito de Porto de Galinhas, mapa gráfico (A) e físico (B).



Fonte: Google Maps (2021)

O mercado turístico é a principal fonte econômica de Porto de Galinhas. Ao fim da década de 70, que até então Porto de Galinhas era uma vila de pescadores, o local iniciou um processo de expansão e urbanização para estimular a visitação (Mesquista & Xavier, 2013). Boa parte da mata nativa foi degradada para abrigar essa ocupação (Mesquista & Xavier, 2013). Porém, nos últimos anos, o governo do estado vem reconhecendo, através de estudos, que a localidade necessita de limites para a ocupação e zoneamento

da sua infraestrutura (Mesquita & Xavier, 2013). Preocupações que convergem em favor da preservação ambiental, onde uma gestão adequada/controlada para frear a urbanização tem se tornado o principal objetivo para a manutenção das características naturais de Porto de Galinhas e circunvizinhas que dão valor ao espaço. (Pereira & Salazar, 2007; Mesquita & Xavier, 2013)

Os recifes areníticos em frente à vila de Porto de Galinhas são pontos altos do turismo local, pois além da sua imagem exótica; trechos abertos e protegidos da sua estrutura permitem a formação de piscinas naturais quando a maré está baixa (Figura. 2) (Sarmiento & Santos 2012; Barradas et al, 2012; Santos & Cândido 2018; Pegas et al, 2018). A formação dessas piscinas é aproveitada como uma atividade recreativa pelos turistas, por permitir contato com a ecologia local, através de mergulhos e passeios de jangada (Silva et al, 2011; Barradas et al, 2012). As piscinas naturais são marcas registradas de Porto de Galinhas (Visadas nos prêmios que a praia recebe), devido à sua popularidade e proximidade a costa, dezenas de milhares de visitantes chegam a circular nos recifes e em torno das piscinas por mês (Silva et al, 2011; AJPG, 2021).

Fig. 2. Piscinas naturais de Porto de Galinhas (A), localizada frente à praia de Porto de Galinhas (B), destino turístico dos banhistas para passeios de barco e jangada (C).



Fonte: O autor (2018)

As caminhadas nas piscinas naturais em Porto de galinhas causam sérias perturbações ao seu ecossistema devido ao sobre-peso humano na estrutura recifal (Williamson et al, 2017). Tais perturbações geram a retração da vida marinha e da biomassa (Sarmiento & Santos, 2012; Beeharry et al 2021). O pisoteio pode ocasionar a erosão dos recifes que leva a descaracterização do habitat e, assim, perda de biodiversidade, comprometendo a distribuição das espécies (Eichler et al, 2019). Williamson et al (2017) observaram na Ilha de Hereon (Austrália) como recifes pisoteados apresentavam pouca abundância de material rígido e uma grande quantidade de corais mortos e sedimentados, além da baixa quantidade e diversidade de peixes. A erosão dos recifes também pode ocasionar, além da perda de microhabitats das espécies recifais, a suspensão de matéria, aumentando a turbidez da água, impedido que a luz do sol auxilie processos de crescimento e restauração de organismos bentônicos e a assimilação de nutrientes no próprio coral (Williamson et al, 2017; Eichler et al, 2019; Beeharry et al 2021).

Em preocupação quanto às questões de conservação e preservação das praias, a prefeitura de Ipojuca têm planejado um perfil conservacionista para o distrito de Porto de Galinhas, com o desenvolvimento de projetos ecológicos, ações de preservação da biodiversidade de habitats e atividades realizadas de forma sustentável e fiscalizadas (www.ipojuca.pe.gov.br; AJPG). Porto de Galinhas sedia projetos de conservação como o Ecoassociados e o Hippocampus (Ecoassociados; Prefeitura de Ipojuca, 2019), que se somam aos seus atrativos turísticos.

Porém, foram poucos os estudos e iniciativas empregadas para monitorar e quantificar os efeitos diretos da pressão turística no meio natural, em tempo real e contínuo. A falta desses dados pode representar uma lacuna importante na conservação local.

2.3 MONITORAMENTO AMBIENTAL

O monitoramento ambiental é uma atividade que, através de análises consecutivas e padronizadas, buscam respostas em relação à ação de um componente químico ou biológico e seus impactos nas condições de um ecossistema ao longo do tempo (Oost et al, 2003). Em situações de toxicidade são feitas descrições métricas do xenobionte ou da resposta biológica de um organismo ao agente perturbador (Oost et al, 2003).

Situações onde há a necessidade da análise da vulnerabilidade de um ambiente são os principais exemplos da aplicação e efetividade do biomonitoramento (Aylward, 2018). Biomonitoramento pode ser definido como o uso sistemático das respostas de organismos vivos para avaliar as mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas (Buss et al, 2003). Entre os objetivos do biomonitoramento estão as abordagens visando a saúde pública, manejo de risco em larga extensão para fins de preservação e conservação ambiental e na investigação das características de novos contaminantes (Bergamaschi et al, 2017; Aylward, 2018). Assim, no contexto da conservação ambiental, o biomonitoramento atua no diagnóstico, no prognóstico e nas medidas preventivas em resposta a impactos ambientais (Bergamaschi et al, 2017; Aylward, 2018).

Em ambientes marinhos, o procedimento tem alcançado grande relevância devido à crescente contaminação pela ação antrópica (Orani et al, 2018). Apesar de métodos físico-químicos serem bastante aplicados para investigar a condição do ecossistema, metodologias de biomonitoramento compensam muitas de suas limitações, disponibilizando respostas sensíveis e precisas (Orani et al, 2018; Dovzhenko et al, 2020). Isso porque muitos ensaios químicos precisam ser direcionados ao agente de interesse e, a depender de suas propriedades químicas, são necessários mais testes para saber se ocorre um contato contínuo resultando em danos nas espécies locais ou uma sazonalidade de ação prejudicial (Dennis et al, 2017). Quando fatores físicos interagem com os agentes químicos podem alterar seu efeito ecotoxicológico, porém, os ensaios comuns não são precisos em quantificar essa relação (Dovzhenko et al; 2020). Neste contexto, a utilização de parâmetros biológicos no biomonitoramento pode ajudar a esclarecer as mudanças causadas pelo agente tóxico no ecossistema (Dovzhenko et al, 2020).

Mashall et al (2019) utilizaram gastrópodes (*Nerita chamaeleon* e *Planaxis sulcatus*) como indicadores para o biomonitoramento da acidificação em águas costeiras. A observação de anormalidades das conchas dos animais possibilitou reconhecer os locais com maior impacto ambiental.

Van Oosterom, et al. (2010) sugeriram que os caranguejos de lama (*Scylla serrata*) têm grande potencial como espécie indicadora para a qualidade da água e programas de monitoramento de ecossistema nas regiões costeiras tropicais da Austrália.

Entre os métodos utilizados no biomonitoramento, os modelos celulares/moleculares possibilitam uma resposta rápida e descritiva do efeito tóxico (Dovzhenko et al, 2020).

Falcão et al (2020) demonstraram através de ensaios genotóxicos realizados em hemócitos de *Cardisoma guanhumi*, coletados em estuários da região nordeste do Brasil durante dois anos, que a espécie sofreu um maior estresse genotóxico em períodos de maior precipitação, provavelmente devido à lixiviação de rejeitos vindos de polos industriais presente na região.

Lima et al (2019) utilizando as metodologias do teste micronúcleo e ensaio cometa em *Mugil curema* (piscas) de cinco estuários do estado de Pernambuco (Brasil), apontaram para um maior estresse sofrido por espécimes próximos a centros urbanos do que os indivíduos coletados em uma área pristina.

2.4 GENÉTICA TOXICOLÓGICO EM AMBIENTE MARINHO

Ambientes marinhos são vulneráveis à toxicidade de uma série de despejos e rejeitos. Pesquisas envolvendo ecotoxicologia e genética tem promovido o conhecimento das consequências desta toxicidade no patrimônio biótico (Magalhães & Ferrão-filho, 2008, Khan et al, 2019; Campos et al, 2019).

Lesões no DNA, quando não reparadas, se acumulam no organismo, podendo resultar em problemas relativos à morbidade, mortalidade, fertilização e reprodução (Lee & Steinert, 2003). Estudos têm relacionado essas lesões no DNA a efeitos biológicos no nível celular e fisiológico, como a redução do crescimento, indução de anormalidades e redução no tempo de sobrevivência de embriões e adultos (Lee & Steinert, 2003; Iman, 2019; Choudhuri et al, 2021). Barsiene et al (2006) e Baqar et al (2017) demonstraram que o efeito genotóxico da diluição de agentes poluidores na água do mar aumentou a tendência de desenvolvimento de enfermidades na biodiversidade, bem como Martins & Costa (2015) observaram a mesma tendência em populações locais.

Apesar das atividades humanas serem os principais agentes perturbadores ambientais (Carugati et al 2018; Ali et al, 2019; Manisalidis et al 2020; Zhou et al 2020) nem todas as fontes de danos genômicos provêm de ações antrópicas. Eventos naturais como os elementos radioativos e a incidência solar são alguns exemplos de causas de danificação genômica. (Lee & Steinert, 2003; Fuentes-León et al, 2020; Goyeneche et al; 2021).

2.4.1. Genotoxicidade

A genotoxicidade se refere ao efeito de modificar componentes celulares e do DNA responsáveis por regular o funcionamento do genoma (Chellian et al, 2017), tendo como resultado o dano genômico. Este desarranjo na estrutura do DNA pode comprometer a viabilidade do material genético (Srinivas et al, 2019; Mingard et al, 2020). Sendo assim, a exposição a agentes genotóxicos tem o potencial de mudar a estrutura do cromossomo através de quebras na molécula de DNA (clastogenicidade) ou da sequência de bases nitrogenadas (mutagenicidade), bem como interferir na dinâmica da migração dos cromossomos na anáfase (aneugenicidade) (Souto et al, 2020). Entre os danos no DNA causados por agentes perturbadores ambientais, que podem desestabilizar a expressão gênica e funções nucleares, podem ser citadas as quebras de fitas simples ou dupla, modificações e ligações cruzada nos pares de bases nitrogenadas. (Bickham, 2000; Zegura et al, 2009; Dabin et al, 2016; Poetsch, 2020).

Estudos têm revelado a ação genotóxica oriunda de contaminantes fixados no solo, água e alimentos, que podem comprometer a estabilidade de uma biota (Zegura, 2009; Salvagni et al, 2010; Braga et al, 2017). Essa preocupação é reconhecida nos objetivos de várias pesquisas realizadas no ambiente marinho (Gutierrez et al, 2015; Costa et al, 2017; Thirunavukkarasu et al, 2020; Musrri et al, 2021). Convém ressaltar que o ambiente marinho, por ser o destino final da poluição de efluentes recreativos, domésticos e industriais, apresenta uma maior vulnerabilidade aos efeitos nocivos de perturbadores ambientais (Cavas & Ergene-Gozukara, 2005; Bellas et al, 2020). Para avaliação e monitoramento do ambiente marinho, os ensaios genotóxicos tem se destacado pela efetividade em demonstrar os efeitos de perturbadores na biota (Martins & Costa, 2015; Leitão et al, 2017). Vários organismos marinhos (peixes, moluscos, crustáceos) têm sido elencados como bioindicadores (Martins & Costa, 2015; Vignardi et al, 2015; Musrri et al, 2021).

A dispersão crescente de microplástico, gerado pela ação abrasiva no plástico descartado no mar, tem mostrado uma ação mutagênica e citotóxica e tem sido uma das novas questões ambientais do século (Pannetier et al, 2019). A atividade genotóxica do microplástico foi constatada por Pannetier et al (2019), que ao exporem *Oncorhynchus mykiss* à areia contaminada com vários tipos de microplástico coletada em várias praias dos oceanos Pacífico e Atlântico (Portugal, Chile e EUA), identificaram por meio do ensaio cometa, que a maioria das espécies de microplásticos mostravam ação genotóxica. Assim como no diagnóstico ambiental feito em áreas impactadas das praias de Páscoa, Guam e Havaí; os autores (Pannetier et al, 2020) investigaram as consequências ecológicas da contaminação por microplástico em ambiente marinho, e observaram uma relação direta da concentração de microplástico com o dano genômico em juvenis de medeka (*Adriannichthyidae*) e uma maior tendência de morte larval da mesma espécie.

A diluição de filtros solares que vem se acumulando em espécies e sedimentos recifais de forma crônica, tende a criar afecções histológicas e celulares devido às propriedades citotóxica/genotóxica (Schiavo et al, 2018) de seus componentes (Benzofenos, Dióxido de Titânio) (Wood, 2018; Delmond et al, 2019; Carvalhais et al, 2021)

Vignardi et al (2015), cientes dos efeitos de contaminação pelos metais pesados de filtro solares, avaliaram o potencial lesivo do dióxido de titânio (TiO₂) no peixe marinho *Trachinotus carolinus*. Os pesquisadores constataram que a exposição ao TiO₂ resultou em lesões no material genético daquela espécie. Seguindo os mesmos objetivos do estudo anterior, Nigro et al (2015) observaram os mesmos do efeito do TiO₂ em *Dicentrarchus labrax*, identificando alterações cromossômicas nas células dos espécimes avaliados.

Centenas de indivíduos de *Platichthys flesus*, *Clupea harengus* e *Zoarcetes viviparus* foram analisados em 82 sítios do Mar Báltico por Barsiene et al (2015), com a intenção de verificar regiões com um maior ou menor impacto ambiental. A partir da quantificação das lesões nucleares em células sanguíneas, os autores conseguiram mapear os pontos de maior genotoxicidade no Mar Báltico, muitos dos quais ficavam próximos a locais de despejo de rejeitos químicos.

Duart et al (2019) utilizando o teste de micronúcleos em hemócitos de caranguejos (*Ucides cordatus*) de mangues brasileiros contaminados por cádmio, constataram que os indivíduos do sítio contaminado eram mais resistentes ao metal do que aqueles vindos de mangues não contaminados, vista a menor frequência de micronúcleos que expressavam.

Os mexilhões *Mytilus galloprovincialis*, na baía de Izmir (Turquia) analisados por Arslan et al (2021), através da observação de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares em hemócitos, permitiu aos pesquisadores localizar os setores de maior risco ambiental da baía.

Em relação ao impacto contínuo do turismo em ambiente costeiro, pouco tem sido relatado no que se refere a danos genotóxicos. Çavas & Ergene-Gozukara (2005), utilizando ensaios genotóxicos em peixes, observaram uma maior frequência de danos no material genético em praias localizadas em centros urbanos. Porém, não foram encontrados na literatura científica estudos que tenham relacionado efeitos genotóxicos diretamente com a flutuação no número de turistas em diferentes temporadas.

2.4.2. Ensaios para a avaliação de genotoxicidade

A contribuição de marcadores genéticos é significativa em estudos de diagnóstico e monitoramento ambiental, onde análises de características do núcleo celular podem quantificar efeitos de perturbadores ambientais (Moller, 2018; Michalova et al, 2020). As metodologias do Ensaio Cometa, Teste do Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares são capazes de identificar e quantificar a existência de lesões no DNA e malformações nucleares resultantes da exposição de populações e comunidades a agentes citotóxicos e genotóxicos (Vignardi et al 2015; Madeiros et al, 2017; Stankeviciute et al, 2019).

2.4.2.1 O Ensaio Cometa

O Ensaio Cometa é um procedimento alcalino, que mensura o dano em células eucarióticas individualizadas (Fig. 3). Esta metodologia possibilita quantificar quebras de cadeias do DNA, bem como o estresse oxidativo (Azqueta et al, 2014, Moller, 2016). A metodologia baseia-se na corrida eletroforética

em lâmina de células individualizadas. A corrente de eletroforese permite a migração diferencial dos fragmentos de DNA lesionados do núcleo da célula. A partir disso, são formadas imagens que permitem identificar a frequência e o nível de ocorrência de dano (Azqueta et al, 2014, Langie et al, 2015) (figura. 4).

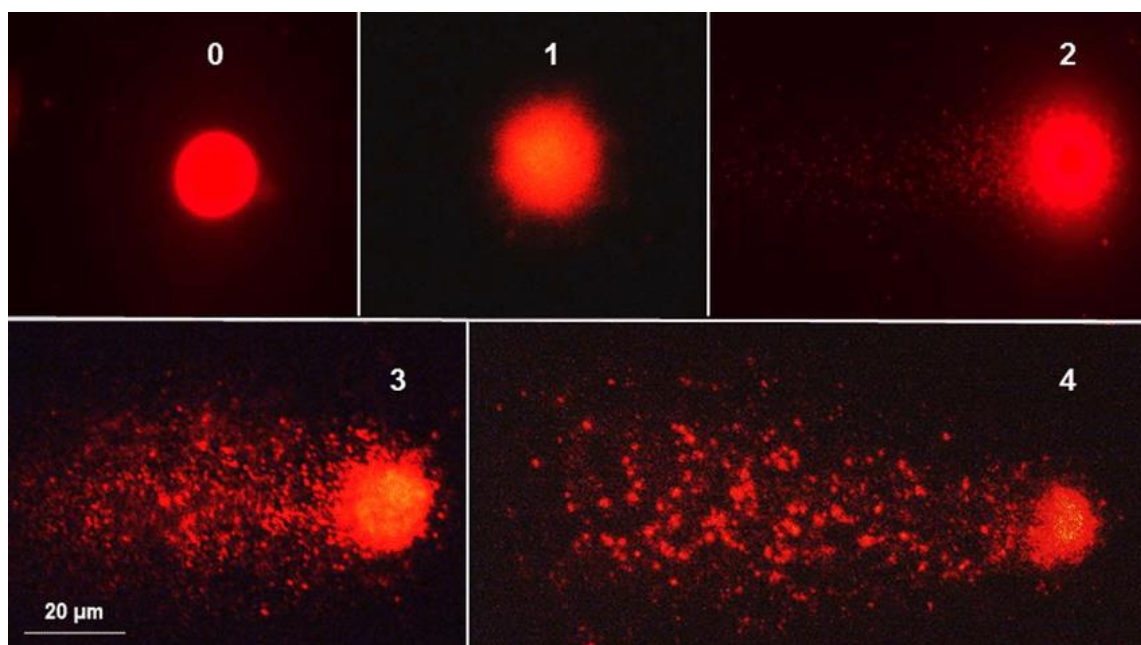
Fig. 3. Explicação gráfica do Ensaio Cometa. As células são isoladas, embebidas em agarose e colocadas na lâmina. Em seguida, passam pelo processo de lise e banho alcalino para a desnaturação das fitas de DNA. Por fim, é submetida à corrida de eletroforese, fixada e observada em microscópio de epifluorescência para análise.



Fonte: Doktorovova et al, 2013

Inicialmente desenvolvido para testar a genotoxicidade de certos agentes químicos, o ensaio cometa evoluiu rápido como ferramenta para o biomonitoramento (Langie et al, 2015). Células de brânquias e hemolinfa *Mytilus galloprovincialis* (mexilhão) foram submetidas ao ensaio Cometa, na Baía de Çandarh (Turquia), por Kacar et al (2016), para realizar um monitoramento espaço/temporal. O experimento mostrou uma correlação positiva da frequência de dano com a presença de metais pesados e HPAs naquela baía. O mesmo ensaio foi aplicado em *Crenomytilus grayanus* (mexilhão) na baía de Nakhodka (Rússia), onde Slobodskova et al (2019) perceberam que a espécie expressava um terço a mais de danos genômicos do que

Fig. 4. Ensaio Cometa expressando os níveis de dano de acordo com a fragmentação do núcleo (de 0 a 4).



Fonte: Verçosa et al 2017

os espécimes coletados em ambiente pristino. Os autores consideraram o *C. grayanus* como uma ferramenta versátil para monitorar as praias urbanas locais.

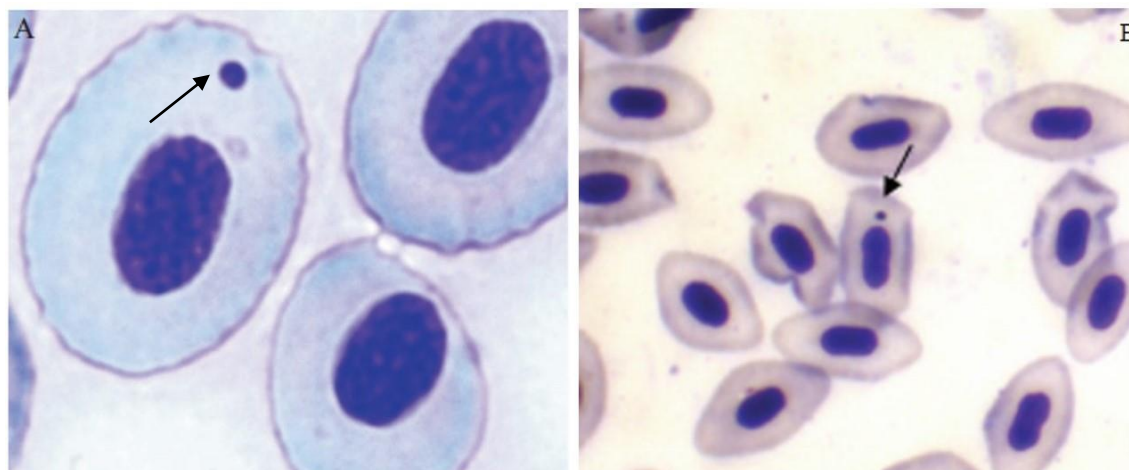
No norte do Irã, Ardeshir et al (2019) investigam os efeitos da alta contaminação de fipronil (pesticida) no Mar Cáspio, por meio do ensaio cometa executado em indivíduos locais de peixe branco, (*Rutilus kutum*) expostos a doses graduais de fipronil. Os resultados apresentaram uma progressão do dano genômico correlacionado ao fipronil, considerando esse um dos fatores responsáveis pela redução na taxa de sobrevivência de suas larvas e alevinos.

Nagarani et al (2020) executaram o ensaio cometa em vinte espécies de peixes para o monitoramento ambiental de dois pontos do Golfo de Mannar (Índia), relativamente próximos a locais antropizados. Os ensaios genotóxicos, concomitante com outros marcadores bioquímicos de toxicidade, mostrou o baixo estresse ambiental no local, indicando que os contaminantes identificados estavam em baixas concentrações tóxicas e que a combinação do ensaio cometa com outros marcadores toxicológicos aumentou a robustez do monitoramento.

2.4.2.2 O Teste do Micronúcleo

O teste de micronúcleo foi desenvolvido no final do século XIX por Howel e Jolly (Hayashi, 2016), que analisaram a exposição de células sanguíneas de rato sob efeitos clastogênicos e aneugênicos (Gutierrez et al, 2015). Essas anormalidades conhecidas como micronúcleos são corpos formados de cromatina, resultantes da fragmentação dos cromossomos acêntricos ou alterações nas fibras de fuso, fazendo com que cromossomos inteiros e fragmentos cromossômicos, durante a anáfase do ciclo celular, não sejam incorporados no núcleo em formação (Figura. 5) (Obiakor et al, 2012; Gutierrez et al, 2014; Michalová et al, 2020; Tripathy, 2020). O método baseia-se na contabilização diferencial de células normais e células com micronúcleos (Hayashi, 2016).

Fig. 5. Expressão de micronúcleos (seta) nas espécies *Oncorhynchus mykiss* (A) e *Cirrhinus mrigala* (B).



Fonte: Andreikenaite et al 2007; Bhatnagar et al, 2016

O teste de micronúcleo foi aplicado em *Tridacna maxima* (bivalve), junto de outros marcadores enzimáticos, para monitorar a costa leste do Mar Vermelho (Arábia Saudita), onde foi observado que cada marcador se expressava diferencialmente pela natureza do poluente (Al-Howiti et al, 2020). O micronúcleo foi mais expressivo na presença de alta salinidade e rejeitos químicos.

O teste de micronúcleos é reconhecido como uma ferramenta viável na confirmação da contaminação marinha por Almeida et al (2021), quando os autores fizeram um monitoramento no Porto de Itaquí. Aplicando o teste de micronúcleos em *Sciades herzbergii* como espécie indicadora, a alta danificação genômica na espécie constatou a contaminação da água, provavelmente pelos resíduos derramados do porto.

Ek-Huchim et al (2021) ao utilizarem o teste de micronúcleo em seis espécies de pleuronectiformes (*Syacium papillosum*, *Cyclopsetta chittendeni*, *Cyclopsetta fimbriata*, *Syacium micru-rum*, *Ancyclopsetta dilecta*, *Syacium gunteri*, e *Trichopsetta ventralis*) do golfo do México, expostos a HPAs e metais pesados, observaram tais espécies constituem biomonitoradores viáveis para monitorar os efeitos das atividades petrolíferas locais.

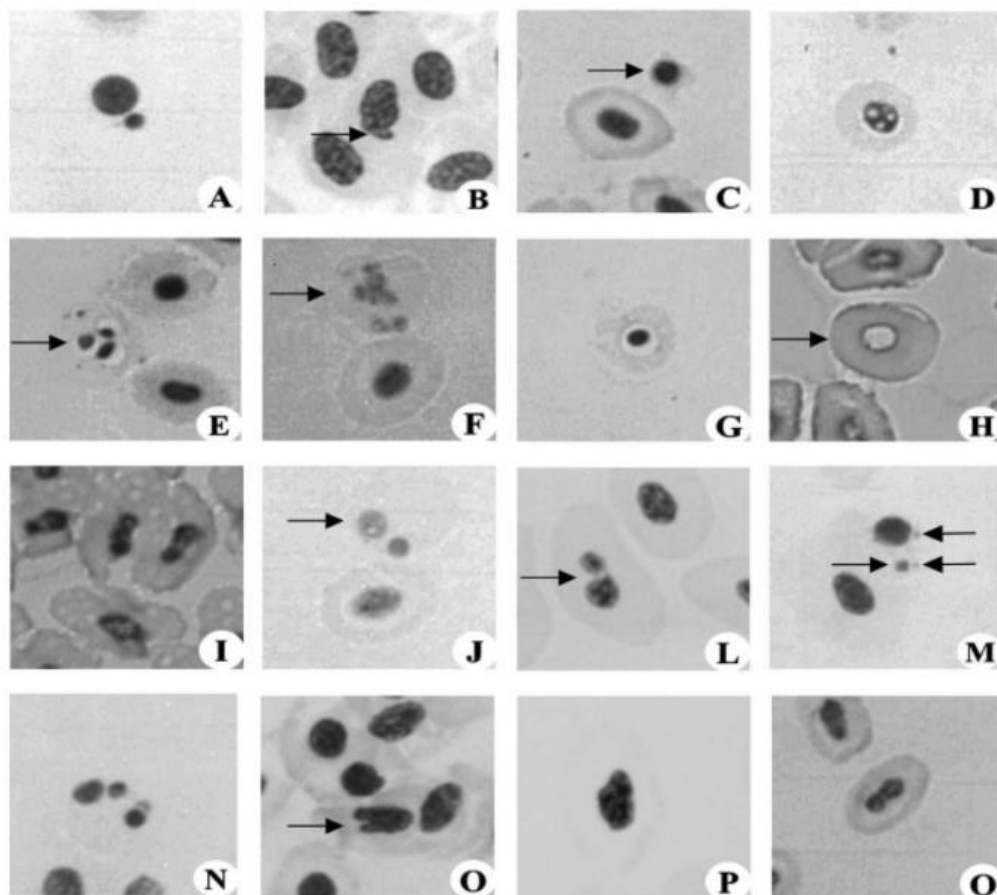
2.4.2.3 Alterações morfológicas nucleares

Avaliar as alterações morfológicas nucleares (AMN) é outro método de quantificação da reação genotóxica ou citotóxica de um organismo exposto a um ambiente contaminado (Botelho et al; 2015; Tripathy et al, 2020). Esta metodologia tem sido utilizada para o monitoramento em ambiente aquático, envolvendo contaminação de água doce e marinha por atividades agrícolas, domésticas e industriais (Gomes et al, 2015; Bianchi et al, 2019; Teles et al, 2019; Shah et al, 2020). A avaliação das alterações morfológicas nucleares foi descrita, primeiramente, por Carrasco et al (1990), em células sanguíneas de peixes. A mensuração das diferentes alterações morfológicas no núcleo é realizada similarmente àquela para a avaliação de células micronucleadas. Essas alterações nucleares são descritas por terem uma morfologia incomum ao que seria um núcleo celular normal (Gomes et al, 2015; Hussain et al, 2018) (Figura. 6). Tais alterações podem resultar de problemas na fase S da replicação celular, tendo como causas a alta temperatura, agentes clastogênicos e mutagênicos, peroxidação de lipídios no sangue e por espécies reativas de oxigênio (ROS) que prejudicam a permeabilidade e conformação do envoltório nuclear (Wang et al, 2013; Zamora-Perez et al 2014; Gomes et al, 2015; Kousar & Javed 2015; Sadiqul et al 2016; Shahjahan et al, 2019; Ashaf-Ud-Doulah et al 2019).

Ferrante et al (2017) ao fazer um biomonitoramento no litoral da Itália, tendo como bioindicador a espécie *Parablennius sanguinolentus*, demonstraram que a maior frequência de abnormalidades nucleares estava relacionada ao acúmulo de metais nos tecidos sanguíneo e do fígado dos peixes.

Nos estuários de Cananeia e dos municípios litorâneos paulistas Santos e São Vicente (Brasil), as AMNs analisadas em seis espécies locais (*Chaetodipterus faber*, *Paralanchurus brasiliensis*, *Achirus lineatus*, *Genyatremus luteus*, *Menticirrhus Americanos*, *Micropogonias furnieri*) mostraram que os espécimes coletadas nos sítios poluídos (Santos e São Vicente) apresentaram uma maior frequência de AMNs do que os espécimes em locais preservados (Cananéia) (Braga et al, 2017).

Fig. 6. Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares analisadas em *Oreochromis niloticus*, (A) micronúcleo; (B) bud nuclear; (C) micrócito (seta); (D) núcleo vacuolado; ((E)-(F)) fragmentação nuclear (setas); (G) retração nuclear; (H) cariólise; (I) citoplasma; ((J)-(L)) núcleo binucleado (setas); (M) núcleo beirando mais do que um simples micronúcleo (setas); (N) núcleo polinucleado; (O) núcleo notched; (P) núcleo lobado; (Q) núcleos blebbed. (1000x).



Fonte: Souza & Fontanetti, 2006

Na pesquisa de Braga et al (2019), por meio de um monitoramento marinho sazonal utilizando várias espécie de peixes do complexo industrial Santos-São Vicente, Baía de Santos-São Vicente e Estuário de Cananeia (Brasil), mostraram que o teste alterações nucleares foi efetivo para relacionar positivamente a genotoxicidade dos locais de coleta com a suas concentrações de oligoelementos e metais pesados.

Utilizando a espécie *Boreogadus saida* pela sua relevância ecológica, Lerebours et al (2021) aplicaram testes de alterações morfológicas nucleares para avaliar a suscetibilidade genotóxica da espécie por exposição a benzo(a)pireno. Os autores observaram que as concentrações utilizadas na pesquisa não ultrapassavam o limiar de efeitos lesivos significativos ao material genético.

2.5 ESPÉCIES BIOINDICADORAS

Um bioindicador é um conceito da toxicologia ambiental que representa um organismo com respostas biológicas quantificáveis que permitem identificar a provável presença de perturbações, contribuindo para avaliação da qualidade do seu ambiente (Mothersill & Seymuor, 2016). Respostas

fisiológicas, bioquímicas, comportamentais e genéticas podem ser avaliadas em bioindicadores para a verificação da ação de agentes perturbadores ambientais (Mothersill & Seymuor, 2016).

As características para um organismo ser elencado como um bioindicador são: população abundante e distribuída no local da perturbação, apresentar posição estratégica na cadeia trófica, apresentar facilidade de coleta ou cultivável em laboratório, capacidade de acumular contaminantes, apresentar longevidade possibilitando a comparação entre idades, fornecer tecidos ou células alvo para análises e apresentar uma relação dose-resposta direta ao contaminante (Michalack & Chojnacka, 2014).

O bioma marinho está cada vez mais exposto a uma diversidade maior de estressores (industriais e urbanos) (Talukdar et al, 2017; Ballesteros et al 2017; Xu et al, 2020). Para avaliar o impacto desses estressores, bioindicadores marinhos são competentes na detecção dos efeitos negativos desses agentes (Dalzochio et al, 2016; Ballesteros et al. 2017). Os pisceformes são bioindicadores de considerável sensibilidade para tais fins (Vencze et al, 2015; Dalzochio et al, 2016), pois são capazes de revelar seus efeitos em concentrações baixas de contaminantes, além de habitarem diferentes níveis tróficos (Pinheiro et al, 2019).

Peixes têm sido considerados bons bioindicadores para a avaliação de perturbadores ambientais genotóxicos, possibilitando o levantamento de dados ambientais, que se relacionam com a toxicidade in situ (Grisolia & Starling, 2001; Andrade et al, 2004; Porto et al, 2005; Dalzochio et al, 2016). Rocha et al (2009), Obiako et al (2012) e Zegura & Filipic (2019) apontam para a implementação desses ensaios em peixes como uma estratégia prática e viável para avaliação de risco e vulnerabilidade de ambientes marinhos e ação de efeitos tóxicos.

Para avaliar os efeitos da poluição do Mar Cáspio, Esmailbeigi et al (2021) expuseram 120 indivíduos de *Rutilus frissi kutum* a concentrações de benzo[*a*]pireno similares às encontradas no sítio de estudo. O ensaio cometa identificou altos níveis de danos genômicos no fígado e brânquias dos animais, assim como no sangue foi observado um número elevado de células micronucleadas e binucleadas quando comparado ao controle. Estes resultados colocaram em alerta o estado de saúde do Mar Cáspio.

Um biomonitoramento in situ no estuário de Cananéia-Iguape (Litoral do Brasil) foi realizado por Amaral et al (2021) com *Cathrops spixii* para acompanhar o impacto antropogênico, no período de 2009 a 2018. Os pesquisadores observaram um aumento da expressão de micronúcleos e abnormalidades nucleares ao longo do tempo, indicando uma vulnerabilidade do estuário quanto à ocupação humana, que também cresceu nesse intervalo de tempo.

Cui et al (2021) ao observarem, por meio do ensaio cometa, a sensibilidade genotóxica de *Mugilogobius chulae* exposto ao cascalho sujo de óleo expelido pela mineração marinha, apontaram a espécie como uma potencial ferramenta de monitoramento e detecção da contaminação marinha pelas atividades de extração de petróleo e gás natural no mar da China.

Campani et al (2020), aplicaram os teste de micronúcleo e abnormalidades nucleares em *Dicentrarchus labrax* modelos para observar o potencial tóxico de um modelo de sacola biodegradável

S.p.A, após 6 e 12 meses de deterioração. Os autores não identificaram diferença significativa nas lesões nucleares dos indivíduos expostos com o controle, sugerindo um indício de a sacola poder apresentar menor risco tóxico ao se deteriorar em meio marinho.

A espécie *Genidens genidens* foi objeto de estudo de Freire et al (2020) na avaliação marinha da poluição de três baías (Guanabara, Sepetiba e Ilha Grande) no Rio de Janeiro (Brasil). Devido ao histórico de poluição local pela antropização e pelo alto despejo de HPAs, os autores observaram, pelo teste de micronúcleo e alterações morfológicas aplicados, altos níveis de toxicidade ambiental e risco para a saúde pública.

Salgado et al (2019) utilizaram a espécie *Atherinella brasiliensis* da Área de Proteção Marinha do Complexo Estuarino de Cananeia-Iguape (Brasil), para correlacionar o dano genômico observado nesta espécie e a contaminação do sedimento por metais pesados, HPAs e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PPCP) de diferentes pontos do complexo. O ensaio cometa (em células hepáticas e sanguíneas), micronúcleo e alterações morfológicas nucleares (eritrócitos), mostraram uma grande perturbação genotóxica na espécie, próximo ao município de Cananeia, a qual apresenta uma variedade de atividades industriais e domésticas com potencial de degradação da qualidade do ambiente marinho.

2.5.1 *Abudefduf saxatilis* como bioindicador

Abudefduf saxatilis (Figura. 7) é uma espécie territorialista omnívora, residente de corais próximos às praias, que se alimenta no substrato coralíneo e na coluna d'água (fishbase.com, 2020) sendo caracterizado com grande potencial bioindicador (Jan, 2000; Gratwicke et al, 2006).

Fig. 7. Espécie bioindicador, *Abudefduf saxatilis*.



Fonte: O Autor (2021)

Espécimes do gênero *Abudefduf* têm sido utilizados como bioindicadores na análise da qualidade ambiental. Lobel (2005) observou alterações no desenvolvimento e reprodução de *Abudefduf sordidus* mediante a exposição a componentes químicos na água. A espécie tropical indo-pacífica *Abudefduf vaigiensis* foi utilizada como organismo modelo por Monaco et al (2021) para quantificar a importância relativa do feedback de densidade e fatores ambientais estocásticos nas taxas de crescimento populacional

separadas e agregadas de estágios de vida de colonos e juvenis, aplicando variantes do modelo Gompertz-logístico fenomenológico a um conjunto de dados de 14 anos. Esta mesma espécie foi utilizada para avaliar a influência da temperatura na seleção de macronutrientes (quantidades de energia de proteínas, lipídios e carboidratos), combinando métricas de desempenho metabólico, manipulações de alimentação e modelos de geometria nutricional.

Especificamente à espécie *A. saxatilis*, vários estudos demonstram a efetividade desta espécie como bioindicador. Herrera-Reveles et al (2013) observou em espécimes de *Abudefduf saxatilis* coletados em corais venezuelanos, a deposição de metais pesados nos seus otólitos. Os autores atribuíram este efeito à exposição desses corais à poluição urbana.

Rodrigués-Fuentes & Luna-Ramirez (2013), ao observar a abundância e distribuição desta espécie nos litorais, reconheceram *A. saxatilis* como um bom bioindicador para monitoramento da poluição no Caribe (México). Os autores observaram uma expressão da enzima Colinesterase nesta espécie (enzima tradicionalmente utilizada em biomonitoramentos envolvendo a contaminação por pesticidas e afins) diretamente ligada à exposição a carbamatos e organofosforados.

Leduc et al (2021) demonstraram a resiliência da espécie *A. saxatilis* à poluição sonora. Os animais não mostraram diferenças significativas quanto às habilidades cognitivas em diferentes tratamentos com ruídos.

Yosef et al (2019) observaram que o ecoturismo afeta a reprodução *A. saxatilis*, com a constatação da diminuição do tamanho e número de ninhos em recifes de agregação impactados.

2.6 PANDEMIA DO CORONAVIRUS, SARS-COV-2 (COVID 19) E O EFEITO DO LOCKDOWN NO IMPACTO TURÍSTICO NO LITORAL

Em dezembro de 2019, uma nova variante infecciosa do Coronavírus Sars-Cov-2 (COVID 19) se propagou na China (Rume & Islam, 2020). Essa nova variante viral, caracterizada por causar alguns sintomas similares ao da gripe, pode levar ao quadro de síndrome respiratória aguda grave (SARS), sendo esta a grande causa da maioria dos óbitos ocorridos (Arora et al, 2020). Com o número crescente de mortes, contaminados e, principalmente, a ausência de tratamentos médicos para amparar os enfermos, a doença se espalhou pelo mundo, gerando estado de emergência (Li et al, 2020; Manenti et al, 2020). Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) anunciou a crise como Estado de Pandemia.

Entendendo que a única medida segura de frear a propagação do vírus é o distanciamento social, vários governos adotaram medidas de Lockdown; que são ações que impedem a mobilidade humana (Manenti et al, 2020). Fazem parte dessa estratégia: reclusão doméstica e a proibição e fechamento de atividades dos setores não essenciais à subsistência (academias, bares, restaurantes, etc). Em muitos países, a ação afetou negativamente a economia desses setores, porém, em muitos casos essa interrupção econômica-social afetou positivamente o meio ambiente (Muhammed et al, 2020).

A suspensão dos veículos, transportes e indústrias resultou numa queda súbita na poluição do ar e em fontes d'água de muitos países (Bengala, Itália, Índia, Tailândia, Indonésia) (Rume & Islam, 2020). A interrupção da movimentação turística na costa foi um dos exemplos mais marcantes, pois sem a disponibilidade de hotéis, restaurantes e mercados para satisfazer os visitantes, incluindo nos cenários costeiros, foi observada uma recuperação dos ecossistemas pela ausência da perturbação antrópica (Zielinski & Botero, 2020).

Especificamente ao ambiente costeiro, várias praias indianas e latino-americanas apresentaram diferenças claras entre os períodos pré e pós-lockdown nas suas configurações bióticas e abióticas. Perturbações no ar por ruídos e gases do efeito estufa foram significativamente suprimidas e as águas marinhas ficaram mais claras com aspectos físico-químicos mais próximos ao ambiente não antropizado. A vegetação apresentou sinais de restauração, além do aumento na densidade e diversidade da fauna local (Franklin & Castro-Rodas, 2020; Coll, 2020; Edward et al, 2021).

O nordeste do Brasil foi uma das regiões mais impactadas pelo vírus no país, pois, por ser uma das regiões mais pobres, teve limitações para o controle dos casos, o que acabou acumulando um terço dos infectados brasileiros (Kerr et al, 2020). Apesar das dificuldades em executar as medidas de isolamento, restrições em hotéis e praias foram implantadas (Kerr et al, 2020). Porto de Galinhas, que captava números notáveis de turistas, teve uma séria diminuição no fluxo turístico devido às medidas restritivas. As atividades recreativas na faixa de areia ficaram proibidas de março de 2020 até junho de 2020, quando voltaram a funcionar de forma limitada até agosto de 2020. Os passeios de jangada continuaram proibidos até agosto de 2020, medidas estabelecidas pelo decreto do estado de Pernambuco e Prefeitura de Ipojuca (Brasil).

Esta inusitada situação ambiental tem proporcionado diversas pesquisas que objetivam avaliar os impactos da ausência/diminuição de ações antrópicas no meio ambiente. Shafeeque et al (2021) investigaram os efeitos do lockdown na poluição atmosférica e perturbação costeira na região sul da Ásia através de sensoriamento remoto, e notaram que, após a medida restritiva, a turbidez da água diminuiu de 11 a 29% e a emissão de poluentes no ar de 17 a 32% nos locais amostrados. Bera et al (2021) fizeram as mesmas análises na região de Kolkata (Índia), reconhecendo uma queda significativa nos principais poluentes locais e uma restauração do ambiente natural. Na Turquia, análises físico-químicas ao longo de 25 estações da bacia do rio Meriç-Ergene (Um dos rios mais poluídos da Turquia) confirmaram uma melhora radical na qualidade da água durante o lockdown; o índice de risco de contaminação por metais pesados caiu até 69% e o valor de risco carcinogênico, caiu de 60 a 94% (Tokatli & Varol, 2021).

REFERÊNCIAS

- Ahmad, F., Draz, M. U., Su, L., Ozturk, I., & Rauf, A. (2018). Tourism and environmental pollution: evidence from the one belt one road provinces of Western China. *Sustainability*, 10(10), 3520.
- AJPG, Associação de Jangadeiros de Porto e Galinhas. <https://www.ajpg.com.br/social>
- Al-Howiti, N. S., Othmen, Z. O. B., Othmane, A. B., & Chaffai, A. H. (2020). Use of *Tridacna maxima*, a bivalve in the biomonitoring of the Saudi Arabian Red Sea coast. *Marine pollution bulletin*, 150, 110766.
- Ali, M. U., Liu, G., Yousaf, B., Ullah, H., Abbas, Q., & Munir, M. A. M. (2019). A systematic review on global pollution status of particulate matter-associated potential toxic elements and health perspectives in urban environment. *Environmental geochemistry and health*, 41(3), 1131-1162
- Almeida Duarte, L. F., Moreno, J. B., Catharino, M. G. M., Moreira, E. G., Trombini, C., & Pereira, C. D. S. (2019). Mangrove metal pollution induces biological tolerance to Cd on a crab sentinel species subpopulation. *Science of the total environment*, 687, 768-779
- Almeida, S. F., Belfort, M. R., Cutrim, M. V., Carvalho-Costa, L. F., Pereira, S. R., & Luvizotto-Santos, R. (2021). DNA damage in an estuarine fish inhabiting the vicinity of a major Brazilian port. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93.
- Amaral, T. F., Miyasaki, F. H., Braga, E. S., & Azevedo, J. S. (2021). Temporal and spatial toxicogenetic damage in estuarine catfish *Cathorops spixii* from a marine protected area with evidence of anthropogenic influences. *Science of The Total Environment*, 149409.
- Andrade, V. M., de Freitas, T. R., & da Silva, J. (2004). Comet assay using mullet (*Mugil sp.*) and sea catfish (*Netuma sp.*) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 560(1), 57-67.
- Andreikėnaitė, L., Baršienė, J., & Vosylienė, M. Z. (2007). Studies of micronuclei and other nuclear abnormalities in blood of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with heavy metal mixture and road maintenance salts. *Acta Zoologica Lituanica*, 17(3), 213-219.
- Araldi, R. P., de Melo, T. C., Mendes, T. B., de Sá Júnior, P. L., Nozima, B. H. N., Ito, E. T., ... & de Cassia Stocco, R. (2015). Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 72, 74-82.
- Ardeshtir, R. A., Zolgharnien, H., Movahedinia, A., Salamat, N., Zabihi, E., & Rastgar, S. (2019). Measurement of DNA damage by CellProfiler software in the liver of Caspian white fish exposed to environmental concentrations of fipronil. *Computational Toxicology*, 12, 100105.
- Arora, S., Bhaukhandi, K. D., & Mishra, P. K. (2020). Coronavirus lockdown helped the environment to bounce back. *Science of the Total Environment*, 140573.

- Arslan, Ö. Ç., BOYACIOGLU, M., Nalbantlar, B., Gülsever, G., & Karaaslan, M. A. (2021). Micronucleus formation in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) haemolymph, liver and gill cells as biomarker in assessment of genotoxicity in Izmir Bay (Aegean Sea, Turkey). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(2), 1-1.
- Ashaf-Ud-Doula, M., Shahjahan, M., Islam, S. M., Al-Emran, M., Rahman, M. S., & Hossain, M. A. R. (2019). Thermal stress causes nuclear and cellular abnormalities of peripheral erythrocytes in Indian major carp, rohu *Labeo rohita*. *Journal of thermal biology*, 86, 102450.
- Aylward, L. L. (2018). Integration of biomonitoring data into risk assessment. *Current Opinion in Toxicology*, 9, 14-20.
- Azqueta, A., Slyskova, J., Langie, S. A., O'Neill Gaivão, I., & Collins, A. (2014). Comet assay to measure DNA repair: approach and applications. *Frontiers in genetics*, 5, 288.
- Ballesteros, M. L., Rivetti, N. G., Morillo, D. O., Bertrand, L., Amé, M. V., & Bistoni, M. A. (2017). Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess the impact of pollution in rivers with mixtures of environmental contaminants. *Science of the Total Environment*, 595, 711-722.
- Baqar, M., Arslan, M., Sadeq, Y., Mahmood, A., Qadir, A., & Ahmad, S. R. (2017). Persistent organic pollutants in Pakistan: Potential threat to ecological integrities in terms of genotoxicity and oxidative stress. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 23(6), 1249-1271.
- Barradas, J. I., Amaral, F. D., Hernández, M. I., Montes, M. J. F., & Steiner, A. Q. (2012). Tourism impact on reef flats in Porto de Galinhas beach, Pernambuco, Brazil.
- Barroso, M. S., Da Silva, B. J., Flores Montes, M. J., & Santos, P. J. (2018). Anthropogenic impacts on coral reef harpacticoid copepods. *Diversity*, 10(2), 32.
- Baršienė, J., Dedonytė, V., Rybakovas, A., Andreikėnaitė, L., & Andersen, O. K. (2006). Investigation of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral blood and kidney of marine fish treated with crude oil. *Aquatic Toxicology*, 78, S99-S104.
- Beeharry, Y., Bekaroo, G., Bussoopun, D., Bokhoree, C., & Phillips, M. R. (2021). Perspectives of leisure operators and tourists on the environmental impacts of coastal tourism activities: a case study of Mauritius. *Environment, Development and Sustainability*, 23(7), 10702-10726.
- Bellas, J., Hylland, K., & Burgeot, T. (2020). New Challenges in Marine Pollution Monitoring. *Frontiers in Marine Science*, 6, 820.
- Bera, B., Bhattacharjee, S., Shit, P. K., Sengupta, N., & Saha, S. (2021). Significant impacts of COVID-19 lockdown on urban air pollution in Kolkata (India) and amelioration of environmental health. *Environment, development and sustainability*, 23(5), 6913-6940.

- Bergamaschi, E., Canu, I. G., Prina-Mello, A., & Magrini, A. (2017). Biomonitoring. Adverse effects of engineered nanomaterials.
- Bhatnagar, A., Yadav, A. S., & Cheema, N. (2016). Genotoxic effects of chlorpyrifos in freshwater fish *Cirrhinus mrigala* using micronucleus assay. *Advances in Biology*, 2016.
- Bianchi, E., Dalzochio, T., Simões, L. A. R., Rodrigues, G. Z. P., da Silva, C. E. M., Gehlen, G., ... & da Silva, L. B. (2019). Water quality monitoring of the Sinos River Basin, Southern Brazil, using physicochemical and microbiological analysis and biomarkers in laboratory-exposed fish. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 19(3), 328-338.
- Bickham, J. W., Sandhu, S., Hebert, P. D., Chikhi, L., & Athwal, R. (2000). Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation research/Reviews in Mutation research*, 463(1), 33-51.
- Bolognesi, C., Cirillo, S., & Chipman, J. K. (2019). Comet assay in ecogenotoxicology: Applications in *Mytilus* sp. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, 50-59.
- Botelho, R. G., Monteiro, S. H., Christofolletti, C. A., Moura-Andrade, G. C. R., & Tornisiello, V. L. (2015). Environmentally relevant concentrations of atrazine and ametrine induce micronuclei formation and nuclear abnormalities in erythrocytes of fish. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 69(4), 577-585.
- Braga, E. S., Azevedo, J. S., Kuniyoshi, L., & Favaro, D. I. (2019). Zn, Co, Cr, As, and genotoxic effects in the ichthyofauna species from polluted and non-polluted/protected estuaries of the São Paulo Coast, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91.
- Braga, E. S., Azevedo, J. S., Oliveira, A. L., & Fávoro, D. I. T. (2017). Trace elements and nuclear abnormalities in fish species of two Brazilian estuarine regions—an attempt to increase the matrix for environmental monitoring. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 6(2), 00148
- Burak, S., Dogan, E., & Gazioglu, C. (2004). Impact of urbanization and tourism on coastal environment. *Ocean & Coastal Management*, 47(9-10), 515-527.
- Buss, D. F., Baptista, D. F., & Nessimian, J. L. (2003). Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cadernos de Saúde Pública*, 19, 465-473.
- Butrimavičienė, L., Baršienė, J., Greiciūnaitė, J., Stankevičiūtė, M., & Valskienė, R. (2018). Environmental genotoxicity and risk assessment in the Gulf of Riga (Baltic Sea) using fish, bivalves, and crustaceans. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(25), 24818-24828.
- Cabral, C. J., da Silva, W. F., & Girão, O. (2014). Impactos ambientais derivados do uso e ocupação da linha de costa em trechos das praias de Pau Amarelo e Maria Farinha—município de Paulista/PE: Estudo preliminar. *Revista da Casa da Geografia de Sobral (RCGS)*, 16(1).

Campani, T., Casini, S., Caliani, I., Pretti, C., & Fossi, M. C. (2020). Ecotoxicological investigation in three model species exposed to elutriates of marine sediments inoculated with bioplastics. *Frontiers in Marine Science*, 7, 229.

Campos, C. F., Morelli, S., De Campos Junior, E. O., Santos, V. S. V., De Moraes, C. R., Cunha, M. C., & Pereira, B. B. (2019). Assessment of the genotoxic potential of water courses impacted by wastewater treatment effluents using micronucleus assay in plants from the species *Tradescantia*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 82(13), 752-759.

Carrasco, K. R., Tilbury, K. L., & Myers, M. S. (1990). Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(11), 2123-2136.

Carugati, L., Gatto, B., Rastelli, E., Martire, M. L., Coral, C., Greco, S., & Danovaro, R. (2018). Impact of mangrove forests degradation on biodiversity and ecosystem functioning. *Scientific reports*, 8(1), 1-11.

Carvalhais, A., Pereira, B., Sabato, M., Seixas, R., Dolbeth, M., Marques, A., ... & Mieiro, C. (2021). Mild Effects of Sunscreen Agents on a Marine Flatfish: Oxidative Stress, Energetic Profiles, Neurotoxicity and Behaviour in Response to Titanium Dioxide Nanoparticles and Oxybenzone. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1567.

Çavaş, T., & Ergene-Gözükara, S. (2005). Micronucleus test in fish cells: a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environmental and molecular mutagenesis*, 46(1), 64-70.

Chellian, R., Pandey, V., & Mohamed, Z. (2017). Pharmacology and toxicology of α - and β -Asarone: A review of preclinical evidence. *Phytomedicine*, 32, 41-58.

Choudhuri, S., Kaur, T., Jain, S., Sharma, C., & Asthana, S. (2021). A review on genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 109531.

Coll, M. (2020). Environmental effects of the COVID-19 pandemic from a (marine) ecological perspective. *Ethics in Science and Environmental Politics*, 20, 41-55.

Cui, Z., Luan, X., Li, S., Zhao, X., Lin, Z., Li, J., ... & Xie, J. (2021). Genotoxicity detection of oil-containing drill cuttings by Comet assay based on a demersal marine fish *Mugilogobius chulae*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111655.

D'Costa, A., Shyama, S. K., & Kumar, M. P. (2017). Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution. *Ecotoxicology and environmental safety*, 142, 22-28.

Da Rocha, C. A. M., Dos Santos, R. A., Bahia, M. D. O., Da Cunha, L. A., Ribeiro, H. F., & Burbano, R. M. R. (2009). The micronucleus assay in fish species as an important tool for xenobiotic exposure risk

assessment—a brief review and an example using neotropical fish exposed to methylmercury. *Reviews in Fisheries Science*, 17(4), 478-484.

Dabin, J., Fortuny, A., & Polo, S. E. (2016). Epigenome maintenance in response to DNA damage. *Molecular cell*, 62(5), 712-727.

Dalzochio, T., Rodrigues, G. Z. P., Petry, I. E., Gehlen, G., & da Silva, L. B. (2016). The use of biomarkers to assess the health of aquatic ecosystems in Brazil: a review. *International Aquatic Research*, 8(4), 283-298.

Delmond, K. A., VicariDoktorovová, S. (2013). Development, physico-chemical and toxicological characterisation of solid lipid nanoparticles for application in breast cancer therapy. *Environmental Science* (Vol. 548, No. 4, p. 042040). IOP Publishing,

Guiloski, I. C., Dagostim, A. C., Voigt, C. L., de Assis, H. C. S., ... & Cestari, M. M. (2019). Antioxidant imbalance and genotoxicity detected in fish induced by titanium dioxide nanoparticles (NpTiO₂) and inorganic lead (PbII). *Environmental toxicology and pharmacology*, 67, 42-52.

Dennis, K. K., Marder, E., Balshaw, D. M., Cui, Y., Lynes, M. A., Patti, G. J., ... & Barr, D. B. (2017). Biomonitoring in the era of the exposome. *Environmental health perspectives*, 125(4), 502-510.

Dey, J., Sakhre, S., Gupta, V., Vijay, R., Pathak, S., Biniwale, R., & Kumar, R. (2018). Geospatial assessment of tourism impact on land environment of Dehradun, Uttarakhand, India. *Environmental monitoring and assessment*, 190(4), 1-10.

Dovzhenko, N. V., Slobodskova, V. V., Matrosova, I. V., & Pryazhevskaya, T. S. (2020). Biomonitoring of estuaries of the Peter the Great Bay (the Sea of Japan) using *Corbicula japonica* (Prime, 1864). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 421, No. 6, p. 062031). IOP Publishing.

Duarte, I. D., Dias, M. C., de Oliveira David, J. A., & Matsumoto, S. T. (2012). A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. *Revista Brasileira de Biociências*, 10(2), 211.

Dube, K., Nhamo, G., & Chikodzi, D. (2020). Climate change-induced droughts and tourism: Impacts and responses of Western Cape province, South Africa. *Journal of Outdoor Recreation and Tourism*, 100319.

Ecoassociados: Conservação de tartarugas marinhas. Disponível em: <https://www.ecoassociados.org.br/>

Edward, J. P., Jayanthi, M., Malleshappa, H., Jeyasanta, K. I., Laju, R. L., Patterson, J., ... & Grimsditch, G. (2021). COVID-19 lockdown improved the health of coastal environment and enhanced the population of reef-fish. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112124.

Ehigiamusoe, K. U. (2020). Tourism, growth and environment: analysis of non-linear and moderating effects. *Journal of Sustainable Tourism*, 28(8), 1174-1192.

- Eichler, P. P., De Farias, C. L., Amorin, A., De Moura, D. S., Andrade, A. D. P. U., Martins, J. F. D. O., ... & Gomes, M. P. (2019). Symbiont-bearing Foraminifera from reefal areas: a case study from Rio Grande Do Norte (RN, Brazil). *Journal of Foraminiferal Research*, 49(2), 131-140.
- Ek-Huchim, J. P., Árcega-Cabrera, F., May-Tec, A. L., Améndola-Pimenta, M., Ceja-Moreno, V., & Rodríguez-Canul, R. (2021). Red Blood Cell Cytotoxicity Associated to Heavy Metals and Hydrocarbons Exposure in Flounder Fish from Two Regions of the Gulf of Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-7.
- Esmaeilbeigi, M., Kalbassi, M. R., Seyedi, J., Tayemeh, M. B., & Moghaddam, J. A. (2021). Intra and extracellular effects of benzo [α] pyrene on liver, gill and blood of Caspian White fish (*Rutilus frissi kutum*): Cyto-genotoxicity and histopathology approach. *Marine Pollution Bulletin*, 163, 111942.
- Falcão, C. B. R., Pinheiro, M. A. A., Torres, R. A., & Adam, M. L. (2020). Spatial-temporal genome damaging in the blue crab *Cardisoma guanhumi* as ecological indicators for monitoring tropical estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 156, 111232.
- Falcão, M. C., Santos, C. D. F. S. O., & Gómez, C. R. P. (2009). Arranjos e sistemas produtivos e inovativos locais: inovação e desenvolvimento para destinos turísticos-o caso de Porto de Galinhas, Brasil. *PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*, 7(3), 433-450.
- Ferrante, M., Pappalardo, A. M., Ferrito, V., Pulvirenti, V., Fruciano, C., Grasso, A., ... & Copat, C. (2017). Bioaccumulation of metals and biomarkers of environmental stress in *Parablennius sanguinolentus* (Pallas, 1814) sampled along the Italian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 122(1-2), 288-296.
- FONSECA, R. D., PASSAVANTE, J. D. O., Maranhão, G. M. B., & Muniz, K. (2002). Ecossistema recifal da praia de Porto de Galinhas (Ipojuca, Pernambuco): biomassa fitoplanctônica e hidrologia. *Bol. Técn. Cient. CEPENE*, 10(1), 9-26.
- Freire, M. M., Amorim, L. M. F., Buch, A. C., Gonçalves, A. D., Sella, S. M., Cassella, R. J., ... & Silva-Filho, E. V. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons in bays of the Rio de Janeiro state coast, SE-Brazil: Effects on catfishes. *Environmental research*, 181, 108959.
- Fuentes-León, F., Peres de Oliveira, A., Quintero-Ruiz, N., Munford, V., Satoru Kajitani, G., Coimbra Brum, A., ... & Menck, C. F. M. (2020). DNA damage induced by late spring sunlight in Antarctica. *Photochemistry and Photobiology*, 96(6), 1215-1220.
- Garcés-Ordóñez, O., Díaz, L. F. E., Cardoso, R. P., & Muniz, M. C. (2020). The impact of tourism on marine litter pollution on Santa Marta beaches, Colombian Caribbean. *Marine pollution bulletin*, 160, 111558.
- Garcia, C., & Servera, J. (2003). Impacts of tourism development on water demand and beach degradation on the island of Mallorca (Spain). *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography*, 85(3-4), 287-300.

GERLING, C., Ranieri, C., Fernandes, L., Gouveia, M. T. D. J., & Rocha, V. (2016). Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores. Santos, SP: Editora Comunicar.

Gladstone, W., Curley, B., & Shokri, M. R. (2013). Environmental impacts of tourism in the Gulf and the Red Sea. *Marine pollution bulletin*, 72(2), 375-388.

Goliath, K., Mxunyelwa, S., & Timla, S. (2018). The impacts of coastal tourism on the Wild Coast community: A case study of Elliotdale. *African Journal of Hospitality, Tourism and Leisure*, 7(4), 1-7.

Gomes, J. M., Ribeiro, H. J., Procópio, M. S., Alvarenga, B. M., Castro, A. C., Dutra, W. O., ... & Correa Junior, J. D. (2015). What the erythrocytic nuclear alteration frequencies could tell us about genotoxicity and macrophage iron storage?. *PLoS One*, 10(11), e0143029.

Goyeneche, A. A., Abdouh, M., Youhnovska, E., de Alba Graue, P. G., Mastromonaco, C., McDonald, M. C., ... & Burnier, M. N. (2021). Deleterious genotoxic, metabolic, and oxidative stress effects of sunlight exposure on keratinocytes and fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 62(8), 2848-2848.

Gratwicke, B., Petrovic, C., & Speight, M. R. (2006). Fish distribution and ontogenetic habitat preferences in non-estuarine lagoons and adjacent reefs. *Environmental Biology of Fishes*, 76(2), 191-210.

Grisolia, C. K., & Starling, F. L. (2001). Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 491(1-2), 39-44.

Gutiérrez, J. M., Villar, S., & Plavan, A. A. (2015). Micronucleus test in fishes as indicators of environmental quality in subestuaries of the Río de la Plata (Uruguay). *Marine pollution bulletin*, 91(2), 518-523.

Hara, R. V., Lopes, B. P. V., dos Santos, F. P., & Oliveira, R. J. (2018). Aplicabilidade de ensaios da genética toxicológica no biomonitoramento de ambientes aquáticos e promoção da saúde humana. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, 25(48-49), 20-25.

Hayashi, M. (2016). The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test—. *Genes and Environment*, 38(1), 1-6.

Herrera-Reveles, A. T., Lemus, M., Marín, B., & Prin, J. L. (2013). Trace metal incorporation in otoliths of a territorial coral reef fish (*Abudefduf saxatilis*) as an environmental monitoring tool. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 1, p. 34007). EDP Sciences.

Hussain, B., Sultana, T., Sultana, S., Masoud, M. S., Ahmed, Z., & Mahboob, S. (2018). Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), 393-398.

ICTN: Índice de Competitivade Turística Nacional (2015)

- Imam, R. S. (2019). Genotoxicity of Monosodium Glutamate: A Review on its Causes, Consequences and Prevention. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53(4), S510-S517.
- Jan, R. Q. (2000). Resource limitation underlying reproductive strategies of coral reef fishes: a hypothesis. *ZOOLOGICAL STUDIES-TAIPEI*, 39(3), 266-274.
- Kacar, A., Pazi, I., Gonul, T., & Kucuksezgin, F. (2016). Marine pollution risk in a coastal city: use of an eco-genotoxic tool as a stress indicator in mussels from the Eastern Aegean Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(16), 16067-16078.
- Kaur, R., Shah, T. K., Kaur, S., & Rani, S. (2018). A review on genotoxicity in aquatic organisms and environment. *J Pharm Innov*, 7(1), 353-359.
- Kerr, L., Kendall, C., Silva, A. A. M. D., Aquino, E. M. L., Pescarini, J. M., Almeida, R. L. F. D., ... & Barreto, M. L. (2020). COVID-19 no Nordeste brasileiro: sucessos e limitações nas respostas dos governos dos estados. *Ciência & Saúde Coletiva*, 25, 4099-4120.
- Khan, M. I., Zahoor, M., Khan, A., Gulfam, N., & Khisroon, M. (2019). Bioaccumulation of heavy metals and their genotoxic effect on freshwater mussel. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 102(1), 52-58.
- Kina (2017) Porto de Galinhas recebe 12 milhões de turistas. *Diário do Turismo*. <https://diariodoturismo.com.br/porto-de-galinhas-recebe-12-milhao-de-%20turistas-20-sao-estrangeiros/>
- Kousar, S., & Javed, M. (2015). Studies on induction of nuclear abnormalities in peripheral blood erythrocytes of fish exposed to copper. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(4), 879-886.
- Kroon, F. J., Berry, K. L., Brinkman, D. L., Kookana, R., Leusch, F. D., Melvin, S. D., ... & Williams, M. (2020). Sources, presence and potential effects of contaminants of emerging concern in the marine environments of the Great Barrier Reef and Torres Strait, Australia. *Science of the Total Environment*, 719, 135140.
- Langie, S. A., Azqueta, A., & Collins, A. R. (2015). The comet assay: past, present, and future. *Frontiers in genetics*, 6, 266.
- Leduc, A. O., Costa, J. S. O., do Nascimento Silva, R. R., Winandy, G. S., & de Araujo, C. B. (2021). Spatial cognitive abilities of a tide-pool fish show resilience to noise pollution. *Journal of Ethology*, 39(2), 225-234.
- Lee, R. F., & Steinert, S. (2003). Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544(1), 43-64.

- Leitão, A., Al-Shaikh, I., Hassan, H., Hamadou, R. B., & Bach, S. (2017). First genotoxicity assessment of marine environment in Qatar using the local Pearl oyster *Pinctada radiata*. *Regional Studies in Marine Science*, 11, 23-31.
- Lerebours, A., Murzina, S., Song, Y., Tollefsen, K. E., Benedetti, M., Regoli, F., ... & Nahrgang, J. (2021). Susceptibility of polar cod (*Boreogadus saida*) to a model carcinogen. *Marine Environmental Research*, 105434.
- Li, L., Li, Q., Huang, L., Wang, Q., Zhu, A., Xu, J., ... & Chan, A. (2020). Air quality changes during the COVID-19 lockdown over the Yangtze River Delta Region: An insight into the impact of human activity pattern changes on air pollution variation. *Science of the Total Environment*, 732, 139282.
- Lima, A. R., Torres, R. A., Jacobina, U. P., Pinheiro, M. A., & Adam, M. L. (2019). Genomic damage in *Mugil curema* (Actinopterygii: Mugilidae) reveals the effects of intense urbanization on estuaries in northeastern Brazil. *Marine pollution bulletin*, 138, 63-69.
- Lins, J. A. P. N., Kirschnik, P. G., da Silva Queiroz, V., & Cirio, S. M. (2010). Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 8(4), 469-484.
- Lobel, L. K. (2005). Field studies evaluating developmental and reproductive effects of chemical exposure in the coral reef fish, *Abudefduf sordidus* (Pomacentridae). University of Massachusetts Boston.
- MacNeill, T., & Wozniak, D. (2018). The economic, social, and environmental impacts of cruise tourism. *Tourism Management*, 66, 387-404.
- Magalhães, D. D. P., & Ferrão Filho, A. D. S. (2008). A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, 12 (3), 355-381
- Manenti, R., Mori, E., Di Canio, V., Mercurio, S., Picone, M., Caffi, M., ... & Rubolini, D. (2020). The good, the bad and the ugly of COVID-19 lockdown effects on wildlife conservation: Insights from the first European locked down country. *Biological conservation*, 249, 108728.
- Manisalidis, I., Stavropoulou, E., Stavropoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2020). Environmental and health impacts of air pollution: a review. *Frontiers in public health*, 8, 14.
- Marshall, D. J., Abdelhady, A. A., Wah, D. T. T., Mustapha, N., Gödeke, S. H., De Silva, L. C., & Hall-Spencer, J. M. (2019). Biomonitoring acidification using marine gastropods. *Science of The Total Environment*, 692, 833-843.
- Martins, M., & Costa, P. M. (2015). The comet assay in Environmental Risk Assessment of marine pollutants: applications, assets and handicaps of surveying genotoxicity in non-model organisms. *Mutagenesis*, 30(1), 89-106.
- Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C., & Marin-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated

by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 148-158.

Medeiros, L. C. C., Delunardo, F. A. C., Simões, L. N., Paulino, M. G., Vargas, T. S., Fernandes, M. N., ... & Chippari-Gomes, A. R. (2017). Water-soluble fraction of petroleum induces genotoxicity and morphological effects in fat snook (*Centropomus parallelus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 144, 275-282.

Melo, R. D. S., Lins, R. P. M., & Eloy, C. C. (2014). O impacto do turismo em ambientes recifais: caso praia Seixas-Penha, Paraíba, Brasil. *REDE-Revista Eletrônica do Prodema*, 8(1).

Mesquita, D., & Xavier, G. (2013). O turismo e a sua atuação na expansão do espaço urbano: o caso porto de galinhas-Ipojuca-PE. *Turismo-Visão e Ação*, 15(2), 207-225.

Michalak, I., & Chojnacka, K. (2014). *Effluent Biomonitoring*.

Michalová, V., Galdíková, M., Holečková, B., Koleníčová, S., & Schwarzbacherová, V. (2020). MICRONUCLEUS ASSAY IN ENVIRONMENTAL BIOMONITORING. *FOLIA VETERINARIA* , 64(2), 20-28.

Mingard, C., Wu, J., McKeague, M., & Sturla, S. J. (2020). Next-generation DNA damage sequencing. *Chemical Society Reviews*, 49(20), 7354-7377.

Mohammed, A. K. (2018). An Assessment of Tourism's Environmental Impact on the Lake Bosomtwe Basin. *International Journal of Hospitality & Tourism Administration*, 19(3), 259-288.

Møller, P. (2018). The comet assay: ready for 30 more years. *Mutagenesis*, 33(1), 1-7.

Monaco, C. J., Nagelkerken, I., Booth, D. J., Figueira, W. F., Gillanders, B. M., Schoeman, D. S., & Bradshaw, C. J. (2021). Opposing life stage-specific effects of ocean warming at source and sink populations of range-shifting coral-reef fishes. *Journal of Animal Ecology*, 90(3), 615-627.

Mothersill, C., & Seymour, C. (2016). Genomic instability and the spectrum of response to low radiation doses. In *Genome Stability* (pp. 601-614). Academic Press.

Muhammed, A. Y., Adenike, M., & Salahudeen, H. (2020). The impact of Covid-19 lockdown on socio-economic activities in Kaduna State, Nigeria. *Journal of Sustainable Tourism and Entrepreneurship*, 2(1), 41-51.

Musri, C. A., Palma-Rojas, C., von Brand, E., & Abessa, D. M. S. (2021). Environmental Genotoxicity Assessment Using Micronucleus (and Nuclear Abnormalities) Test on Intertidal Mussel *Perumytilus purpuratus*: A Tool for Biomonitoring the Chilean Coast. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-7.

- Nagarani, N., Anand, M., & Kumaraguru, A. K. (2020). Environmental monitoring using biomarkers in relevance to heavy metal pollution in coastal areas of the Gulf of Mannar. *Indian Journal of Experimental Biology*, 58, 794-802
- Nascimento, M. R., & Silva, D. N. S. (2018). Meio ambiente e educação ambiental: reflexões a partir da expansão urbana em Porto de Galinhas–PE-Brasil. *Revista Brasileira Do Ensino Médio*, 1(1), 89-100.
- Nascimento, M. R., & Silva, D. N. S. (2018). Meio ambiente e educação ambiental: reflexões a partir da expansão urbana em Porto de Galinhas–PE-Brasil. *Revista Brasileira Do Ensino Médio*, 1(1), 89-100.
- Nigro, M., Bernardeschi, M., Costagliola, D., Della Torre, C., Frenzilli, G., Guidi, P., ... & Rocco, L. (2015). n-TiO₂ and CdCl₂ co-exposure to titanium dioxide nanoparticles and cadmium: Genomic, DNA and chromosomal damage evaluation in the marine fish European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Toxicology*, 168, 72-77.
- Nunes, L. J., Raposo, M. A., & Gomes, C. J. P. (2020). The Impact of Tourism Activity on Coastal Biodiversity: A Case Study at Praia da Cova Redonda (Algarve – Portugal) *Environments*, 7(10), 88.
- Obiakor, M. O., Okonkwo, J. C., Nnabude, P. C., & Ezeonyejiaku, C. D. (2012). Eco-genotoxicology: micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ aquatic pollution biomarker: a review. *Journal of Animal Science Advances*, 2(1), 123-133.
- Oliveira, A. C. C. D. A., & Melo, R. (2012). Dinâmica da paisagem e proposição de cenários ambientais: um estudo da planície costeira de Estância, Sergipe, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 12(2), 175-193.
- OLIVEIRA, N. R., dos SANTOS, C. R., & Turra, A. (2018). Percepção ambiental como subsídio para gestão costeira da Baía do Araçá, Litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, 44.
- Orani, A. M., Barats, A., Vassileva, E., & Thomas, O. P. (2018). Marine sponges as a powerful tool for trace elements biomonitoring studies in coastal environment. *Marine pollution bulletin*, 131, 633-645.
- Ormaza-González, F., & Castro-Rodas, D. (2020). COVID-19 Impacts on beaches and coastal water pollution: Management proposals post-pandemic. *Preprints*, 1, 0186
- Pampanin, D. M., Brooks, S. J., Grøsvik, B. E., Le Goff, J., Meier, S., & Sydnes, M. O. (2017). DNA adducts in marine fish as biological marker of genotoxicity in environmental monitoring: The way forward. *Marine environmental research*, 125, 49-62.
- Pannetier, P., Cachot, J., Clérandeau, C., Faure, F., Van Arkel, K., de Alencastro, L. F., ... & Morin, B. (2019). Toxicity assessment of pollutants sorbed on environmental sample microplastics collected on beaches: Part I-adverse effects on fish cell line. *Environmental pollution*, 248, 1088-1097.

- Pannetier, P., Morin, B., Le Bihanic, F., Dubreil, L., Clérandeau, C., Chouvellon, F., ... & Cachot, J. (2020). Environmental samples of microplastics induce significant toxic effects in fish larvae. *Environment international*, 134, 105047.
- Piñeros, V. J., & Gutiérrez-Rodríguez, C. (2017). Population genetic structure and connectivity in the widespread coral-reef fish *Abudefduf saxatilis*: the role of historic and contemporary factors. *Coral Reefs*, 36(3), 877-890.
- Pinheiro, J. P. S., de Assis, C. B., Muñoz-Peñuela, M., Júnior, F. B., Correia, T. G., & Moreira, R. G. (2019). Water temperature and acid pH influence the cytotoxic and genotoxic effects of aluminum in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). *Chemosphere*, 220, 266-274.
- Poetsch, A. R. (2020). The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Computational and structural biotechnology journal*, 18, 207-219.
- Porto, J. I., Araujo, C. S., & Feldberg, E. (2005). Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research*, 97(3), 287-292.
- Prefeitura de Ipojuca (2019) Prefeitura de Ipojuca promove visita ao projeto Hippocampus, <https://www.ipojuca.pe.gov.br/2019/06/06/prefeitura-do-ipojuca-promove-visita-ao-projeto-hippocampus-fotos/>
- Prefeitura de Ipojuca: <https://www.ipojuca.pe.gov.br/>
- Riniwati, H., Harahab, N., & Abidin, Z. (2019). A vulnerability analysis of coral reefs in coastal ecotourism areas for conservation management. *Diversity*, 11(7), 107.
- Rodríguez-Fuentes, G., Soto, M., & Luna-Ramírez, K. (2013). Characterization of cholinesterases in the damselfish Sergeant major (*Abudefduf saxatilis*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 96, 99-102.
- Rume, T., & Islam, S. D. U. (2020). Environmental effects of COVID-19 pandemic and potential strategies of sustainability. *Heliyon*, e04965.
- Sadiqul, I. M., Ferdous, Z., Nannu, M. T. A., Mostakim, G. M., & Rahman, M. K. (2016). Acute exposure to a quinalphos containing insecticide (convoy) causes genetic damage and nuclear changes in peripheral erythrocytes of silver barb, *Barbonymus gonionotus*. *Environmental Pollution*, 219, 949-956.
- Salazar, V. S., & Pereira, Y. V. (2007). Complexo Porto de Galinhas: um paraíso e uma arena competitiva? *Revista Acadêmica Observatório de Inovação do Turismo*, 2(2).
- Salgado, L. D., Marques, A. E. M. L., Kramer, R. D., de Oliveira, F. G., Moretto, S. L., de Lima, B. A., ... & de Assis, H. C. S. (2019). Integrated assessment of sediment contaminant levels and biological responses in sentinel fish species *Atherinella brasiliensis* from a sub-tropical estuary in south Atlantic. *Chemosphere*, 219, 15-27.

- Salvagni, J., Ternus, R. Z., & Fuentefria, A. M. (2011). Assessment of the genotoxic impact of pesticides on farming communities in the countryside of Santa Catarina State, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 34(1), 122-126.
- Santos, J. G., & Cândido, G. A. (2018). Atividades turísticas e indicadores de sustentabilidade: Um estudo em um destino turístico brasileiro, 16(1), 37-54.
- Sarmiento, V. C., & Santos, P. J. P. (2012). Trampling on coral reefs: tourism effects on harpacticoid copepods. *Coral Reefs*, 31(1), 135-146.
- Shafeeque, M., Arshad, A., Elbeltagi, A., Sarwar, A., Pham, Q. B., Khan, S. N., ... & Al-Ansari, N. (2021). Understanding temporary reduction in atmospheric pollution and its impacts on coastal aquatic system during COVID-19 lockdown: a case study of South Asia. *Geomatics, Natural Hazards and Risk*, 12(1), 560-580.
- Shah, N., Khan, A., Ali, R., Marimuthu, K., Uddin, M. N., Rizwan, M., ... & Khisroon, M. (2020). Monitoring bioaccumulation (in gills and muscle tissues), hematology, and genotoxic alteration in *Ctenopharyngodon idella* exposed to selected heavy metals. *BioMed research international*, 2020, 6185231.
- Shahjahan, M., Rahman, M. S., Islam, S. M., Uddin, M. H., & Al-Emran, M. (2019a). Increase in water temperature increases acute toxicity of sumithion causing nuclear and cellular abnormalities in peripheral erythrocytes of zebrafish *Danio rerio*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 36903-36912.
- Silva, J. P., De Jesus, P., & da Fonseca, J. M. (2011). Turismo, economia solidária e inclusão social em Porto de Galinhas, PE. *Caderno Virtual de Turismo*, 11(3).
- Slobodskova, V. V., Zhuravel, E. V., Kukla, S. P., & Chelomin, V. P. (2019). Evaluation of DNA damage in the marine mussel *Crenomytilus grayanus* as a genotoxic biomarker of pollution. *Journal of Ocean University of China*, 18(1), 159-164.
- Souto, E. B., Campos, J. R., Da Ana, R., Martins-Gomes, C., Silva, A. M., Souto, S. B., ... & Santini, A. (2020). Ocular cell lines and genotoxicity assessment. *International journal of environmental research and public health*, 17(6), 2046.
- Souza, S., T., & Fontanetti, C. S. (2006). Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605(1-2), 87-93.
- Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology*, 25, 101084.
- Stankevičiūtė, M., Jakubowska, M., Pažusienė, J., Makaras, T., Otremba, Z., Urban-Malinga, B., ... & Andrulewicz, E. (2019). Genotoxic and cytotoxic effects of 50 Hz 1 mT electromagnetic field on larval

rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Baltic clam (*Limecola balthica*) and common ragworm (*Hediste diversicolor*). *Aquatic Toxicology*, 208, 109-117.

Talukdar, B., Kalita, H. K., Basumatary, S., Saikia, D. J., & Sarma, D. (2017). Cytotoxic and genotoxic affects of acid mine drainage on fish *Channa punctata* (Bloch). *Ecotoxicology and environmental safety*, 144, 72-78.

Teles, M., Reyes-López, F. E., Balasch, J. C., Tvarijonaviciute, A., Guimarães, L., Oliveira, M., & Tort, L. (2019). Toxicogenomics of gold nanoparticles in a marine fish: linkage to classical biomarkers. *Frontiers in Marine Science*, 6, 147.

Thirunavukkarasu, S., Vasanthi, R., Karunasakaran, G., & Munuswamy, N. (2020). Coastal water quality impact on community structure and genotoxicity of marine zooplankton. *Regional Studies in Marine Science*, 39, 101392.

Tischer, V. (2016). DIAGNÓSTICO SOCIOAMBIENTAL DE MUNICÍPIOS COSTEIROS BASEADO EM UM SISTEMA DE INDICADORES. *Revista Internacional de Ciências*, 6(1), 64-88.

Tokatlı, C., & Varol, M. (2021). Impact of the COVID-19 lockdown period on surface water quality in the Meriç-Ergene River Basin, Northwest Turkey. *Environmental Research*, 197, 111051.

Tripathy, S. K. (2020). AN ANTHOLOGY OF CYTOGENETIC END POINTS LIKE MICRONUCLEUS TEST, COMET ASSAY AND CHROMOSOMAL ABERRATION ASSAY IN PISCES. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 13(2), 126-150.

Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.

van Oosterom, J., King, S. C., Negri, A., Humphrey, C., & Mondon, J. (2010). Investigation of the mud crab (*Scylla serrata*) as a potential bio-monitoring species for tropical coastal marine environments of Australia. *Marine pollution bulletin*, 60(2), 283-290.

Vasconcellos Pegas, F., Castley, G., & Neto, A. Q. (2018). Tourism development and impacts on reef conservation in Brazil. In *Coral Reefs: Tourism, Conservation and Management* (pp. 198-211). Routledge.

Verçosa, C. J., de Moraes Filho, A. V., de Araújo Castro, Í. F., Dos Santos, R. G., Cunha, K. S., e Silva, D. D. M., ... & Rohde, C. (2017). Validation of Comet assay in Oregon-R and Wild type strains of *Drosophila melanogaster* exposed to a natural radioactive environment in Brazilian semiarid region. *Ecotoxicology and environmental safety*, 141, 148-153.

Vignardi, C. P., Hasue, F. M., Sartório, P. V., Cardoso, C. M., Machado, A. S., Passos, M. J., ... & Phan, N. V. (2015). Genotoxicity, potential cytotoxicity and cell uptake of titanium dioxide nanoparticles in the marine fish *Trachinotus carolinus* (Linnaeus, 1766). *Aquatic Toxicology*, 158, 218-229.

- Vijay, R., Kushwaha, V. K., Chaudhury, A. S., Naik, K., Gupta, I., Kumar, R., & Wate, S. R. (2016). Assessment of tourism impact on land use/land cover and natural slope in Manali, India: a geospatial analysis. *Environmental Earth Sciences*, 75(1), 20.
- Vincze, K., Scheil, V., Kuch, B., Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2015). Impact of wastewater on fish health: a case study at the Neckar River (Southern Germany) using biomarkers in caged brown trout as assessment tools. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(15), 11822-11839.
- Wang, C. Y., Liu, L. N., & Zhao, Z. B. (2013). The role of ROS toxicity in spontaneous aneuploidy in cultured cells. *Tissue and Cell*, 45(1), 47-53.
- Williamson, J. E., Byrnes, E. E., Clark, J. A., Connolly, D. M., Schiller, S. E., Thompson, J. A., ... & Raoult, V. (2017). Ecological impacts and management implications of reef walking on a tropical reef flat community. *Marine pollution bulletin*, 114(2), 742-750.
- Wong, C. M., Conti-Jerpe, I., Raymundo, L. J., Dingle, C., Araujo, G., Ponzo, A., & Baker, D. M. (2019). Whale shark tourism: impacts on coral reefs in the Philippines. *Environmental management*, 63(2), 282-291.
- Wood, ELIZABETH (2018). Impacts of sunscreens on coral reefs. *International Coral Reef Initiative (ICRI)*, 20.
- Yosef, R., Abergil, Y., & Morelli, F. (2019). Ecotourism affects breeding in sergeant major damselfish (*Abudefduf saxatilis*). *Journal of environmental management*, 237, 1-4.
- Younes-Baraillé, Y., Garcia, X. F., & Gagneur, J. (2005). Impact of the longitudinal and seasonal changes of the water quality on the benthic macroinvertebrate assemblages of the Andorran streams. *Comptes rendus biologiques*, 328(10-11), 963-976.
- Zahedi, S. (2008). Tourism impact on coastal environment. *WIT Transactions on The Built Environment*, 99, 45-57.
- Zambrano-Monserrate, M. A., & Ruano, M. A. (2020). Has air quality improved in Ecuador during the COVID-19 pandemic? A parametric analysis. *Air Quality, Atmosphere & Health*, 13(8), 929-938.
- Zamora-Perez, A. L., Ortiz-García, Y. M., Lazalde-Ramos, B. P., Guerrero-Velázquez, C., Gómez-Meda, B. C., Ramírez-Aguilar, M. Á., & Zúñiga-González, G. M. (2015). Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research*, 50(1), 28-36.
- Žegura, B., & Filipič, M. (2019). The application of the Comet assay in fish cell lines. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, 72-84.

Žegura, B., Heath, E., Černoša, A., & Filipič, M. (2009). Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. *Chemosphere*, 75(11), 1453-1460.

Zhou, Q., Yang, N., Li, Y., Ren, B., Ding, X., Bian, H., & Yao, X. (2020). Total concentrations and sources of heavy metal pollution in global river and lake water bodies from 1972 to 2017. *Global ecology and conservation*, 22, e00925.

Zielinski, S., & Botero, C. M. (2020). Beach tourism in times of COVID-19 pandemic: critical issues, knowledge gaps and research opportunities. *International journal of environmental research and public health*, 17(19), 7288.

Zuo, B., & Huang, S. (2018). Revisiting the tourism-led economic growth hypothesis: The case of China. *Journal of Travel Research*, 57(2), 151-163.

ARTIGO

TÍTULO: TOXICIDADE GENÔMICA, CONTRASTE DO REGIME TURÍSTICO, O LOCKDOWN DO COVID-19 E OS EFEITOS NO AMBIENTE RECIFAL.

José Rodolfo de Lima e Silva¹, Anderson Rodrigues Balbino de Lima², Demetrios Lucas da Silva¹, José Souto Rosa Filho³, Mônica Lúcia Adam¹

1. Programa de Pós – Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.
2. Programa de Pós – Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.
3. Programa de Pós – Graduação em Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

Resumo

A ocupação turística nos litorais é um processo que gera preocupação ao setor ambiental por ameaçar a estabilidade dos vários ecossistemas costeiros. Por esta razão é importante realizar monitoramentos ambientais que analisem e quantifiquem o impacto ambiental dos seus ecossistemas. A praia de Porto de Galinhas (Pernambuco - Brasil) possui uma das maiores demandas de visitação do Brasil e sofreu igualmente as restrições de mobilidade humana devido à pandemia do Covid 19. Tais restrições possibilitaram avaliar o impacto do turismo na praia de Porto de Galinhas e o efeito da desocupação turística durante o período de lockdown de 2020. Amostras de sangue da espécie *Abudefduf saxatilis* foram coletadas mensalmente, durante um ano e no trimestre de lockdown, para realização do Teste de Micronúcleo (MN), Alterações Morfológicas Nucleares (AMN) e de forma sazonal (período seco/chuvoso) do Ensaio Cometa. Como grupo controle, espécimes de *A. saxatilis* foram coletados em área de proteção ambiental na praia de Tamandaré (68Km de Porto de Galinhas). Os testes de MN e AMN mostraram, de forma significativa, a relação de maior ocorrência de danos genômicos com o maior fluxo turístico. Em relação ao ensaio cometa, o teste novamente mostrou uma maior incidência e frequência de danos genômicos no cenário normal de atividade turística, do que nos cenários quando a mobilidade humana estava restrita (Lockdown e controle). Os resultados mostraram que o turismo vem causando significativo impacto ambiental na praia de Porto de Galinhas. As observações levantadas no período de lockdown mostraram como a ausência da movimentação humana resultou em mudanças favoráveis à recuperação ambiental, demonstrada pela menor ocorrência de danos genômicos.

Palavras chaves: Monitoramento ambiental, praias, genotoxicidade, Impacto do turismo, Pandemia do Covid 19.

1. Introdução

A rápida expansão da indústria do turismo, resultante da crescente tendência das pessoas visitarem novos lugares, tem realçado a elevada importância social e econômica dessa atividade (Canteiro et al., 2018; Barbosa, 2020). Em 2019, o setor teve um aumento de 4%, sendo cerca de 1,5 bilhões de translocações turísticas observadas mundialmente (UNWTO, 2021). O turismo é também uma das mais importantes atividades econômicas nas regiões costeiras, em particular nos países tropicais (Gössling et al, 2018). Os benefícios que as regiões costeiras trazem às populações humanas, como a disponibilização de uma ampla variedade de serviços ecossistêmicos, induzem o seu rápido desenvolvimento, estimulado principalmente pelo turismo e expansão residencial. O ecossistema mais comum nas regiões costeiras tropicais são as praias, onde as interações entre espécies e humanos podem determinar a estrutura das comunidades animais e vegetais (Araújo et al., 2018; Cowburn et al., 2018).

As ameaças naturais e antrópicas podem influenciar na dinâmica deste ecossistema, onde a magnitude do impacto pode ser mensurada pela severidade da pressão antrópica e a vulnerabilidade do próprio ecossistema (Suciu et al., 2017; Soto et al, 2021). O uso intensivo dos ambientes costeiros pode resultar na redução dos serviços ecossistêmicos disponibilizados, e, conseqüentemente, um aumento da pobreza e inequidade (Canteiro et al., 2018). A degradação do ambiente (terrestre e marinho), associada à perda da biodiversidade, está classificadas entre os 5 principais riscos para a economia global (Diaz et al., 2019; Coll, 2020). Portanto, o entendimento e quantificação destes efeitos têm se tornado premente para a tomada de ações, visando o desenvolvimento sustentável e a manutenção do equilíbrio das interações entre humanos e a vida selvagem (Coll, 2020).

O que o turismo e a ocupação desordenada podem causar nas praias e nas espécies que ali habitam? Avaliações de diversos parâmetros físicos, químicos e biológicos em espécies bioindicadoras podem contribuir na resposta a esta questão.

Todas as características dos organismos dependem de um arranjo genético complexo, que é selecionado ao longo do tempo evolutivo. O genoma das espécies é, portanto, o mantenedor de todas as informações biológicas que permitem a persistência às perturbações ambientais, que garantem a possibilidade da sustentabilidade e preservação dos ecossistemas (Grant et al., 2017; Wytock et al., 2020; Cai and Des Marais, 2021). Mas as perturbações ambientais podem alterar a estrutura e/ou conteúdo do material genético das espécies (Kumar et al., 2017; Falcão et al., 2020) e são conhecidos como agentes genotóxicos. Mesmo em concentrações muito baixas (consideradas subletais), esses agentes são capazes de lesionar o genoma dos indivíduos. Estes danos genômicos podem alterar os mecanismos de reprodução, embriogênese, desenvolvimento, crescimento e sobrevivência, favorecendo também os processos carcinogênicos, defeitos hereditários e teratogênicos (Gutiérrez et al., 2019; Gallão et al., 2019), bem como resultar na perda da diversidade genética (erosão genética), o que resulta na incapacidade das populações de persistirem diante de um agente perturbador (Garcia-Ulloa et al., 2020). Assim, indicar e quantificar os efeitos dos perturbadores ambientais é de fundamental importância para reconhecer os limites da resiliência das espécies, o que melhora a gestão do uso dos ecossistemas pelas atividades humano-mediadas. A quantificação de danos no genoma vem sendo uma das abordagens mais efetivas no gerenciamento da

qualidade de ambientes aquáticos. As metodologias mais empregadas para estes fins se encontram o ensaio micronúcleo e o ensaio cometa. (Adam et al., 2010; Pinheiro et al., 2013; Lima et al., 2019; Falcão et al., 2020). Tais protocolos estão baseados na detecção da fragmentação do material genético em diferentes graus de magnitudes: macrolesões e microlesões, respectivamente (Fenech et al., 2016; Olive et al., 1990; Bolognesi and Cirillo, 2014). Por outro lado, a quantificação das alterações morfológicas nucleares se mostra como uma terceira categoria de protocolos que visam a identificação de toxicidade genética por meio da identificação e quantificação das malformações nucleares, devido à presença de perturbadores ambientais (Carrasco et al., 1990; Souza and Fontanetti 2006; Sula et al., 2020). O Sergeant-major (*Abudefduf saxatilis*) é um peixe bastante comum nas piscinas naturais de Porto de Galinhas, sendo um dos componentes atrativos para a visitação neste ambiente e, portanto, bons sentinelas para testar a qualidade dos seus ambientes (Leão and Araújo, 2017).

A quantificação dos impactos do turismo nas praias apresenta a dificuldade de estabelecer locais para comparações (controles), devido à improbabilidade de existirem ambientes similares, mas sem perturbações (Soto et al., 2021). Apesar de praias turísticas com visitação anual terem diminuição das pressões antrópicas na baixa estação, as mesmas não deixam de ser afetadas por perturbadores ambientais, ainda que em intensidade menor (Reyes-Martinez et al., 2015; Soto et al., 2021).

Os lockdown resultantes da decretação da pandemia de COVID 19 pela OMS em março de 2020 causaram o confinamento de milhares de pessoas no mundo todo. As atividades turísticas durante a Pandemia do COVID-19 foram extremamente afetadas mundialmente, com redução em torno de 52-78% e com perdas econômicas estimadas em 120 bilhões de dólares (UNTWO, 2020). Neste contexto, o turismo costeiro foi um dos mais afetados (Ormaza-González and Castro-Rodas, 2020). O distanciamento social e o lockdown impostos por vários países diminuíram consideravelmente a pressão antrópica sobre os ambientes. Portanto, essa condição ambiental tornou-se uma oportunidade rara para o entendimento da magnitude dos danos ecológicos decorrentes da intervenção humana (Edward et al., 2021). Neste contexto, a pandemia do COVID-19 veio favorecer a transposição da dificuldade de comparações com um ambiente com o mínimo de perturbações antrópicas, uma vez que as restrições à visitação e permanência nas praias estabeleceram condição ímpar no que se refere à possibilidade da avaliação da ausência temporária de turistas neste ambiente (Coll, 2020; Manenti et al., 2020; Ormaza-González and Castro-Rodas, 2020; Rume and Islan, 2020; Arora et al., 2020; Zielinski and Botero, 2020; Soto et al., 2021; Edward et al., 2021).

O Brasil por ser um país tropical com mais de 8.500 Km de costa e clima favorável, principalmente na região nordeste, possui grande potencial turístico (Araújo et al, 2018). Todavia, durante o período de restrição social este setor econômico tem sofrido uma intensa redução em mais de 80% na taxa de ocupação hoteleira (Barbosa, 2020). Um exemplo do impacto da pandemia de Covid 19 sobre o turismo é a praia de Porto de Galinhas (Ipojuca, Pernambuco, Brasil) que, devido as suas belezas naturais de flora e fauna, boa infraestrutura hoteleira e culinária, é classificada como das praias brasileiras mais atrativas para turistas (Barbosa et al., 2015; Araújo et al., 2018). O decreto nº 667/2020 que interditou todas as praias do litoral, rios e mangues do Município do Ipojuca (PE), causou severo impacto no turismo em Porto de Galinhas, tendo também sido suspensa a atração turística mais famosa da praia, os passeios de jangada até as piscinas coralíneas. (Prefeitura de Ipojuca, 2020).

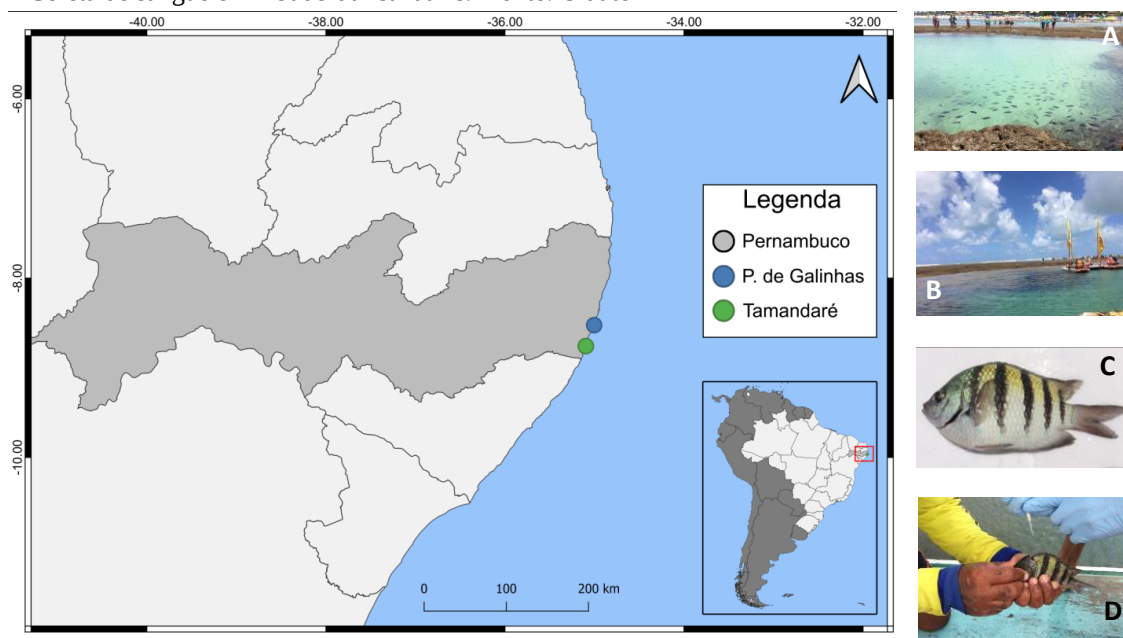
No presente estudo foi avaliado o impacto do turismo em uma praia tropical (Porto de Galinhas – Brasil) através de parâmetros de danificação genômica, sendo comparados períodos de intensa movimentação humana nesta praia e uma região pristina, bem como o período de lockdown imposto pela pandemia do COVID 19.

2. Materiais e métodos

2.1 Amostragem do material biológico

Mensalmente 10 espécimes de *Abudefduf saxatilis* foram coletados em uma das piscinas naturais de Porto de Galinhas (Ipojuca, Pernambuco, Brasil; Fig. 1) entre julho/2017 e junho/2018 (Com turismo), bem como durante as restrições pandêmicas (junho a agosto de 2020 – Sem turismo). O critério de escolha de uma única piscina para a amostragem foi devido à ocorrência de impactos relacionados ao pisoteio e visitação acentuada, incluindo a prática de banho. Todas as coletas foram realizadas na maré baixa (variação entre 0,0 – 0,5), no período da manhã. Para a amostra controle foram coletados dez espécimes da mesma espécie na Praia de Tamandaré (PE - Controle) a 58,7 km de Porto de Galinhas, em junho de 2018. Esta coleta em Tamandaré foi realizada em uma piscina natural situada a uma distância de 2 km da zona de praia onde não são realizadas visitas turísticas, sendo esta região uma área de proteção ambiental.

Fig. 1. Mapa de localização das praias de Porto de Galinhas e Tamandaré (Estado de Pernambuco Brasil). A. Praia de Porto de Galinhas e a piscina natural onde foi realizada a coletados animais. B. Jangadas na piscina natural, local de amostragem. C. A espécie amostrada *Abudefduf saxatilis*. D. Coleta de sangue em *Abudefduf saxatilis*. Fonte: O autor



Fonte: O Autor (2021)

2.2 Coleta de dados ambientais

No momento da coleta do material biológico, foi verificada a temperatura da água em graus Celsius (°C), com termômetro em haste, a uma profundidade de um metro dentro da piscina em questão. Dados pluviométricos mensais da região também foram obtidos na Agência Pernambucana de Águas e Clima (<http://www.apac.pe.gov.br>). O número de visitas mensais feitas por jangadas até a piscina natural em estudo foi obtido na Associação de Jangadeiros da Praia de Porto de Galinhas – Secretaria do Meio Ambiente do Município de Ipojuca (Pernambuco, Brazil). Nesta mesma secretaria foi obtida a taxa de ocupação hoteleira mensal em Porto de Galinhas.

2.3 Análises genotóxicas

A partir do sangue dos espécimes amostrados foram obtidos dados de danos genômicos pelo ensaio micronúcleo (MN) [sensu Heddel (1973) e Schmid (1975), com algumas modificações], pelo ensaio cometa (CA) [sensu Singh et al (1988) com algumas modificações] e alterações morfológicas nucleares em eritrócitos (ENAS) (Carrasco et al., 1990).

2.3.1 Micronúcleos e Alterações morfológicas nucleares

Cerca de 0.5 ml de sangue periférico foi coletado de cada animal no momento da captura. Com uma gota de sangue de cada animal foi realizado um esfregaço sanguíneo em lâminas para microscopia secas, numeradas, datadas e identificadas e, posteriormente, mantidas à temperatura ambiente. No laboratório, as lâminas foram fixadas em metanol absoluto por cerca de 5 minutos, sendo, posteriormente, lavadas em água destilada e coradas com Giemsa (absoluto – cerca de 2 minutos). Depois de secas à temperatura ambiente, as lâminas foram analisadas em microscopia óptica, em objetiva de 100x, sendo observadas 3000 células (eritrócitos) por animal entre as quais foram contabilizadas as células normais e micronucleadas.

Para a análise das alterações morfológicas nucleares foram utilizadas as mesmas lâminas confeccionadas para a análise de micronúcleos, seguindo a metodologia acima descrita. Também foram contabilizadas cerca de 3000 células por indivíduo, sendo discriminadas de acordo com a classificação proposta por Carrasco et al. (1990). Portanto, a contabilização das alterações morfológicas nucleares ocorreu concomitantemente àquela referente às células micronucleadas.

2.3.2 Ensaio cometa

O CAs foi realizado sazonalmente nas estações seca e chuvosa que caracterizam o clima da região. A estação seca compreende o período entre setembro a fevereiro. As chuvas se concentram entre maio e julho. Os meses de abril e agosto são meses de transição, tendo sido considerado neste estudo abril como período chuvoso e agosto sendo incluído no período seco. No mês de junho de 2020, correspondendo o período pandêmico, também foi incluído nesta análise. A realização sazonal desta metodologia contribuiu sobremaneira para a análise dos diferentes danos possivelmente causados na molécula de DNA, conforme a possível disponibilização diferencial dos agentes genotóxicos nas duas estações, como também na ausência de turismo na praia de Porto de Galinhas.

Para a realização desta metodologia o procedimento de coleta de sangue foi realizado concomitantemente e igualmente à coleta para o Ensaio Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares. Lâminas para microscopia foram previamente preparadas com agarose (1,5% - 1,5 g de agarose em 100 ml de solução PBS) conforme os procedimentos propostos por Singh et al. (1988). Foram analisadas 100 células de cada indivíduo. A avaliação foi feita de acordo com o comprimento da cauda em quatro classes; 0 – sem dano aparente; 1 – dano aparente; 2 – dano pequeno; 3 – dano médio; 4 – dano máximo. Os níveis de danos no DNA foram comparados entre as coletas sazonais (período seco e chuvoso) e a pandêmica, sendo estabelecidos os índices e frequências de danos.

2.4 Análises estatísticas

As médias gerais dos danos genômicos (micronúcleos e alterações morfológicas nucleares) de cada período de estudo (controle, com turismo e sem turismo) foram calculadas e foram estabelecidos os índices de proporcionalidade nas seguintes comparações: controle vs com turismo, controle vs sem turismo e com turismo vs sem turismo. Esses índices de proporcionalidades indicam quantas vezes maiores foram observados os danos genômicos em cada uma das comparações descritas acima.

Para cada amostra, o número de células micronucleadas e o número de alterações morfológicas nucleares foram contados, e as taxas e frequências de danos foram determinadas pelo ensaio do cometa. Esses valores foram comparados utilizando a análise de variância a um fator (data log (x+1) transformado), considerando as praias (Porto de Galinhas e Tamandaré) e o turismo (presença ou ausência) como variáveis preditoras. O teste Tukey foi realizado quando os resultados de ANOVA se mostravam significativos (Zar, 2010). Adicionalmente, a análise de variância permutacional multivariada a um fator (PERMANOVA) (Anderson, 2001) foi aplicada comparando todo o total de alterações nucleares (MN+ENAs) (data log(x+1) convertido – Distância euclidiana), com as praias (Porto de Galinhas e Tamandaré) e o turismo (presença e ausência) como variáveis preditoras. Uma análise canônica das coordenadas principais (CAP) (Anderson & Willis, 2003) foi usada para avaliar os padrões multivariados das alterações nucleares (com base em matrizes de semelhança preparadas usando distância euclidiana com data log(x+1) transformado) entre as praias e as datas das coletas.

O modelo linear baseado em distância (DistLM) foi utilizado para identificar quais características ambientais (temperatura, pluviometria, ocupação hoteleira e número de passeios de jangada) eram preditoras das alterações nucleares. O melhor modelo foi escolhido utilizando o procedimento direto com 9999 permutações com base no critério de seleção AIC. As análises e os testes foram executados no PRIMER 7 + PERMANOVA (Anderson et al., 2008), e um nível de 5% de significância foi executado para todos os testes.

3. Resultados

As maiores precipitações pluviométricas, temperatura da água, taxa de ocupação hoteleira (%) e número de jangadas na piscina natural foram observados em abril de 2018 (534,4mm), março de 2018 (31oC), janeiro de 2018 (89,06% dos quartos de hotel ocupados) e janeiro de 2018 (25.583 jangadas). Em

agosto e novembro de 2017 a temperatura da água (24oC) e a precipitação pluviométrica (6 mm) foram mínimas. A taxa de ocupação hoteleira foi mínima no período de Lockdown (junho/2020: 11,0 %; julho/2020: 11,9% e agosto/2020: 12,3%). Neste período também não foi observada visitação por jangada nas piscinas naturais (Tab. 1).

Tabela 1. Valores médios de precipitação pluviométrica, temperatura da água, taxa de ocupação hoteleira, número de visitas de jangadas nas piscinas naturais e número de células micronucleadas e com alterações morfológicas nucleares em *Abudefduf saxatilis*. Com turismo (Porto de Galinhas de julho/17 a junho/18), Sem turismo (Porto de Galinhas de jun-ago/20, período de restrição de mobilidade humana) e Controle (Praia de Tamandaré).

Month/Year	Rainfall (mm)	Water temperature (°C)	Hotel occupation rate (%)	Number of boats	Micronucleated cells	Nuclear morphological alterations
Control	496,8	25	NA	NA	9,9	41,5
Jul/17	496,8	25	73,86	13989	13,4	84,2
Aug/17	55,5	24	64,06	8780	18,9	107,5
Sep/17	124,7	25	74,39	10153	16,1	130,0
Oct/17	40,3	27	71,86	12245	32,2	112,8
Nov/17	6,0	28	68,79	11599	17,0	72,5
Dec/17	60,9	29	75,49	15601	18,0	63,7
Jan/18	130,4	30	89,06	25583	31,4	65,5
Feb/18	191,3	30	82,26	13844	20,0	49,2
Mar/18	242,5	31	70,45	14017	18,3	106,2
Apr/18	534,4	29	72,67	9454	21,6	65,2
May/18	221,3	28	63,95	8326	21,9	28,3
Jun/18	87,3	28	65,96	7123	12,3	38,0
Averages	182,62	27,83	72,73	12559,9	20,09	76,92
Jun/20	368,4	27	20,0	0,0	11,0	27,6
Jul/20	163,3	27	25,5	0,0	11,9	20,9
Aug/20	123,2	28,5	33,5	0,0	4,6	46,7
Averages	218,3	27,5	26,33	0,0	9,16	31,73

Os danos genômicos em eritrócitos de *Abudefduf saxatilis*, coletados em Porto de Galinhas mensurados mensalmente, revelaram uma variação entre as médias dos danos observados. Em relação à presença de células micronucleadas, a menor média (4,6) de micronúcleos foi observada no mês de agosto

de 2020, e maior média (32,2) em outubro de 2017 (tabela 1). As alterações morfológicas nucleares apresentaram a menor média em julho de 2020 (20,9) e a maior em outubro de 2017 (112,2). Todos os valores observados estão sumarizados na tabela 1.

Os índices de proporcionalidade relativos às médias gerais de células micronucleadas e alterações morfológicas nucleares estão apresentados na tabela 2, conforme as seguintes comparações: controle vs com turismo, controle vs sem turismo e com turismo vs sem turismo.

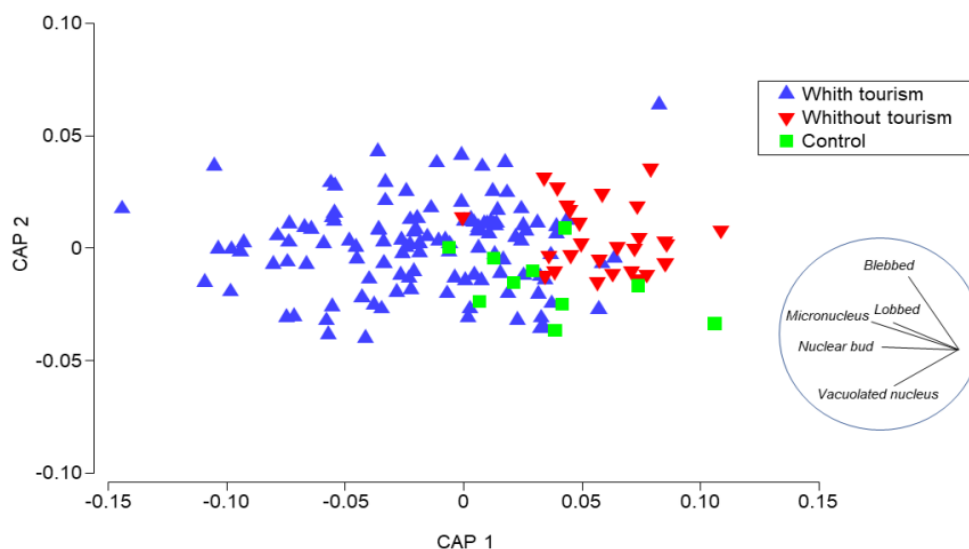
Tabela 2. Índices de Proporcionalidade das médias gerais de células micronucleadas e alterações morfológicas nucleares de *Abudefduf saxatilis* nos períodos de estudo.

Micronucleated cells				
Periods		Control	With tourism	Without tourism
	Averages	9.90	19.31	9.16
Proportionality Index				
Control	9.90		1.95	1.08
With tourism	19.31			2.11
Without tourism	9.16			
Nuclear morphological alterations				
Periods		Control	With tourism	Without tourism
	Averages	31.60	94.50	31.53
Proportionality Index				
Control	31.60		2.99	1.00
With tourism	94.50			2.99
Without tourism	31.53			

A análise de variância do número de eritrócitos micronucleados observados nos meses de estudo apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,0001$) (figura 2) em relação ao controle nos meses de outubro de 2017 e janeiro de 2018. A análise a posteriori pelo teste de Tukey confirma tais diferenças estatísticas (tabela 3). O período de lockdown apresentou, segundo a ANOVA e Tukey, diferença estatística altamente significativa de células micronucleadas em relação aos meses com as maiores médias de células micronucleadas (32,2; 31,4; 21,6 e 29,9 em outubro/17, janeiro/18, e abril e maio/18, respectivamente) (Tabela 3).

Na Análise de Canônica de Coordenadas - CAP (Figura 4) foi possível observar a separação entre as amostras dos momentos com turismo daquela onde esta atividade foi restrita e a área controle. Também foi observada uma sobreposição dos danos genômicos apresentados nos momentos sem turismo e a área controle, além de uma sobreposição parcial entre o dano genômico da área controle e aqueles nos momentos com turismo. Sutis sobreposições foram observadas entre os danos genômicos de todas as situações avaliadas. A CAP foi capaz de explicar 95% (m:9) da relações e classificou 71% das amostras. O primeiro eixo canônico ($\delta 1 : 0,61$), demonstra a correlação mais forte com a hipótese de que existem dois grupos principais de amostras, sendo o primeiro o grupo com atividades turísticas ativas e o segundo o grupo com o turismo restrito e a área controle. As variáveis de danos genômicos mais fortemente correlacionadas com a separação das amostras foram: Micronúcleos, Núcleo Blebbed, Núcleo Vacuolado, Bud Nuclear e Núcleo Lobulado, todas com valores mais altos nas amostras de peixes nos momentos do turismo.

Fig. 4. Gráfico da Análise Canônica de Coordenadas Principais das variáveis de danos genômicos e áreas com e sem turismo e controle. Os vetores à direita indicam as variáveis com correlação de Pearson maior que 0,5, em relação à divisão dos grupos



Fonte: O Autor (2021)

Ao comparar o número de micronúcleos é possível perceber a diferença estatística significativa entre os momentos com turismo e o controle, e com o turismo e sem o turismo. Porém, a comparação entre o momento sem turismo e o controle não apresentou diferença estatisticamente significativas. O mesmo padrão se repetiu para o conjunto de alterações nucleares totais (MN+ENAs) (tabela 5).

Tabela 5. Comparações (PERMANOVA) entre os momentos com e sem turismo e área controle em relação aos números de micronúcleos e danos genômicos totais (micronúcleos + alterações morfológicas nucleares).

Micronuclei						
Source of variation	df	SS	MS	Pseudo-F	P (Perm)	Unique permutations

Sampling occasion	2	57.59	28.79	16.41	0.001	999
Residuals	153	268.46	1.76			
Average distance between/within sampling occasions						
	With Tourism		Without Tourism		Control	
With Tourism	1.58					
Without Tourism	1.83*		1.24			
Control	1.79*		1.25		1.35	
Whole Nuclear Alterations						
Source of variation	df	SS	MS	Pseudo-F	P(Perm)	Unique permutations
Sampling occasion	2	330.42	165.21	8.27	0.001	999
Residuals	153	3055.5	19.97			
Average distance between/within sampling occasions						
	With Tourism		Without Tourism		Control	
With Tourism	6.52					
Without Tourism	6.09*		3.63			
Control	5.93*		3.94		4.05	

Fonte: O Autor (2021)

Os Modelos Lineares baseados em Distância (DistLM) (tabela 6) ajustados entre os danos genômicos e as variáveis ambientais, o número de células micronucleadas (micronúcleos) foi a alteração nuclear com a maior correlação com as variáveis ambientais, sendo principalmente influenciado pela quantidade de jangadas nas piscinas naturais de Porto de Galinhas. Por sua vez, o número total de alterações morfológicas nucleares e o conjunto de total de alterações nucleares (micronúcleo + alterações morfológicas nucleares), além do número de jangadas, foram influenciados pela temperatura.

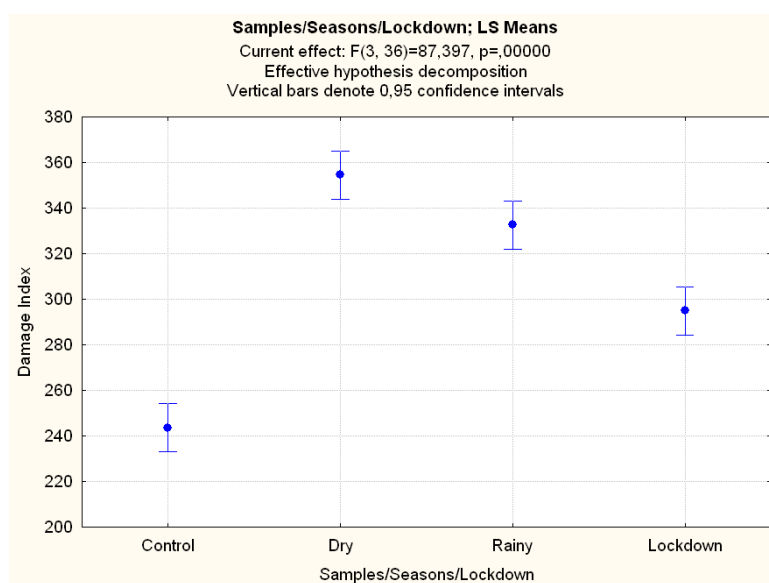
Tabela 6. Modelos lineares baseados em distância ajustados entre os danos genômicos e as variáveis ambientais.

Micronuclei – Sequential tests for stepwise model ($r^2 = 0.59$)					
Variable	AIC	Pseudo-F	P	Prop ¹	res.df ²
Number of rafts	-11.5	18.726	<0.01	0.59	13
Morphological Nuclear Alterations - Sequential tests for stepwise model ($r^2 = 0.52$)					
Variable	AIC	Pseudo-F	P	Prop ¹	res.df ²
Number of rafts	-22.9	8.66	0.01	0.41	13
Temperature	-23.94	2.99	0.12	0.11	12
Whole Nuclear Alterations - Sequential tests for stepwise model ($r^2 = 0.44$)					
Variable	AIC	Pseudo-F	P	Prop ¹	res.df ²
Temperature	34.83	4.31	<0.01	0.28	13
Number of rafts	32.47	4.05	<0.01	0.21	12

Fonte: O Autor (2021)

A análise de danos genômicos sazonais (período seco, chuvoso e lockdown) pelo Ensaio Cometa apresentou diferença estatística significativa (ANOVA e Tukey - $p < 0,001$) nas comparações entre os períodos e entre os mesmos e o grupo controle, com relação aos índices de danos (Figura 5, tabela 7).

Fig. 5. Análise de Variância (ANOVA: média e desvio padrão) dos índices de danos (ensaio Cometa) observados nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas, em relação ao controle e o período de lockdown.



Fonte: O Autor (2021)

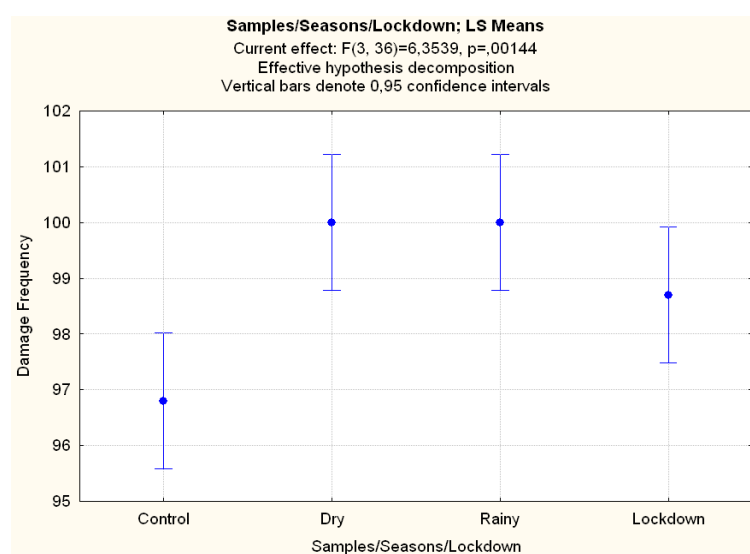
Tabela 7. Comparações entre os índices de danos (ensaio Cometa) em eritrócitos de *Abudefduf saxatilis*, coletados em Porto de Galinhas nos períodos seco, chuvoso e lockdown em relação ao Controle. Nível de significância 0,05

Samples	Controle	Seco	Chuvoso	Lockdown
Controle		0.000159*	0.000159*	0.000159*
Seco			0.024611*	0.000159*
Chuvoso				0.000211*
Lockdown				

Fonte: O Autor (2021)

As frequências de danos (ensaio Cometa) entre os períodos seco e chuvoso não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si (ANOVA e Tukey). Contudo, ambos diferiram em relação ao controle. Porém, as frequências de danos genômicos observadas no período de lockdown não diferiram em relação a nenhum dos períodos sazonais e ao controle (Figura 6, tabela 8).

Fig. 6. Análise de Variância (ANOVA) das Frequências de Danos (ensaio Cometa) observados nos eritrócitos de *Abudefduf saxatilis* coletados mensalmente em Porto de Galinhas, em relação ao controle e o período de lockdown.



Fonte: O Autor (2021)

Tabela 8. Comparações entre as Frequências de danos (ensaio Cometa) em eritrócitos de *Abudefduf saxatilis*, coletados em Porto de Galinhas nos períodos Seco, Chuvoso e Lockdown em relação ao Controle. Nível de significância 0,05.

Amostras	Controle	Seco	Chuvoso	Lockdown
Controle		0.003261*	0.003261 *	0.132370
Seco			1.000000	0.429941
Chuvoso				0.429941
Lockdown				

Fonte: O Autor (2021)

4. Discussão

A biodiversidade é a principal fonte de funcionalidade de um ecossistema, o qual depende de uma variedade de interações entre os seus constituintes, incluindo os humanos, para a manutenção do seu equilíbrio. Qualquer perturbação que tenha como consequência a desestruturação desse equilíbrio pode acarretar sérios e irreparáveis danos à Natureza (Nazir et al., 2021). Entretanto, o meio ambiente sofre constantes variações e mudanças inerentes a um sistema dinâmico e não linear, sendo moldado principalmente por interações socioecológicas. A exploração antrópica dos recursos naturais tem causado perturbações intensas na natureza, comprometendo a biodiversidade, afetando não só o equilíbrio natural do ecossistema, mas também afetando negativamente a vida humana. A transposição dos limites dessa dinâmica pode levar a consequências significativas em diferentes escalas espaciais e temporais, tornando desafiadora a compreensão e a previsão dos seus impactos não só para os cientistas, mas também para a sociedade como um todo (Cheval et al., 2020; Nazir et al., 2021).

Os impactos ambientais do turismo são ainda poucos e inconclusivos, e apenas consideram geralmente o impacto do transporte, não relacionando o setor de hospedagem e serviços, que também causam impactos no meio ambiente (Nagaj and Zuromskait, 2021). As escassas abordagens científicas sobre o impacto do turismo na biota podem ser categorizadas em efeitos diretos e indiretos. Os efeitos diretos, em geral, levam em consideração as consequências comportamentais, bioquímicas e fisiológicas nos organismos (Lamine et al., 2019; Lynch et al., 2019; Smith et al., 2021). Nos efeitos indiretos, as abordagens se baseiam, por exemplo, em respostas a diferentes concentrações de contaminantes específicos ou a densidades populacionais de determinados organismos, que possam ter como causa de variação as atividades turísticas (Gül and Griffen 2018; Lazcano et al., 2020; Soares et al., 2020). Os resultados inéditos, associando diretamente a visitação turística e os danos genômicos em *A. saxatilis*, apresentados no presente estudo, contribuirão para a compreensão dos impactos do turismo nos ecossistemas praianos.

Apesar da inquestionável importância socioeconômica do turismo praiano, esta atividade tem causado grande impacto ambiental nas zonas costeiras, onde as praias exercem o papel de uma fonte recursos naturais indispensáveis (Doris, 2020; Zambrano-Monserrate et al., 2020; Loizia et al., 2021; Bhat et al., 2021). Neste contexto, a praia de Porto de Galinhas, devido à sua grande extensão de recifes de corais com sua alta diversidade de organismos, e sendo um dos polos turísticos mais frequentados do litoral brasileiro, vem sofrendo uma alta pressão antrópica (Araújo et al., 2018). Além do seu alto nível de urbanização, a alta visitação turística anual (tabela 1) tem impactado este ambiente, como mostram os resultados de danificação genômica aqui obtidos, independente da estação climática (seco/chuvoso) (Figuras 5 e 6, tabelas 7 e 8).

Através da quantificação de danos genômicos nas células de *A. saxatilis*, pode-se observar dois cenários distintos, pela Análise Canônica de Coordenadas Principais (figura 4). O primeiro cenário engloba a maior frequência de danos genômicos apresentados (tanto micronúcleos quanto alterações morfológicas nucleadas), sendo este correspondente ao período anual (julho/2017 a junho/2018) com acesso turístico à praia de Porto de Galinhas. O segundo cenário apresenta as menores frequências de danos, os quais foram encontrados nos eritrócitos dos animais coletados em Tamandaré (região controle) e no período sem atividades turísticas (lockdown - junho a agosto de 2020). A magnitude das diferenças entre a expressão de danos genômicos, indicada pelos Índices de Proporcionalidade (IP) entre as médias gerais de células micronucleadas e aquelas com alterações morfológicas nucleares (tabela 2), indica um impacto cerca de duas vezes maior para as alterações morfológicas nucleares ($IP = 2,99$) e o dobro de células micronucleadas ($IP = 1,95$) quando comparadas as regiões controle e o período com turismo na praia de Porto de Galinhas. Tais magnitudes, quando comparados os períodos com e sem turismo (lockdown), apresentaram índices de proporcionalidade também consideráveis, com valores acima de 2, tanto para as médias de células micronucleadas ($IP = 2,11$) quanto para as alterações morfológicas nucleadas ($IP = 2,99$).

Em termos gerais, a quantificação dos danos genômicos em *A. saxatilis* permitiu observar dois cenários bem distintos. Um deles mostrou que as maiores frequências tanto MNs quanto ENAs estiveram no período de turismo no ambiente recifal de Porto de Galinhas. Já o outro, caracterizado pelo lockdown pandêmico, revelou as menores frequências de ambas as categorias de danos genômicos. Segundo Marshall et al. (2014), praias com alta frequência de turistas durante todo o ano, como é o caso de Porto de Galinhas, apresentam uma grande variedade de estressores ambientais, entre os quais podem ser citados: o barulho, resíduos sólidos, atividades humanas e odores. Convém salientar que a atividade de banho é permitida na piscina onde foram coletados os peixes, promovendo uma interação maior entre os humanos e os animais, podendo ocasionar o estresse nos animais residentes. Adam et al. (2011) demonstraram a relação direta entre o estresse e a frequência de MNs em células de *Rattus norvegicus* decorrente das mudanças no ciclo circadiano, temperatura, e barulho. Não apenas a presença dos humanos, mas estes últimos parâmetros podem ter contribuído para o estresse dos animais e, conseqüentemente, o aumento de expressão de danos genômicos.

Portanto, esses índices proporcionais de danos apresentados apontam indubitavelmente para o impacto do turismo nesta praia, sendo corroborado pelo fato de que a comparação entre a região controle e o período sem turismo apresentaram valores próximos a 1 quanto à incidência de ambos os danos

(micronúcleos $IP=1,08$; alterações morfológicas nucleares $IP=1,00$), e, portanto, sem impacto relativo. As maiores frequências de células micronucleadas ocorreram em outubro/2017, janeiro/2018. Apesar da ocupação turística na praia de Porto de Galinhas acontecer durante o ano todo, como demonstrado pelos índices de ocupação hoteleira (tabela 1), o período de alta temporada acontece entre os meses de setembro a abril, no qual se enquadram os meses acima citados, e, portanto, com um alta incidência do turismo. Convém salientar que a Praia de Porto de Galinhas, pela sua inserção geográfica na Região Metropolitana do Recife (Capital do estado de Pernambuco), também recebe a visitação intensa de moradores da região, a qual não foi incluída na contabilização das taxas de ocupação hoteleira, pois tais turistas não costumam pernoitar, retornando à sua residência ao final da tarde. Tal apontamento pode estar relacionado às incidências de células micronucleadas observadas nos meses de abril e maio/2018, nos quais ocorreram feriados prolongados (Páscoa, Dia do Trabalho e Corpus Christi), períodos onde ocorre grande deslocamento de moradores locais para as praias.

Em janeiro/2018, que houve a maior ocupação hoteleira (89,06%), maior número de jangadas (25583) em visitação às piscinas naturais de Porto de Galinhas e significativamente mais células micronucleadas, os resultados sugerem claramente o impacto da atividade turística nesta praia, assim como forte relação dos danos genômicos com as variáveis ambientais como número de jangadas e temperatura. O micronúcleo foi o parâmetro de danificação genômica mais correlacionado ao efeito do turismo e às variáveis ambientais (tabelas 5 e 6), sendo este, portanto, o principal biomarcador que compõe a robustez das análises. Tendo em vista que o número de células micronucleadas se relacionou principalmente com o número de jangadas que visitaram as piscinas naturais durante o período de estudo, esta correlação aponta para o grande impacto da presença turística neste ambiente.

Fontes antropogênicas de estresse ambiental podem afetar em diferentes magnitudes e maneiras os ambientes praianos (Araújo et al., 2018). Araújo et al. (2018) observaram ainda que a praia de Porto de Galinhas teve uma quantidade maior de lixo (plástico, restos de comida, madeira (espetos de madeira) e pontas de cigarro) proveniente de seus usuários do que outras praias com maiores níveis de urbanização. Dovzhenko et al (2020) observaram um grau (1,5 – 2,0 vezes) de danos no DNA (ensaio Cometa) em células de brânquias e glândulas digestivas de mexilhões (*Mytilus trossulus*) expostos a fragmentos de plástico in natura em comparação com um grupo controle. As pontas de cigarro, por se constituírem de um filtro, retêm os mais de 7000 compostos químicos presentes no cigarro (Mansouri et al, 2020). Entre estes se encontram metais pesados (alumínio, zinco, chumbo, selênio, cromo, níquel, cádmio, etc.), nicotina, etil fenol, amônia, formaldeído, butano, acrilonitrila, tolueno, benzeno, alcalóide, cianeto e amianto, onde a maioria apresenta efeito genotóxico (Thirunavukkarasu et al., 2020; Al-Saleh et al., 2020; Yamin et al., 2020; Zhang et al., 2020; Gökalp et al., 2020; Salem et al., 2018; Laio et al., 2019; Zafra-Lemos et al., 2021). A origem da maioria destes compostos químicos no cigarro vem de pesticidas, inseticidas, herbicidas e fungicidas utilizados na cultura do tabaco (Lee, 2012), que também apresentam potencial genotóxico (de Oliveira et al., 2020; Amaeze et al., 2020). A disposição no ambiente destes poluentes presos às pontas do cigarro se dá através da lixiviação e, no caso das praias, alcançam o mar sendo levados pelo movimento das marés (Freiberg, 2014; Kadir and Sarani, 2015; Lee, 2012). Restos de comida também podem ser fontes

poluidoras de metais pesados e pesticidas (Kopp et al, 2018), e, portanto, contribuir para a observação de danos no DNA em organismos expostos.

Somado a todos estes agentes perturbadores ambientais, se encontram os protetores solares, que representam uma das principais fontes de nanopartículas de TiO₂ e ZnO encontradas nos ambientes costeiros (Schiavo et al., 2018), com alto potencial genotóxico (Di Giampaolo et al., 2021; Kukla et al., 2021). Desta maneira, todos os compostos acima citados podem ter contribuído para os efeitos genotóxicos observados nos eritrócitos de *A. saxatilis*, coletados em Porto de Galinhas.

Diferenças estatisticamente significativas também foram observadas quanto às alterações morfológicas nucleares (figura 3, tabela 4). A origem de tais alterações se baseia na ineficiência dos mecanismos de extrusão em eliminar do núcleo os fragmentos de DNA danificado (que provavelmente originariam micronúcleos), os quais permanecem ligados ao envoltório nuclear (Seriani et al., 2011). O estresse oxidativo, em consequência das espécies oxigênio reativas (ROS), produzido por perturbadores ambientais também pode ser uma causa da formação das alterações morfológicas nucleares. Segundo Morina et al. (2013), tal estresse oxidativo pode alterar a permeabilidade do envoltório nuclear, aumentando a susceptibilidade do núcleo à originar eritrócitos com anormalidades nucleares. Assim, as alterações morfológicas nucleares com diferenças estatísticas significativas observadas nos meses de julho a outubro de 2017 e março de 2018, somam-se aos efeitos genotóxicos causados pelo impacto do turismo em Porto de Galinhas. Esta afirmação também se sustenta pela Análise Canônica de Coordenadas Principais (figura 4), PERMANOVA (tabela 5) e de Modelos Lineares baseados em Distância (tabela 6). Sugere-se, portanto, a complementaridade de ambas as abordagens metodológicas, a análise de células micronucleadas e com alterações morfológicas nucleares, para fins de diagnóstico de perturbações ambientais.

A sazonalidade do impacto do turismo em Porto de Galinha foi avaliada pelas microlesões no DNA, quantificadas pelo Ensaio Cometa. Apesar das frequências das microlesões terem sido estatisticamente significativas em relação ao controle e período de lockdown (figura 6, tabela 8), entre as duas estações (seca e chuvosa) não foram observadas diferenças significativas. Porém, quando foram considerados os índices de danos, as duas estações foram significativamente diferentes entre si e em relação ao controle e período de lockdown (figura 5, tabela 7). No período seco (com uma pluviosidade média de 166,31mm; temperatura média de 28,62°C, taxa média de ocupação hoteleira igual a 74,75%, e média do número de jangadas nas piscinas naturais igual a 14062) ocorreu uma expressão maior de microlesões no DNA dos animais em relação ao período chuvoso (pluviosidade média igual a 251,22mm, temperatura média de 26,25°C, taxa média de ocupação hoteleira igual a 66,95%, e média do número de jangadas nas piscinas naturais igual a 9554). De acordo com Geric et al (2018), variáveis ambientais como o índice de incidência de raios UV e temperaturas mais altas, como aquelas apresentadas no período mais quente do ano em Porto de Galinhas (variação de temperatura da água entre 25-31°C no período seco), podem induzir uma maior expressão de danos observados no ensaio Cometa, aumentando também o nível de expressão basal (baseline) de tais danos. Tais afirmações estão de acordo com os resultados apresentados pelos animais de Porto de Galinhas. Entretanto, quando se analisam tais resultados levando em consideração os períodos com e sem turismo (figuras 5 e 6, tabela 7 e 8), ambos os períodos seco e chuvoso diferem quanto

à expressão de danos em relação tanto ao controle quanto ao lockdown, apontando para o impacto causado pela intensa presença turística nesta praia, independente da estação climática.

O período de lockdown deve ser considerado com uma maior atenção, pois este período, o qual vem sendo denominado *anthropause* (Rutz et al., 2020), pode contribuir inequivocamente para o entendimento das interações entre humanos e a vida selvagem relativas, neste caso, à presença de turistas nas praias (Coll, 2020; Soto et al., 2021). Ao contrário dos efeitos negativos sem precedentes na sociedade e na economia, o lockdown tem ajudado a reparar alguns danos ambientais (Shakil et al., 2020). É inegável que a pandemia do Covid-19 tem levado à melhoria da qualidade ambiental no que se refere ao ar, água e poluição sonora (Koozdaragm and Ahadi Ravoshti, 2020; Bhat et al., 2021).

Como já mencionado, as restrições de movimentação humana e distanciamento social estabelecidas mundialmente, em combate à Pandemia do Covid-19, impactaram o setor turístico, dentro do qual o turismo praiano foi um dos mais afetados. A ausência da movimentação turística nas praias tem levado a mudanças notáveis neste ecossistema, como relatam vários pesquisadores (Zambrano-Monserrate et al., 2020; Zielinski and Botero, 2020; Ormaza-González and Castro-Rodas, 2020; Edward, et al., 2021; Loizia et al., 2021). Segundo Mousazadeh et al. (2021), a restrição turística nas praias tem resultado na evidente redução de poluentes na água, e, como consequência, muitos animais (peixes, golfinhos e aves) têm retornado a estes ambientes. Soto et al. (2021) observaram mudanças positivas notáveis em relação aos componentes biológicos e diminuição de estressores antropogênicos (poluição, ruído, atividades humanas e densidade do usuário) em 29 praias turísticas urbanas em sete países latino-americanos.

Todas as comparações aqui estabelecidas entre os períodos com e sem turismo (controle e lockdown) na Praia de Porto de Galinhas, em relação aos danos no genoma pelas três abordagens metodológicas (micronúcleo, alterações morfológicas nucleares e ensaio cometa), mostraram a notável diminuição de efeitos genotóxicos nas células de *A. saxatilis* na ausência de turistas. A sobreposição dos resultados observados no período de lockdown aos da região controle, ambos com a ausência de turistas, observada na análise de Canônicas de Coordenadas Principais (figura 4) apontam para o efeito negativo do turismo nesta praia. Convém ressaltar que o período de lockdown apresentou as menores médias de células micronucleadas (9,16) e de alterações morfológicas nucleares (31,73) tanto em relação ao controle (9,9 e 41,5, respectivamente) quanto ao período com a presença de turistas (20,09 e 76,925, respectivamente). Assim, a eliminação dos efeitos perturbadores antropogênicos, como o acontecido no lockdown, pode ser considerada uma condição (baseline) mais próxima das condições ambientais naturais.

5. Conclusions.

Os resultados aqui apresentados vêm preencher a atual lacuna no que se refere à quantificação dos impactos do turismo em praias, principalmente, em relação ao período pandêmico atual. A menor incidência de danos genômicos observados no lockdown, nos eritrócitos de *A. saxatilis*, sugere que a ausência de

turistas pode resultar na retomada das condições ambientais mais próximas das naturais. De maneira contrária, a intensa presença humana neste ecossistema pode comprometer o seu equilíbrio natural, como os efeitos negativos mensurados pelos danos genômicos demonstraram. Portanto, as métricas aqui apreSENTADAS poderão contribuir para a elaboração de condutas sustentáveis para o uso do meio ambiente.

Acknowledgements

Os autores agradecem ao Sr. Amaro Joaquim de Araújo (Seu Baú) pelo suporte às coletas e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Adam, M. L., Torres, M. F. P., Franci, A. C., Sponchiado, G., Torres, R. A., & Correia, M. T. D. S. (2011). On the stress by photoperiod, temperature and noise as possible causes of genomic damaging in an animal model. *Stress and Health*, 27(3), e152-e156.
- Adam, M. L., Torres, R. A., Sponchiado, G., Motta, T. S., Oliveira, C. M., Carvalho-Filho, M. A., & Correia, M. T. S. (2010). Environmental degradation at a public park in Southern Brazil as revealed through a genotoxicity test (MN) on peripheral blood cells from *Poecilia vivipara* (Teleostei). *Water, Air, & Soil Pollution*, 211(1), 61-68.
- Agência Pernambucana de Águas e Clima. (<http://www.apac.pe.gov.br>).
- Al-Saleh, I., Elkhatib, R., Al-Rajoudi, T., Al-Qudaihi, G., Manogarannogaran, P., Eltabache, C., ... & Almugbel, S. (2020). Cytotoxic and genotoxic effects of e-liquids and their potential associations with nicotine, menthol and phthalate esters. *Chemosphere*, 249, 126153.
- Amaeze, N. H., Komolafe, B. O., Salako, A. F., Akagha, K. K., Briggs, T. M. D., Olatinwo, O. O., & Femi, M. A. (2020). Comparative assessment of the acute toxicity, haematological and genotoxic effects of ten commonly used pesticides on the African Catfish, *Clarias gariepinus* Burchell 1822. *Heliyon*, 6(8), e04768.
- Anderson, MJ (2001). Testes de permutação para análise de variância e regressão univariada ou multivariada. *Jornal canadense de pesca e ciências aquáticas*, 58 (3), 626-639.
- Anderson, M., Gorley, R., & Clarke, K. P. (2008). for PRIMER: guide to software and statistical methods. Primer-e, Plymouth, UK, 32.
- Anderson, M. J., & Willis, T. J. (2003). Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology*, 84(2), 511-525.
- Arantes, A. C. R., Adam, M. L., Souza, J. R. B., Bastos, L. P., Jacobina, U. P., & Torres, R. A. (2016). Frequency of fish micronuclei to diagnose aquatic environmental conditions from Brazilian megacities: a case study of Iguaçu river, Southern Brazil. *Revista Brasileira de Biociências*, 14(2).
- Araújo, M. C., Silva-Cavalcanti, J. S., & Costa, M. F. (2018). Anthropogenic litter on beaches with different levels of development and use: a snapshot of a coast in Pernambuco (Brazil). *Frontiers in Marine Science*, 5, 233.

Arora, S., Bhaukhandi, K. D., & Mishra, P. K. (2020). Coronavirus lockdown helped the environment to bounce back. *Science of the Total Environment*, 140573.

Barbosa JWQ, (2020) HOSPITALITY FROM PERNAMBUCO: a comparison of the protocols of Organs competent bodies against Covid-19. *ATELIÊ DO TURISMO DOSSIÊ – TURISMO EM TEMPOS DE PANDEMIA* Campo Grande / MS, v. 4, n. 2, p. 53-71, ago - dez 2020.

Bhat, S. A., Bashir, O., Bilal, M., Ishaq, A., Dar, M. U. D., Kumar, R., ... & Sher, F. (2021). Impact of COVID-related lockdowns on environmental and climate change scenarios. *Environmental Research*, 195, 110839.

Bolognesi C, Silvia C. (2014). Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. *Current Zool*, 60(2): 273-284.

Cai, H., & Des Marais, D. L. (2021). Temporal correlations robustly reveal regulatory coherence upon environmental perturbation. *bioRxiv*.

Canteiro, M., Córdova-Tapia, F., & Brazeiro, A. (2018). Tourism impact assessment: A tool to evaluate the environmental impacts of touristic activities in Natural Protected Areas. *Tourism Management Perspectives*, 28, 220-227.

Carrasco, K. R., Tilbury, K. L., & Myers, M. S. (1990). Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(11), 2123-2136.

Cheval, S., Mihai Adamescu, C., Georgiadis, T., Hernegger, M., Piticar, A., & Legates, D. R. (2020). Observed and Potential Impacts of the COVID-19 Pandemic on the Environment. *International journal of environmental research and public health*, 17(11), 4140.

Coll, M. (2020). Environmental effects of the COVID-19 pandemic from a (marine) ecological perspective. *Ethics in Science and Environmental Politics*, 20, 41-55.

Cowburn, B., Moritz, C., Birrell, C., Grimsditch, G., & Abdulla, A. (2018). Can luxury and environmental sustainability co-exist? Assessing the environmental impact of resort tourism on coral reefs in the Maldives. *Ocean & coastal management*, 158, 120-127.

da Silva Souza, T., & Fontanetti, C. S. (2006). Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605(1-2), 87-93.

de Oliveira, J. S. P., Vieira, L. G., Carvalho, W. F., de Souza, M. B., de Lima Rodrigues, A. S., Simões, K., ... & Malafaia, G. (2020). Mutagenic, genotoxic and morphotoxic potential of different pesticides in the erythrocytes of *Podocnemis expansa* neonates. *Science of The Total Environment*, 737, 140304.

Di Giampaolo, L., Zaccariello, G., Benedetti, A., Vecchiotti, G., Caposano, F., Sabbioni, E., ... & Petrarca, C. (2021). Genotoxicity and Immunotoxicity of Titanium Dioxide-Embedded Mesoporous Silica Nanoparticles (TiO₂@ MSN) in Primary Peripheral Human Blood Mononuclear Cells (PBMC). *Nanomaterials*, 11(2), 270.

Díaz S, Settele J, Brondízio ES, Ngo HT and others (2019) Pervasive -driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. *Science* 366(6471): eaax3100

Doris, C. N. (2020). The Social-Economic and Environmental Impacts of COVID-19 on Tourism.

- Dovzhenko, N. V., Mazur, A. A., Kukla, S. P., Slobodskova, V. V., Kolosova, L. F., Istomina, A. A., & Chelomin, V. P. (2020, August). Plastics as vehicles of chemical compounds to marine organisms. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 548, No. 4, p. 042040). IOP Publishing.
- Edward, J. P., Jayanthi, M., Malleshappa, H., Jeyasanta, K. I., Laju, R. L., Patterson, J., ... & Grimsditch, G. (2021). COVID-19 lockdown improved the health of coastal environment and enhanced the population of reef-fish. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112124.
- Falcão, C. B. R., Pinheiro, M. A. A., Torres, R. A., & Adam, M. L. (2020). Spatial-temporal genome damaging in the blue crab *Cardisoma guanhumi* as ecological indicators for monitoring tropical estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 156, 111232.
- Fenech M, et al. (2016). Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans. *Mut Res*, 770: 12-25.
- Freiberg, M. (2014). (Don't) See More Butts: Preemption and Local Regulation of Cigarette Litter. *Hamline Law Review*, 37(1), 6.
- Gallão, M., Gnocchi, K. G., Carvalho, L. R., Silva, B. F., Barbosa, A. N., & Chippari-Gomes, A. R. (2019). The Impact of Sublethal Concentrations of Treated Leachate on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 102(4), 519-524.
- García-Ulloa, M. I., Escalante, A. E., Moreno-Letelier, A., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2020). Evolutionary rescue of an environmental *Pseudomonas* otitidis in response to anthropogenic perturbation. *Frontiers in microbiology*, 11.
- Gerić, M., Gajski, G., Oreščanin, V., & Garaj-Vrhovac, V. (2018). Seasonal variations as predictive factors of the comet assay parameters: a retrospective study. *Mutagenesis*, 33(1), 53-60.
- Gökalp, F. D., Doğanlar, O., Doğanlar, Z. B., & Güner, U. (2020). The genotoxic effects of mixture of aluminum, arsenic, cadmium, cobalt, and chromium on the gill tissue of adult zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton 1822). *Drug and Chemical Toxicology*, 1-10.
- Gössling, S., Hall, C. M., & Scott, D. (2018). Coastal and ocean tourism. In *Handbook on marine environment protection* (pp. 773-790). Springer, Cham.
- Grant, P. R., Grant, B. R., Huey, R. B., Johnson, M. T., Knoll, A. H., & Schmitt, J. (2017). Evolution caused by extreme events. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1723), 20160146.
- Gül, M. R., & Griffen, B. D. (2018). A reliable bioindicator of anthropogenic impact on the coast of South Carolina. *Southeastern Naturalist*, 17(2), 357-364.
- Gutiérrez, J. M., Molisani, M. M., da Conceição, M. B., & Weber, L. I. (2019). Characterisation of coastal aquaculture sites in the state of Rio de Janeiro, Brazil, using genotoxicity biomarkers. *Regional Studies in Marine Science*, 32, 100870.
- Heddle JA. (1973). A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mut Res*, 18:187-190.
- Kadir, A. A., & Sarani, N. A. (2015). Cigarette butts pollution and environmental impact—A review. In *Applied Mechanics and Materials* (Vol. 773, pp. 1106-1110). Trans Tech Publications Ltd.
- Koohdarag, M., & Ahadi Ravoshti, D. (2020). The role of COVID-19 pandemic in environmental changes: A brief study. *Geotechnical Geology*, 16(2), 419-423.

- Kopp, B., Zalko, D., & Audebert, M. (2018). Genotoxicity of 11 heavy metals detected as food contaminants in two human cell lines. *Environmental and molecular mutagenesis*, 59(3), 202-210.
- Kukla, S., Slobodskova, V., Mazur, A., Chelomin, V., & Kamenev, Y. (2021). Genotoxic Testing of Titanium Dioxide Nanoparticles in Far Eastern Mussels, *Mytilus Trossulus*. *Pollution*, 7(1), 129-140.
- Kumar, MK, D'costa PA, Shyama SK. (2017). Genotoxic Biomarkers as Indicators of Marine Pollution. *Marine Pollution and Microbial Remediation*. Springer Singapore. 263-270.
- Laio, T. Y., Chen, C. C., Tsou, H. H., Liu, T. Y., & Wang, H. T. (2019). Acute and Chronic Exposure of Toluene Induces Genotoxicity in Different Regions of the Brain in Normal and Allergic Mouse Models. *Neurotoxicity research*, 36(4), 669-678.
- Lamine, I., Alla, A. A., Bourouache, M., & Moukrim, A. (2019). Monitoring of Physicochemical and Microbiological Quality of Taghazout Seawater (Southwest of Morocco): Impact of the New Tourist Resort" Taghazout Bay". *Journal of Ecological Engineering*, 20(7).
- Lazcano, R. F., Vincent, A. E., & Hoellein, T. J. (2020). Trash Dance: Anthropogenic Litter and Organic Matter Co-Accumulate on Urban Beaches. *Geosciences*, 10(9), 335.
- Leão SC, Araújo ME. (2017) Gerenciamento do turismo no ambiente recifal de Porto de Galinhas (PE) através da comunicação. XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR Florianópolis (SC).
- Lee, J. (2012). Get Your Butt Off the Ground!: Consequences of Cigarette Waste and Litter-Reducing Methods.
- Lima, A. R., Torres, R. A., Jacobina, U. P., Pinheiro, M. A., & Adam, M. L. (2019). Genomic damage in *Mugil curema* (Actinopterygii: Mugilidae) reveals the effects of intense urbanization on estuaries in northeastern Brazil. *Marine pollution bulletin*, 138, 63-69.
- Loizia, P., Voukkali, I., Chatziparaskeva, G., Navarro-Pedreño, J., & Zorpas, A. A. (2021). Measuring the Level of Environmental Performance on Coastal Environment before and during the COVID-19 Pandemic: A Case Study from Cyprus. *Sustainability*, 13(5), 2485.
- Lynch, M. A., Youngflesh, C., Agha, N. H., Ottinger, M. A., & Lynch, H. J. (2019). Tourism and stress hormone measures in Gentoo Penguins on the Antarctic Peninsula. *Polar Biology*, 42(7), 1299-1306.
- Manenti, R., Mori, E., Di Canio, V., Mercurio, S., Picone, M., Caffi, M., ... & Rubolini, D. (2020). The good, the bad and the ugly of COVID-19 lockdown effects on wildlife conservation: Insights from the first European locked down country. *Biological conservation*, 249, 108728.
- Mansouri, N., Etebari, M., Ebrahimi, A., Ebrahimpour, K., Rahimi, B., & Hassanzadeh, A. (2020). Genotoxicity and phytotoxicity comparison of cigarette butt with cigarette ash. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(32), 40383-40391.
- Marshall, F., Banks, K., Cook, G., (2014). Ecosystem indicators for Southeast Florida beaches. *Ecol. Indic.* 44, 81–91.
- Morina, V., Aliko, V., Sula, E., Gavazaj, F., Maxhuni, Q., & Kastrati, D. (2013). Evaluation of environmental pollution applying oxidative stress as bioindicators of wter pollution in fish from Sitnica river in Kosovo. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22, 1519–1523.
- Mousazadeh, M., Paital, B., Naghdali, Z., Mortezaia, Z., Hashemi, M., Niaragh, E. K., ... & Emamjomeh, M. M. (2021). Positive environmental effects of the coronavirus 2020 episode: a review. *Environment, Development and Sustainability*, 1-23.

- Nagaj, R., & Žuromskaitė, B. (2021). Tourism in the Era of Covid-19 and Its Impact on the Environment. *Energies*, 14(7), 2000.
- Nazir, R., Ali, J., Rasul, I., Widemann, E., & Shafiq, S. (2021). Eco-Environmental Aspects of COVID-19 Pandemic and Potential Control Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(7), 3488.
- Olive PL, Banath JP, Durand RE. (1990). Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay. *Radiat Res*, 122(1): 86-94.
- Ormaza-González, F., & Castro-Rodas, D. (2020). COVID-19 Impacts on beaches and coastal water pollution: Management proposals post-pandemic.
- Pinheiro, M. A. A., Duarte, L. F. A., Toledo, T. R., Adam, M. L., & Torres, R. A. (2013). Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucridae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, 185(10), 8273-8285.
- Prefeitura de Ipojuca (2020). <https://www.ipojuca.pe.gov.br/2020/03/21/coronavirus-porto-de-galinhas-e-as-demais-praias-do-litoral-ipojucano-serao-fechadas-neste-domingo/>
- Reyes-Martínez, M.J., Lercari, D., Ruíz-Delgado, M.C., S´anchez-Moyano, J.E., Jim´enez- Rodríguez, A., P´erez-Hurtado, A., García-García, F.J., (2015). Human pressure on sandy beaches: implications for trophic functioning. *Estuar. Coasts* 38, 1782–1796
- Rume, T., & Islam, S. D. U. (2020). Environmental effects of COVID-19 pandemic and potential strategies of sustainability. *Heliyon*, e04965.
- Rutz, C., Loretto, M., Bates, A., Davidson, S., Duarte, C., Jetz, W., Johnson, M., Kato, A., Kays, R., Mueller, T., Primack, R., Ropert-Coudert, Y., Tucker, M., Wikelski, M., Cagnacci, F., (2020). COVID-19 lockdown allows researchers to quantify the effects of human activity on wildlife. *Nat. Ecol. Evo.* 4, 1156–1159.
- Salem, E., El-Garawani, I., Allam, H., Abd El-Aal, B., & Hegazy, M. (2018). Genotoxic effects of occupational exposure to benzene in gasoline station workers. *Industrial health*, 56(2), 132-140.
- Santos, J. G. & Cândido, G. A. (2015). Geração e manejo dos resíduos sólidos resultantes das atividades turísticas de Porto de Galinhas-PE. *Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo*, 9(1), 40-48.
- Schiavo, S., Oliviero, M., Philippe, A., & Manzo, S. (2018). Nanoparticles based sunscreens provoke adverse effects on marine microalgae *Dunaliella tertiolecta*. *Environmental Science: Nano*, 5(12), 3011-3022.
- Schmid W. (1975). The micronucleus test. *Mut Res*, 31:9-15.
- Seriani, R., Ranzani-Paiva, M. J., Silva-Souza, A. T., & Napoleao, S. R. (2011). Hematology, micronuclei and nuclear abnormalities in fishes from Sao Francisco river, Minas Gerais state, Brazil. *Acta Scientiarum*, 33(1), 107–112.
- Shakil, M. H., Munim, Z. H., Tasnia, M., & Sarowar, S. (2020). COVID-19 and the environment: A critical review and research agenda. *Science of the Total Environment*, 141022.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. (1988). A simple technique for the quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175:184-191.

- Smith, J. R., Lindborg, R. J., Hernandez, V., Abney, E. A., & Witherington, B. E. (2021). Using behavior indices and vital rates to determine the conservation impact of wildlife tourism: Guided sea turtle watch programs in Florida. *Global Ecology and Conservation*, 27, e01537.
- Soares, J., Miguel, I., Venâncio, C., Lopes, I., & Oliveira, M. (2020). Perspectives on Micro (Nano) Plastics in the marine environment: biological and societal considerations. *Water*, 12(11), 3208.
- Soto, E. H., Botero, C. M., Milanés, C. B., Rodríguez-Santiago, A., Palacios-Moreno, M., Díaz-Ferguson, E., ... & Souza Filho, J. R. (2021). How does the beach ecosystem change without tourists during COVID-19 lockdown?. *Biological Conservation*, 255, 108972.
- Suciu, M., Tavares, D., Costa, L., Silva, M., Zalmon, I., 2017. Evaluation of environmental quality of sandy beaches in southeastern Brazil. *Mar. Poll. Bull.* 199, 133–142.
- Sula, E., Aliko, V., Pagano, M., & Faggio, C. (2020). Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities. *Microscopy research and technique*, 83(4), 362-369.
- Thirunavukkarasu, S., Vasanthi, R., Karunasakaran, G., & Munuswamy, N. (2020). Coastal water quality impact on community structure and genotoxicity of marine zooplankton. *Regional Studies in Marine Science*, 39, 101392.
- UNWTO (2021). World Tourism Organization. <https://www.unwto.org>
- Wu, P.P.Y., Mengersen, K., McMahon, K., Kendrick, G.A., Chartrand, K., York, P.H., Rasheed, M.A., Julian, M.C., 2017. Timing anthropogenic stressors to mitigate their impact on marine ecosystem resilience. *Nat. Commun.* 8 (1), 1–11.
- Wytock, T. P., Zhang, M., Jinich, A., Fiebig, A., Crosson, S., & Motter, A. E. (2020). Extreme antagonism arising from gene-environment interactions. *Biophysical Journal*, 119(10), 2074-2086.
- Yamin, A., Naz, S., Hussain, R., Rehman, T., Shaheen, A., Chatha, A. M. M., ... & Moazzam, M. S. (2020). Exposure to low concentrations of heavy metals alone and in combination induces histopathological and genotoxic effects in fish (*Labeo rohita*). *Advancements in life sciences*, 7(4), 240-246.
- Zafra-Lemos, L., Lopes, V. L., de Santi Rampazzo, A. P., Natali, M. R. M., Borin-Carvalho, L. A., & Portela-Castro, A. L. B. (2021). Evidence of cytogenetic and histological damage in specimens of *Astyanax lacustris* (Pisces, Characidae) exposed to the hydrogen cyanide-based herbicide Dormex®. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 43, e51425-e51425.
- Zambrano-Monserrate, M. A., Ruano, M. A., & Sanchez-Alcalde, L. (2020). Indirect effects of COVID-19 on the environment. *Science of the Total Environment*, 728, 138813.
- Zar, J.H., (2010). *Biostatistical Analysis*, 5th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Zhang, T., Yan, Z., Zheng, X., Wang, S., Fan, J., & Liu, Z. (2020). Effects of acute ammonia toxicity on oxidative stress, DNA damage and apoptosis in digestive gland and gill of Asian clam (*Corbicula fluminea*). *Fish & shellfish immunology*, 99, 514-525.
- Zielinski, S., & Botero, C. M. (2020). Beach tourism in times of COVID-19 pandemic: critical issues, knowledge gaps and research opportunities. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(19), 7288.

ANEXO

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O sítio onde foram coletados os espécimes de *Abudefduf saxatilis* localiza-se nas piscinas naturais da praia de Porto de Galinhas, Ipojuca - Pernambuco, Nordeste do Brasil (8°30'32.19''S, 34°59'54.61''O). O ponto selecionado para a captura dos animais foi a principal piscina natural com a maior circulação dos turistas que chegam até a mesma por meio dos passeios de jangada. A coleta de animais para compor o grupo controle foi realizada dentro da zona de exclusão da Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais, na faixa situada em Tamandaré, Ipojuca - Pernambuco, Nordeste do Brasil (8°45'40.89"S, 35° 5'51.85"O), em uma piscina natural a cerca de 2 mil metros da faixa de areia.

Coleta das amostras biológicas

Foram realizadas coletas mensais no período de julho de 2017 a junho de 2018 e novamente de junho de 2020 a agosto de 2020, este correspondendo ao período de restrição de mobilidade humana nas praias. Foram capturados dez espécimes de *Abudefduf saxatilis* por mês com o uso de pulsar (rede de pesca em haste). Os animais coletados foram imediatamente processados no local para evitar que o estresse da captura e transporte pudessem causar novas expressões de dano genômico, os quais poderiam levar a um viés nos resultados das análises. Cerca de 0,5 ml de sangue periférico foi coletado de cada animal, sendo destinado à confecção de esfregaços sanguíneos em lâmina de microscopia e para o ensaio Cometa. A amostra de sangue periférico de cada organismo foi misturada a anticoagulante (HEMOFOL) no momento da captura para que o material biológico fosse então levado para o laboratório.

Concomitante à captura dos peixes, a temperatura da água foi aferida com um termômetro convencional, a uma profundidade de um metro dentro da piscina natural. Os dados de pluviometria mensal foram disponibilizados pela Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC). Os dados mensais de passeios de jangada foram obtidos com a Associação dos Jangadeiros de Porto de Galinhas (AJPG). Os dados mensais quanto à ocupação hoteleira de Porto foram fornecidos pela Empresa de Turismo de Pernambuco (EMPURTUR).

Avaliação da genotoxicidade

Teste de micronúcleos de alterações morfológicas nucleares

A avaliação de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares foi realizada pela análise de eritrócitos em esfregaço sanguíneo. As lâminas foram feitas em duplicatas, numeradas e transportadas para o laboratório. No laboratório, as lâminas foram fixadas com metanol (5 minutos), coradas com giemsa (3 minutos) e visualizadas em microscópio óptico (100x). Cerca de três mil (3000) células por indivíduo foram analisadas verificando a presença de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares. Para a análise de alterações morfológicas nucleares, foram consideradas dez categorias morfológicas: Núcleo fragmentado, Bud nuclear, Núcleo binucleado, Cariólise, Núcleo retraído, Micrócito, Núcleo Vacuolado, Núcleo lobado, Blebbed, e Notched.

Ensaio Cometa

O Ensaio Cometa foi realizado sazonalmente, representando o período seco e o chuvoso durante o primeiro ano de coleta, e posteriormente no período de restrição de mobilidade humana. Para a execução desta metodologia, lâminas foram previamente preparadas com uma superfície de agarose (1,5% - 1,5g de agarose em 100ml de solução PBS), nas quais foram colocados 5 µl da solução sangue/agarose de cada animal. Esta solução foi preparada previamente com 120 µl de agarose de baixo ponto de fusão e 10 µl de sangue, sendo homogeneizada levemente. A técnica foi executada como descrita por Östling e Johanson (1984) e aprimorada por Singh et al (1988). Em seguida, as lâminas foram cobertas com lamínulas e refrigeradas por 10 minutos.

Ao fim desse tempo, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas e as lâminas foram acondicionadas em um porta-lâminas, com a adição da solução de lise alcalina (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, 1% Triton x-100, 10% DMSO, pH 10) previamente refrigerada (4°C) por pelo menos uma hora. Todo o ensaio para confecção do material sanguíneo em lâminas aconteceu de forma fotossensível. Após a fase alcalina, as lâminas foram submetidas a uma corrida de eletroforese refrigerada ($\pm$ 4°C) adicionando tampão (TBE – Tris Boro EDTA 1X), onde permaneceram por 20 minutos antes do início da reação. O tempo de ação foi de 20 minutos, em 40 V a 300mA. Terminado mais essa etapa, as lâminas foram fixadas em etanol por 5 minutos e coradas com 50 µl de GelRed diluído em água ultra purificada (1:100), sendo cada lâmina coberta com uma lamínula. No escuro, as lâminas foram analisadas com microscópio de epifluorescência. Foram analisadas 100 células de cada animal. O reconhecimento do dano aconteceu de acordo

com comprimento da cauda em cinco classes: 0 – sem dano aparente; 1 – dano pequeno; 2 – dano médio; 3 – dano grande; 4 – dano máximo. Desses níveis de dano foram calculados os índices e frequências de dano, que então foram comparados ao grupo controle do estudo.

Análises Estatísticas

A partir das médias gerais de micronúcleos e alterações nucleares, foram estabelecidos os índices de proporcionalidade (IP) para ambas as lesões, relacionando: controle x com turismo, controle x sem turismo e com turismo x sem turismo. Para verificar a correlação multivariada entre os dados ambientais (precipitação, temperatura, passeios de jangadas e ocupação turística) com os valores mensais do teste de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares, foi aplicada a Permanova (Software: PRIMER 7 + PERMANOVA) (Anderson, 2001) e os modelos lineares baseados em distância (DistLM); identificando quais variáveis mais se relacionam com as lesões e comparando os períodos de coleta entre si. O DistLM foi executado com 9999 permutações a 5% de significância (Anderson et al., 2008). A Análise Canônica das Coordenadas Principais (CAP) (Anderson & Willis, 2003), foi realizada para avaliar relação da expressão dos danos nucleares com os múltiplos fatores. A variância dos dados do ensaio cometa, micronúcleo e alterações morfológicas nucleares foi calculada com o teste ANOVA e o teste a posteriori de Tukey (Software: StatSoft STATISTICA v. 6.0).