

Respuestas biológicas en ostras contaminadas por hidrocarburos: foco en el sistema de biotransformación

Biological responses in oysters contaminated by hydrocarbons: Focus on the biotransformation system

Miguel Saldaña-Serrano¹ , Camila Bastolla¹ 
y Flávia Zacchi² * 

1 Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica (LABCAI), Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.
2 Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.



Citar como: Saldaña-Serrano *et al.* (2024). «Respuestas biológicas en ostras contaminadas por hidrocarburos: foco en el sistema de biotransformación». *South Sustainability*, 5(2), e111. DOI: 10.21142/SS-0502-2024-e111

Artículo recibido: 13/8/2024
Revisado por pares
Artículo aceptado: 3/10/2024

Este documento formó parte de los trabajos generados en el marco del «Encuentro científico - Derrame de hidrocarburos: Soluciones desde la academia» organizado por la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú, 2024).



© Los autores, 2024. Publicado por la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú)

*E-mail de correspondencia:
flavia.zacchi@ufsc.br

RESUMEN

Hasta la actualidad, 5,8 millones de toneladas de petróleo han sido derramados en los océanos, y son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) los compuestos que causan mayor impacto negativo en estos ecosistemas. Comprender cómo los organismos acuáticos responden a la exposición por HAP a nivel molecular o bioquímico sirve como indicador diagnóstico ambiental y podría ayudar en la formulación de políticas de conservación. Recopilamos 15 años de investigaciones evaluando efectos subletales en ostras del género *Crassostrea* luego de su exposición a diferentes hidrocarburos. Analizamos genes y la actividad de enzimas relacionadas con el sistema de biotransformación, donde los genes *CYP450-like* y la enzima GST demostraron ser los más sensibles. Sugerimos utilizar estos biomarcadores como herramientas de alerta temprana en programas de monitoreo ambiental marino-costero.

Palabras clave: biomarcadores, derrames de petróleo, bivalves, CYP450, GST

ABSTRACT

To date, 5.8 million tons of oil have been spilled into the oceans, with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) being the compounds that cause the greatest negative impact on marine ecosystems. Understanding how aquatic organisms respond to PAHs exposure at the molecular and/or biochemical level serves as an environmental diagnostic indicator and could help in the formulation of conservation policies. We compiled 15 years of research evaluating sub-lethal effects in oysters of the genus *Crassostrea* after exposure to different hydrocarbons. We analyzed genes of the cytochrome P450 (CYP450) superfamily and the activity of conjugation enzymes. CYP450-like genes and GST enzymes were found to be the most susceptible to hydrocarbon exposure. We therefore suggest using these biomarkers as early warning tools in marine-coastal environmental monitoring programs.

Keywords: Biomarkers, oil spills, bivalves, CYP450, GSTs



Introducción

Contaminación por hidrocarburos

Los HAP constituyen una clase de contaminantes orgánicos altamente distribuidos en los ambientes acuáticos, la atmósfera y el suelo (Patel *et al.*, 2020). Una de las fuentes antropogénicas de HAP en estos ambientes es la contaminación petrogénica, que consiste en la descarga o derrame de petróleo crudo o de productos petrolíferos. La persistencia de los HAP en el medioambiente está directamente relacionada con el aumento del peso molecular y, en consecuencia, del número de anillos de benceno (Sakshi y Haritash, 2020). Son compuestos poco solubles en agua y su solubilidad disminuye a medida que aumenta el número de anillos de benceno en su composición (Sakshi y Haritash, 2020). La degradación ambiental de los HAP suele ocurrir lentamente, y la exposición a los HAP causa riesgos para la salud de los humanos y otros animales, ya que algunos, además de ser tóxicos, tienen características cancerígenas, mutagénicas o teratogénicas (Patel *et al.*, 2020; Ramesh, Harris y Archibong, 2022). Debido a estas características, los HAP figuran en las normas y legislaciones ambientales de muchos países como una clase de contaminantes de alta prioridad en los análisis de riesgos para la salud humana y riesgo ecológico de los efluentes. La principal legislación que aborda detalladamente las cantidades de HAP en agua y sedimentos está vigente en Estados Unidos, a través de la Agencia de Protección Ambiental (United States Environmental Protection Agency, US EPA) (US EPA, 2015) y en la Unión Europea (UE, 2011).

Uso de biomarcadores en el monitoreo ambiental

Tras un derrame de petróleo, la bioacumulación de hidrocarburos puede conllevar al proceso de biomagnificación, donde las sustancias se transfieren a niveles superiores de la cadena trófica, lo que resulta en un aumento de la concentración y dispersión de contaminantes tóxicos (Qin *et al.*, 2020). Por lo tanto, es importante realizar una evaluación rápida de los efectos nocivos de estos eventos en el ecosistema. Esta evaluación se puede realizar mediante el análisis de biomarcadores, que son cambios biológicos a nivel molecular, bioquímico, celular, fisiológico y comportamental que expresan los efectos tóxicos causados por los contaminantes (Walker *et al.*, 2016). La evaluación de biomarcadores en organismos acuáticos expuestos a HAP representa una herramienta rápida y fundamental para la evaluación temprana de la calidad ambiental en eventos de derrames de petróleo (Kumari y Khare, 2018).

Las ostras como organismos bioindicadores

Los moluscos bivalvos como las ostras son animales sésiles, filtradores y cosmopolitas, que tienden a acumular contaminantes en sus tejidos, por lo cual son empleados como organismos bioindicadores y se denominan organismos centinela en programas de monitoreo ambiental (Gunther *et al.*, 1999). En particular, las ostras del género *Crassostrea*, consideradas de gran importancia comercial, como la especie *Crassostrea gigas*, tercer molusco bivalvo más cultivado en el mundo (FAO, 2022), y las especies *Crassostrea gasar* y *Crassostrea rhizophorae*,

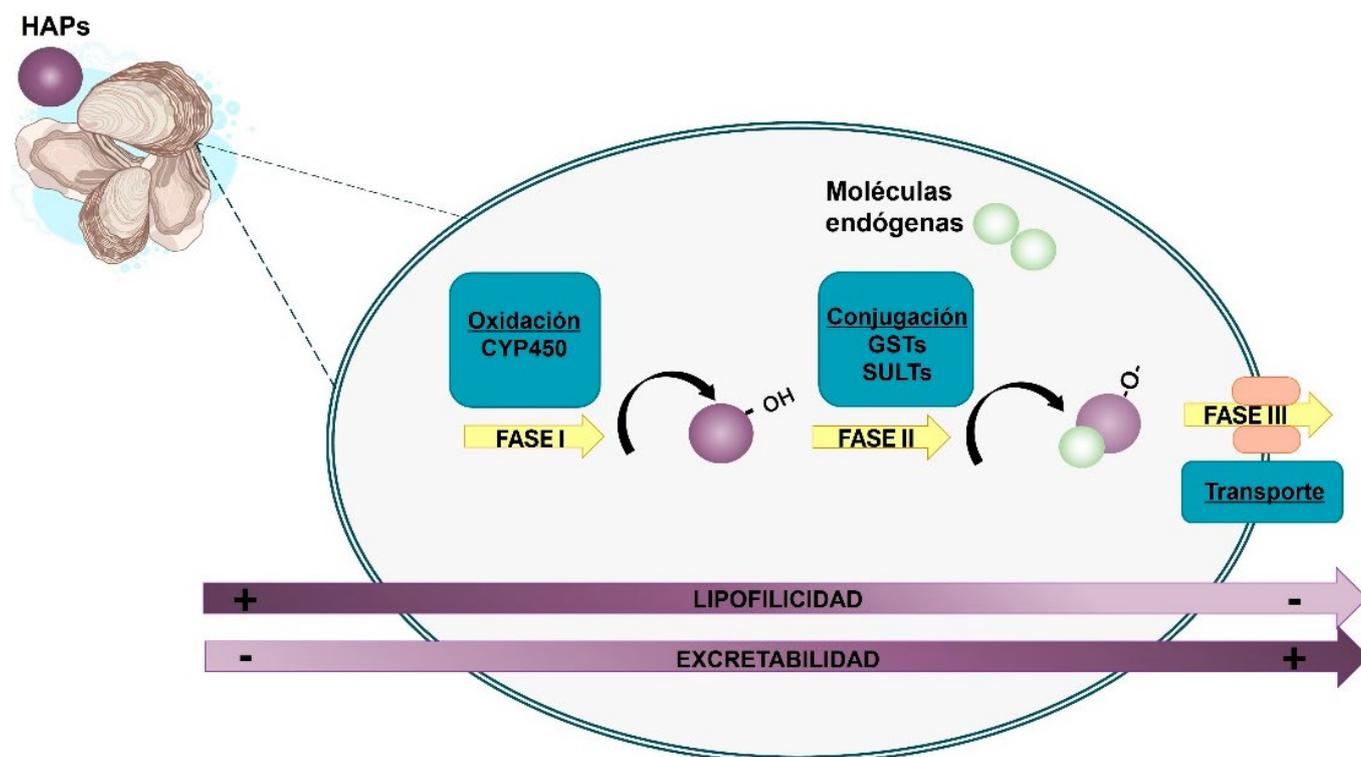


Figura 1. Esquema del metabolismo de biotransformación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en organismos acuáticos. Citocromo P-450 (CYP450), glutatión S-transferasa (GST) y sulfotransferasas (SULT).

especies nativas de la costa en el Atlántico Sur, se pueden encontrar en ambientes muy diversos, y son recolectadas y cultivadas para el consumo humano. Debido a la importancia económica, social y ambiental, estas especies se utilizan para evaluar los biomarcadores tras la exposición a derivados del petróleo e hidrocarburos. Sin embargo, aún son pocos los estudios que han evaluado el impacto de los HAP en moluscos bivalvos, específicamente las ostras.

Biotransformación

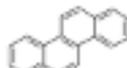
La biotransformación es el proceso por el cual las sustancias que ingresan al cuerpo cambian de moléculas hidrofóbicas a hidrofílicas para facilitar su eliminación, generando en ocasiones productos con poco o ningún efecto toxicológico (Walker *et al.*, 2016). Una vez que los HAP ingresan a la célula animal, su metabolización se produce mediante la activación de enzimas específicas que participan en reacciones de biotransformación. El proceso de biotransformación de los HAP se produce en dos fases (figura 1). La fase I, la cual involucra enzimas como el complejo citocromo P450 (CYP), que participan en el primer proceso de activación de HAP, tiene el principal objetivo de inducir modificaciones químicas en los grupos funcionales de los HAP, lo que da como resultado la formación de sustancias con mayor capacidad de ser excretadas del organismo. Sin embargo, los metabolitos generados, además de tener características cancerígenas o tóxicas, pueden no ser aún lo suficientemente solubles en agua para ser excretados de la célula (Abdel-Shafy y Mansour, 2016) y necesitan conjugarse con otras moléculas. Este proceso de conjugación se lleva a cabo mediante las enzimas de biotransformación de fase II, como la glutatión S-transferasas (GST) y las sulfotransferasas (SULT) (Ambrosone y Tang, 2009). La fase II de biotransformación es fundamental para reducir la toxicidad de los HAP, al hacerlos más solubles en agua y facilitar su excreción. Debido a su importancia en la metabolización de los HAP, los genes y enzimas de biotransformación de la fase I y II se utilizan frecuentemente como biomarcadores de contaminación acuática por derrames de hidrocarburos y derivados del petróleo.

Enfoque y discusión

Los HAP son considerados los componentes con mayor toxicidad en los organismos acuáticos entre los constituyentes químicos del petróleo y sus derivados (Pampanin y Sydnes, 2013). La Agencia Estadounidense de Protección Ambiental (US EPA, 2015) estableció 16 HAP prioritarios para monitorear contaminantes persistentes, clasificados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2013) según sus propiedades cancerígenas, de los cuales resaltamos los HAP estudiados estos 15 años de investigación (tabla 1). En este sentido, la evaluación de biomarcadores de exposición tiene el potencial de servir como base en el desarrollo de

programas de monitoreo ambiental luego de accidentes de derrames de petróleo, lo que permite la identificación rápida y efectiva de riesgos para los organismos vivos.

Tabla 1. Nombre, estructura química, peso molecular y clasificación de los HAP, según la IARC, que fueron investigados en este estudio.

Nombre HAP	Estructura química	Peso molecular (g/mol)	IARC grupo
Fenantreno		178,23	No clasificable
Fluoreno		166,22	No clasificable
Pireno		202,25	No clasificable
Criseno		228,29	Posiblemente cancerígeno

En este artículo revisamos estudios recientes con biomarcadores de exposición a diversos hidrocarburos en ostras del género *Crassostrea*, y nos centramos en el sistema de biotransformación (fases I y II) (tabla 2). Nuestro objetivo fue resaltar genes y enzimas cuyas variaciones pueden estar relacionadas con HAP específicos o con petróleo crudo. Estos biomarcadores tienen el potencial de servir como herramientas en los programas de monitoreo ambiental después de accidentes de derrames de petróleo, lo que permite una identificación rápida y eficaz de los efectos negativos en los organismos acuáticos. Estudios previos indicaron cambios significativos en la fase I de la biotransformación, tanto a nivel de la transcripción génica (*CYP2-like*, *CYP2A1-like* y *CYP356A1-like*) como enzimática (actividad de EROD), en branquias y glándula digestiva de las ostras del género *Crassostrea*, después de una exposición aguda (24 h o 96 h) a concentraciones ambientalmente relevantes de diferentes contaminantes: fracción de diésel acomodada en agua (Lüchmann *et al.*, 2011), fenantreno (Lüchmann *et al.*, 2014; Nogueira *et al.*, 2017; Zacchi *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2018), pireno (Zacchi *et al.*, 2019; dos Reis *et al.*, 2023), fluoreno (dos Reis *et al.*, 2020) y criseno (Bastolla *et al.*, 2023). Los resultados de la mayoría de estos estudios destacan la regulación al alza de las isoformas de los genes CYP, GST y SULT luego de la exposición a concentraciones ambientalmente relevantes del fenantreno, fluoreno y pireno. De manera contraria, el criseno reguló a la baja la transcripción de estos genes y enzima. Sugerimos que estos cambios significativos en los biomarcadores de fase II, incluidas las alteraciones en la actividad de GST y la expresión génica de *GSTO-like*, *MGST* y en *SULT-like*, pueden indicar un papel fundamental de estos biomarcadores en los procesos de desintoxicación de las ostras, luego de estar expuestas a los HAP.



Tabla 2. Resumen de los HAP, organismo-prueba y biomarcadores analizados en los últimos 15 años de investigación en el LABCAI.

Nombre HAP	Modelo biológico	Biomarcadores		Referencia bibliográfica
		Genes	Enzimas	
Fración acomodada en agua (WAF)	<i>Crassostrea gasar</i>		GST (↑)	Lüchmann et al. (2011)
Fenantreno	<i>Crassostrea gasar</i>	CYP2-like 1 (↑), CYP-like 2 (↑), CYP2AU1-like (↑), GSTO-like (↑), CYP356A1-like (↑), GSTO-like (↑) e MGST3-like (↑)	GST (↓)	Lüchmann et al. (2014)
		CYP2-like 2 (↑);		Lima et al. (2019)
Fenantreno	<i>Crassostrea gigas</i> (larvas D)	CYP2-like 1 (↑); CYP2AU1-like (↑); CYP-like 2 (↑), SULT-like (↑)		Zacchi et al. (2017)
		CYP2AU2 (↑); CYP30C1 (↓)		Nogueira et al. (2017)
Fluoreno		CYP2AU1-like (↑)		
Pireno	<i>Crassostrea gasar</i>	CYP34751 (↑); CYP2AU1-like (↑); CYP2-like (↑); CYP356A (↑); GSTO (↑); MGST-like (↑); SULT-like (↑)	EROD (↑); MGST (↑)	Zacchi et al. (2019)
Fluoreno	<i>Crassostrea gigas</i>	CYP2AU2 (↑); GSTO (↑); SULT (↑)	MGST (↑)	dos Reis et al. (2020)
Pireno	<i>Crassostrea gasar</i>	CYP2AU1-like (↑)		dos Reis et al. (2023)
Criseno	<i>Crassostrea gasar</i>	CYP2AU1-like (↓); GSTO-like (↓)		
	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	CYP1-like (↓); CYP2-like (↓); MGST-like (↓); SULT-like (↓)		Bastolla et al. (2023)
	<i>Crassostrea gigas</i>		GST (↓)	

En concordancia con nuestros hallazgos, la revisión de Santana y colaboradores (2018) demostraron que EROD y GST son biomarcadores sólidos para evaluar los efectos de los HAP en los peces y, además, destacaron que los efectos fueron más fuertes en los experimentos realizados en el laboratorio en comparación con los estudios de campo y de biomonitorio activo. En otra situación, Sadauskas-Henrique y colaboradores (2024) monitorearon el impacto del derrame accidental de cemento asfáltico de petróleo en São Raimundo, ubicado en el Río Negro (Manaus, Amazonas, Brasil) empleando un conjunto de biomarcadores en dos especies de peces *Acarichthys heckelii* y *Satanoperca jurupari* después de 10, 45 y 90 días del derrame, y observaron que los metabolitos biliares tipo HAP en la actividad de acetilsolinestara en el cerebro, el daño del ADN en los eritrocitos y la actividad de etoxiresorufina-O-desetilasa en el hígado fueron los biomarcadores más sensibles para ambas especies de peces, ya que presentaron un aumento durante los días de monitoreo, probablemente a causa de la exposición a residuos de HAP. Por lo tanto, los estudios sobre biomarcadores bioquímicos o moleculares de contaminación acuática son muy útiles para el desarrollo de estrategias de protección del entorno costero marino y continental (Sarkar et al., 2017), sobre todo cuando estas herramientas son empleadas como señales tempranas del impacto provocado por los HAP en los organismos

acuáticos, luego de un derrame de petróleo, puesto que los resultados podrían servir a los especialistas como un instrumento de toma de decisión al momento de sugerir o tener que aplicar medidas de mitigación o remediación sobre el área impactada, antes de presenciar un impacto ambiental severo.

Conclusiones y recomendaciones

A través de la recopilación de investigaciones realizadas durante los últimos 15 años con ostras del género *Crassostrea* expuestas a diferentes derivados de HAP petrogénicos, podemos resaltar la importancia de los genes y las enzimas del sistema de biotransformación y su potencial uso como biomarcadores en programas de monitoreo ambiental luego de la contaminación por derrames de hidrocarburos o petróleo y sus derivados. Además, sugerimos que el uso de genes y enzimas de biotransformación, incluidas las familias del citocromo p450 (CYP), glutatión S-transferasa (GST) y sulfotransferasa, como potenciales biomarcadores en casos de contaminación por HAP o derivados del petróleo en especies del género *Crassostrea*. También destacamos que el tiempo de exposición a la respuesta aparente de estos biomarcadores puede variar según el tipo de HAP y el tipo de biomarcador analizado. Según los estudios analizados en este artículo, en general,

las respuestas relacionadas con genes aparecen con un tiempo de exposición más corto (*short-term*), y las respuestas relacionadas con enzimas tienden a aparecer con un tiempo de exposición más largo (*long-term*). Las branquias y las glándulas digestivas son ejemplos de posibles órganos para el análisis de biomarcadores en este caso. Se sugiere el uso de branquias, ya que son el primer órgano de las ostras en contacto con el medio acuático externo y, por tanto, con los HAP. Es importante resaltar que los experimentos analizados se llevaron a cabo en condiciones de laboratorio. En condiciones ambientales, las respuestas biológicas pueden variar debido a otros factores físico-químicos no cuantificados, como la temperatura, la salinidad, otros contaminantes, compuestos y sustancias orgánicas e inorgánicas. Se sugiere realizar más estudios, incluyendo otros HAP catalogados como sustancias de riesgo ambiental y para la salud humana y animal, así como pruebas realizadas en otras especies de moluscos bivalvos, para validar estos y otros genes y enzimas de biotransformación.

Por lo tanto, sugerimos el empleo de los biomarcadores como herramientas de alerta temprana para evaluar el impacto de los HAP en los organismos acuáticos marinos como los moluscos bivalvos, luego de un evento de derrame de petróleo. Además, que sean incluidos en protocolos, guías o manuales de monitoreo

ambiental de entidades de fiscalización ambiental del Perú. Recomendamos que los centros de investigación o universidades peruanas elaboren documentos técnicos relacionados con planes de monitoreo ambiental por contaminación de HAP que incluyan el empleo de los biomarcadores, para luego ser validados por instituciones como el Organismo de Fiscalización Ambiental (OEFA), el Ministerio del Ambiente (Minam) y el Ministerio de Producción (Produce).

Contribución de autoría

Miguel Saldaña-Serrano: concepción del proyecto, redacción del manuscrito, revisión y validación de la información. Camila Lisarb Velasquez Bastolla: redacción del manuscrito, revisión y validación de la información. Flávia Lucena Zacchi: concepción del proyecto, redacción del manuscrito, revisión y validación de la información, supervisión.

Fuente de financiamiento

Autofinanciado.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés.



Referencias bibliográficas

- Abdel-Shafy, H. I. y Mansour, M. S. M. (2016). «A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation». *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), pp. 107-123. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- Ambrosone, C. B. y Tang, L. (2009). «Cruciferous vegetable intake and cancer prevention: Role of nutrigenetics». *Cancer Prevention Research*, 2(4), pp. 298-300. Disponible en: <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-09-0037>
- Bastolla, C. L. V., Lima, D., Mattos, J. J., Dias, V. H. V., Righetti, B. P. H., Gomes, C. H. A. M., Cella, H., Reis, I. M. M., Saldaña-Serrano, M., Ferreira, C. P., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Zacchi, F. L. y Bainy, A. C. D. (2023). «Comparative biochemical and molecular responses of biotransformation and antioxidant systems in three species of *Crassostrea* (Sacco, 1897) oysters exposed to chrysene». *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 270, 109642. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2023.109642>
- dos Reis, I. M. M., Mattos, J. J., Siebert, M. N., Zacchi, F. L., Velasquez Bastolla, C. L., Saldaña-Serrano, M., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Araujo de Miranda Gomes, C. H., Rodrigues de Melo, C. M. y Dias Bainy, A. C. (2023). «Gender influences molecular and histological biomarkers in mature oysters *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) after pyrene exposure». *Chemosphere*, 311(1), 136985. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136985>
- dos Reis, I. M. M., Siebert, M. N., Zacchi, F. L., Mattos, J. J., Flores-Nunes, F., Toledo-Silva, G. de, Piazza, C. E., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Melo, C. M. R. de y Bainy, A. C. D. (2020). «Differential responses in the biotransformation systems of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) elicited by pyrene and fluorene: Molecular, biochemical and histological approach – Part II». *Aquatic Toxicology*, 226, 105565. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105565>
- Gunther, A. J., Davis, J. A., Hardin, D. D., Gold, J., Bell, D., Crick, J. R., Scelfo, G. M., Sericano, J. y Stephenson, M. (1999). «Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco Estuary». *Marine Pollution Bulletin*, 38(3), pp. 170-181. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(98\)00185-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)00185-4)
- International Agency for Research on Cancer, IARC. (2013). *Bitumens and bitumen emissions, and some N- and S-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons*. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol103/mono103.pdf>
- Kumari, K. y Khare, A. (2018). «Integration of biomarker approach in pollution monitoring programme of aquatic ecosystem». En S. J. Varjani, B. Parameswaran, S. Kumar y S. K. Khare (eds.), *Biosynthetic technology and environmental challenges* (pp. 331-354). Singapur: Springer. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-981-10-7434-9_18
- Lima, D., Zacchi, F. L., Mattos, J. J., Flores-Nunes, F., Gomes, C. H. A. de M., de Mello, Á. C. P., Siebert, M. N., Piazza, C. E., Taniguchi, S., Sasaki, S. T., Bicego, M. C., Bebianno, M. J., de Almeida, E. A. y Bainy, A. C. D. (2018). «Molecular and cellular effects of temperature in oysters *Crassostrea brasiliensis* exposed to phenanthrene». *Chemosphere*, 209, pp. 307-318. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.094>
- Lüchmann, K. H., Dafre, A. L., Trevisan, R., Craft, J. A., Meng, X., Mattos, J. J., Zacchi, F. L., Dorrington, T. S., Schroeder, D. C. y Bainy, A. C. D. (2014). «A light in the darkness: New biotransformation genes, antioxidant parameters and tissue-specific responses in oysters exposed to phenanthrene». *Aquatic Toxicology*, 152, pp. 324-334. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.04.021>
- Lüchmann, K. H., Mattos, J. J., Siebert, M. N., Granucci, N., Dorrington, T. S., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Sasaki, S. T., Daura-Jorge, F. G. y Bainy, A. C. D. (2011). «Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliensis* following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction». *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), pp. 652-660. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.09.003>
- Nogueira, D. J., Mattos, J. J., Dybas, P. R., Flores-Nunes, F., Sasaki, S. T., Taniguchi, S., Schmidt, É. C., Bouzon, Z. L., Bicego, M. C., Melo, C. M. R., Toledo-Silva, G. y Bainy, A. C. D. (2017). «Effects of phenanthrene on early development of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789)». *Aquatic Toxicology*, 191, pp. 50-61. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.07.022>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (2022). *SOFIA 2022. The State of Fisheries and Aquaculture*. Roma: FAO.
- Pampanin, D. M. y Sydnes, M. O. (2013). «Chapter 5: Polycyclic aromatic hydrocarbons a constituent of Petroleum: Presence and influence in the aquatic environment». *Hydrocarbon*. [Preprint].
- Patel, A. B., Shaikh, S., Jain, K. R., Desai, C. y Madamwar, D. (2020). «Polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, toxicity, and remediation approaches». *Frontiers in Microbiology*, 11, 562813. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>
- Qin, N., He, W., Liu, W., Kong, X., Xu, F. y Giesy, J. P. (2020). «Tissue distribution, bioaccumulation, and carcinogenic risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic organisms from Lake Chaohu, China». *Science of the Total Environment*, 749, 141577. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141577>
- Ramesh, A., Harris, K. J. y Archibong, A. E. (2022). «Reproductive toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons». En R. C. Gupta (ed.), *Reproductive and developmental toxicology* (pp. 759-778). (3.ª ed.). Hopkinsville: Elsevier. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89773-0.00038-2>
- Sadauskas-Henrique, H., Braz-Mota, S., Campos, D. F., dos Santos Barros, H., Kochhann, D., Val, A. L. y de Almeida-Val, V. M. F. (2024). «Oil spill in an amazon blackwater environment: Biochemical and physiological responses of local fish species». *Environmental Research*, 250, 118347. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118347>
- Sakshi y Haritash, A. K. (2020). «A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation». *Archives of Microbiology*, 202, pp. 2033-2058. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01929-5>
- Santana, M. S., Sandrini-Neto, L., Filipak Neto, F., Oliveira Ribeiro, C. A., Di Domenico, M., Prodocimo, M. M. (2018). «Biomarker responses in fish exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Systematic review and meta-analysis». *Environmental Pollution*, 242, Part A, pp. 449-461. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.004>
- Sarkar, A., Bhagat, J., Saha Sarker, M., Gaitonde, D. C. y Sarker, S. (2017). «Evaluation of the impact of bioaccumulation of PAH from the marine environment on DNA integrity and oxidative stress in marine rock oyster (*Saccostrea cucullata*) along the Arabian sea coast». *Ecotoxicology*, 26, pp. 1105-1116. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1837-9>
- Unión Europea, UE. (2011). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) factsheet*. Geel: Institute for Reference Materials and Measurements.
- United States Environmental Protection Agency, US EPA. (2015). *Water Quality Benchmarks for Aquatic Life*. Washington, D. C.: US EPA.

Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P. y Peakall, D. B. (2016). *Principles of ecotoxicology*. (4.ª ed.). CRC Press: Boca Ratón. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/b11767>

Zacchi, F. L., de Lima, D., Flores-Nunes, F., Mattos, J. J., Lüchmann, K. H., de Miranda Gomes, C. H. A., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Sasaki, S. T. y Dias Bainy, A. C. (2017). «Transcriptional changes in oysters *Crassostrea brasiliana* exposed to phenanthrene at different salinities». *Aquatic Toxicology*, 183, pp. 94-103. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.016>

Zacchi, F. L., dos Reis, I. M. M., Siebert, M. N., Mattos, J. J., Flores-Nunes, F., Toledo-Silva, G. de, Piazza, C. E., Bicego, M. C., Taniguchi, S. y Bainy, A. C. D. (2019). «Differential responses in the biotransformation systems of the oyster *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) elicited by pyrene and fluorene: molecular, biochemical and histological approach - Part I». *Aquatic Toxicology*, 216, 105318. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105318>

