



Programa de Pós-Graduação - Mestrado  
Recursos Aquáticos e Pesca

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOLOGIA  
MESTRADO EM RECURSOS AQUÁTICOS E PESCA

**JONATAS DA SILVA CASTRO**

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii* (PISCES,  
ARIIDAE) NO MONITORAMENTO DO COMPLEXO ESTUARINO DE SÃO  
MARCOS, MARANHÃO**

São Luís- MA

2016

JONATAS DA SILVA CASTRO

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii* (PISCES,  
ARIIDAE) NO MONITORAMENTO DO COMPLEXO ESTUARINO DE SÃO  
MARCOS, MARANHÃO**

Documento de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Erivânia Gomes Teixeira

São Luís- MA

2016

Castro, Jonatas da Silva.

Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) no monitoramento do complexo estuarino de São Marcos, Maranhão / Jonatas da Silva Castro. – São Luís, 2016.

80 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, 2016.

Orientador: Profa. Erivânia Gomes Teixeira.

1. Alcântara. 2. Biomarcador histológico. 3. Complexo estuarino. 3. Guribu. 4. Porto do Itaqui. I. Título.

CDU 597:639.2.053.3(812.1)

**JONATAS DA SILVA CASTRO**

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii* (PISCES,  
ARIIDAE) NO MONITORAMENTO DO COMPLEXO ESTUARINO DE SÃO  
MARCOS, MARANHÃO**

Documento de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Erivânia Gomes Teixeira (Orientadora)  
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

---

Profa. Dra. Izabel Cristina da Silva Almeida Funo  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA)  
1ª Examinador

---

Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta  
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)  
2ª Examinador

---

Profa. Dra. Selma Patrícia Diniz Catanhede  
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)  
Suplente

Em seu coração o homem planeja  
o seu caminho, mas o Senhor  
determina os seus passos  
(SALOMÃO, Provérbios 16:9)

Dedico este trabalho a minha  
família e todos que torcem e  
vibram com minhas conquistas.

## **AGRADECIMENTOS**

Minha gratidão a Deus pela saúde, força e por direcionar os meus passos a mais uma conquista.

À minha família, Maria Da Paz Araújo da Silva (mãe), Raimundo Nonato Araújo Castro (pai), Keila Regina e Luís Magno (irmãos), vocês são minha motivação e inspiração de lutar a cada dia buscar ser o melhor no que faço. Que eu não seja apenas um orgulho, mas um exemplo para as futuras gerações.

À minha orientadora, professora Erivânia Gomes Teixeira, pela confiança depositada durante o desenvolvimento da pesquisa. Serei eternamente grato pelos ensinamentos e oportunidades dadas a mim.

As professoras Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta e Dra. Izabel Cristina da Silva Almeida Funo pelas preciosas recomendações sobre a presente pesquisa, buscando o aperfeiçoamento do trabalho. Muito Obrigado,

Aos amigos de perto e aos de longe que nos momentos certos me deram uma palavra de motivação, me ajudando a prosseguir.

Aos meus queridos colegas de turma: Ticianne de Sousa de Oliveira Mota Andrade, Wagner Macedo da Silva, Cassia Fernanda Chagas Ferreira, Adriana do Nascimento Cavalcante, Marcelo Henrique Lopes Silva, Rayssa de Lima Cardoso, Draytiane da Silva Machado, Giulliana Lemos de Medeiros, Gleison Andrade Campos, faço questão de deixa-los registrados neste documento. Cada qual com sua peculiaridade, foi o que nos fez unidos durante esses dois anos. Sair de casa pra aula não era um sacrifício e sim um grande prazer em saber que estaria com pessoas tão dedicadas, sérias e divertidas no momento certo. Desejo a todos muito sucesso nessa jornada que segue.

À todos os professores do Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP) pelo ensino e dedicação dentro e fora da sala de aula, pelo grande incentivo a publicação e as oportunidade concedidas.

Aos servidores do PPGRAP, Hillana e Fernanda, pela disposição em nos ajudar. Muito Obrigado.

Aos bolsistas de iniciação científica Caroline Lopes França e Jackellynne Fernanda Farias Fernandes pelo auxílio nas coletas e análises dos dados. Aos meus amigos Isaias Vilas Boas, Augusto Leandro, Gleison Campos, Marcos Pedro, Raul Jardim e Ricardo Viegas pelo suporte durante as coletas em campo, sem vocês não seria possível. Obrigado de coração.

Ao Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática- LABPEA e ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos- LABOAq da Universidade Estadual do Maranhão por estarem sempre de portas abertas.

À Universidade Estadual do Maranhão e ao Programa de Pós- Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, pela formação acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão- FAPEMA, pelo suporte financeiro para execução do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES pelas bolsas concedidas.



## RESUMO

Nas áreas portuárias existem diversos agentes contaminantes que têm gerado sérios problemas a fauna aquática. Pesquisas indicam que quando ecossistemas aquáticos estão poluídos com contaminantes orgânicos e inorgânicos, os peixes serão inevitavelmente contaminados. No presente estudo, objetivou-se avaliar o impacto ambiental de duas áreas do complexo estuarino de São Marcos utilizando as alterações branquiais e renais em *Sciades herzbergii* como biomarcador de contaminação aquática. Foram realizadas coletas no período de estiagem (Setembro/Dezembro de 2015) e no período chuvoso (Março/Junho de 2016). Foram capturados 40 exemplares de *S. herzbergii* em dois locais distintos do complexo estuarino de São Marcos: A1) Porto do Itaquí Bacanga (área pontencialmente impactada); A2) Igarapé do Puca, Alcântara (área controle). As estações foram georreferenciadas por GPS (*Global Position System*) e em cada região registraram-se as seguintes variáveis abióticas: salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido. Os peixes foram levados ao laboratório para a análise dos dados biométricos. No laboratório as brânquias e os rins de cada espécime foi fixado em formol a 10% e mantido em álcool a 70% até a execução da técnica histológica usual. Cortes de aproximadamente 5µm de espessura foram corados em hematoxilina e eosina (HE). Os dados biométricos indicaram que no período de estiagem (Setembro/Dezembro) os peixes da região portuária foram maiores que os peixes da área de referência; todavia no período chuvoso (Março/Junho) os peixes da área controle foram superiores a área impactada. A análise macroscópica das gônadas demonstrou o predomínio de peixes imaturos para ambas as regiões. As alterações branquiais identificadas nos peixes da área potencialmente contaminada foram: deslocamento do epitélio (DE), congestão (CO), aneurisma (AN), fusão lamelar (FL), hiperplasia (HI), dilatação capilar (DC), necrose (NE) e proliferação de células epiteliais (PCE). As alterações na região controle foram: deslocamento do epitélio (DE), fusão lamelar (FL), necrose (NE) e proliferação de células epiteliais (PCE). As alterações branquiais foram mais frequentes na região portuária (84%) do que na região controle (16%). Os rins de *S. herzbergii* apresentaram alterações do tipo: centro de melanomacrófagos, dilatação dos glomérulos, espaçamento do endotélio capilar, oclusão da luz tubular, néfron imaturo, vasos dilatados. A região portuária apresentou uma maior frequência de alterações. Esses resultados indicam que os peixes da área potencialmente contaminada estão apresentando respostas biológicas ao estresse local.

**Palavras- chave:** Alcântara, biomarcador histológico, complexo estuarino, guribu, porto do Itaquí.

## ABSTRACT

In the port areas that contain several contaminating agents that are generated by aquatic fauna problems. Research indicates that when aquatic ecosystems are contaminated with organic and inorganic contaminants, fish are inevitably contaminated. The objective of this study was to evaluate the environmental impact of two areas of the São Marcos estuary complex using the gill and renal changes in *Sciades herzbergii* as a biomarker of aquatic contamination. Collection during the dry season (September/ December 2015) and during the rainy season (March/ June 2016). Four specimens of *S. herzbergii* were captured at two distinct sites of the São Marcos estuary complex: (1) Port of Itaquí Bacanga (area structurally impacted); A2) Igarapé do Puca, Alcântara (control area). The stations were georeferenced by GPS (Global Position System) and in each region the following abiotic variables were recorded: salinity, temperature, pH and dissolved oxygen. The fish were taken to the laboratory for biometric data analysis. In the laboratory the gills and kidneys of each specimen were fixed in 10% formaldehyde and maintained in 70% alcohol until the usual histological technique was performed. Cuts of approximately 5 µm thickness were stained with hematoxylin and eosin (HE). Biometric data indicated that during the dry season (September/ December) the fish in the port area were larger than the fish in the reference area; However in the rainy season (March/ June) the fish from the control area were superior to the impacted area. The macroscopic analysis of the gonads demonstrated the predominance of immature fishes for both regions. The gill changes identified in the fish of the potentially contaminated area were: epithelial displacement (DE), congestion (CO), aneurysm (AN), lamellar fusion (FL), hyperplasia (HI), capillary dilation (DC), necrosis (NE) and epithelial cell proliferation (PCE). The changes in the control region were: epithelial displacement (DE), lamellar fusion (FL), necrosis (NE) and epithelial cell proliferation (PCE). Gill alterations were more frequent in the port region (84%) than in the control region (16%). The kidneys of *S. herzbergii* presented changes of type: melanomacrophagous center, glomerular dilatation, capillary endothelium spacing, tubular light occlusion, immature nephron, dilated vessels. The port region showed a greater frequency of

changes. These results indicate that fish from the potentially contaminated area are presenting biological responses to local stress.

**Keywords:** Alcantara, histological biomarker, estuarine complex, guribu, itaqui port,

## LISTA DE FIGURAS

### Fundamentação Teórica

- Figura 1. Exemplar de *Sciades herbergii*, capturado na baía de São Marcos – MA..... 25
- Figura 2. Região de coleta dos espécimes *S. herbergii* na Baía de São Marcos. (1) Região Portuária de São Luís. (2) Igarapé do Puca - Alcântara..... 27

### Resultados

#### Capítulo I

- Figura 1. Região de coleta dos espécimes *S. herbergii* no complexo estuarino de São Marcos. (1) Área impactada (região portuária). (2) Área controle (Igarapé do Puca)..... 32
- Figura 2. Morfologia do tecido branquial de *S. herbergii*. A- tecido normal (seta); B- fusão das lamelas (seta); C- congestão (seta); D- deslocamento do epitélio (seta), HE..... 36
- Figura 3. Frequência das alterações histológicas em brânquias de *S. herbergii* de duas áreas do Complexo Estuarino de São Marcos..... 36
- Figura 4. Índice de alterações histológicas em brânquias de *S. herbergii* de duas áreas do Complexo estuarino de São Marcos (Poleksic e Mitrovic- Tutundzic, 1994)..... 37

#### CAPÍTULO II

- Figura 1. Região de coleta dos espécimes *S. herbergii* no complexo estuarino de São Marcos. (1) Área impactada (região portuária). (2) Área controle (Igarapé do Puca)..... 46
- Figura 2. Morfologia do tecido renal de *S. herbergii*. A- tecido mostrando túbulos contorcidos distal e proximal normais (círculo); B- espaçamento do endotélio capilar (seta); C- centro de melanomacrófagos (seta); D- Oclusão da luz tubular (seta). HE..... 50
- Figura 3. Frequência de alterações encontradas em rim de *S. herbergii* capturados em duas regiões do Complexo Estuarino de São Marcos..... 51

## LISTA DE TABELAS

### Fundamentação Teórica

- Tabela 1. Levantamento dos trabalhos publicados entre os anos de 2010 a 2016 utilizando diferentes tipos de Biomarcadores no monitoramento dos corpos hídricos do Maranhão..... 22

### Resultados

#### Capítulo I

- Tabela 1. Dados abióticos coletados no período de estiagem e chuvoso nos dois pontos de coleta da espécie *Sciades herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís- MA..... 34
- Tabela 2. Dados morfométricos (média  $\pm$  desvio padrão) de espécimes de *Sciades herzbergii* coletados em dois pontos do Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís – MA no período de estiagem e no período chuvoso..... 34
- Tabela 3. Estágios de maturação gonadal de *S. herzbergii* masculinos e femininos coletadas no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão.(VAZZOLER, 1996)..... 35

#### Capítulo II

- Tabela 1. Dados morfométricos (média  $\pm$  desvio padrão) de espécimes de *Sciades herzbergii* coletados em dois pontos do Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís – MA..... 47
- Tabela 2. Dados abióticos coletados nos dois pontos de coleta da espécie *Sciades herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís-MA..... 48

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos.....	16
<b>3.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>17</b>
3.1	A utilização de peixes como biondicadores de contaminação aquática.....	17
3.2	Biomarcadores paramonitoramento de ambientes aquáticos.....	18
3.3	Biomarcadores histológicos.....	19
3.4	Alterações branquiais como biomarcadores.....	19
3.5	Alterações renais como biomarcadores.....	20
3.6	A aplicação de biomacadores para moniotoramento de corpos hídricos no Maranhão.....	21
3.7	<i>Sciades herzbergii</i> como bioindicador para avaliação de impactos no Complexo Estuarino de São Marcos.....	24
3.8	Complexo Estuarino de São Marcos.....	25
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
4.1	Área de Estudo.....	27
4.2	Coleta dos exemplares de <i>Sciades herzbergii</i> .....	27
4.3	Análise dados abióticos e dados biométricos.....	28
4.4	Análise histológica das brânquias.....	28
4.5	Tratamento estatístico.....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
5.1	<b>CAPÍTULO I- Biomarcadores histológicos em brânquias de <i>Sciades herzbergii</i> (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão.....</b>	<b>29</b>
	<b>Resumo.....</b>	<b>29</b>
	<b>Abstract.....</b>	<b>30</b>
	<b>Introdução.....</b>	<b>31</b>
	<b>Material e Métodos.....</b>	<b>32</b>
	<b>Resultados.....</b>	<b>33</b>
	<b>Discussão.....</b>	<b>37</b>

	<b>Conclusões.....</b>	<b>39</b>
	<b>Agradecimentos.....</b>	<b>39</b>
	<b>Referências.....</b>	<b>40</b>
5.2	<b>CAPÍTULO II- Alterações renais em <i>Sciades herzbergii</i> (Siluriformes, Ariidae) no monitoramento de uma região portuária do Maranhão, Brasil.....</b>	<b>44</b>
	<b>Resumo.....</b>	<b>44</b>
	<b>Introdução.....</b>	<b>45</b>
	<b>Material e métodos.....</b>	<b>46</b>
	<b>Resultados.....</b>	<b>47</b>
	<b>Discussão.....</b>	<b>52</b>
	<b>Conclusão.....</b>	<b>52</b>
	<b>Agradecimentos.....</b>	<b>52</b>
	<b>Referências.....</b>	<b>52</b>
	<b>NORMAS DE REVISTA- CAPÍTULO I.....</b>	<b>56</b>
	<b>NORMAS DE REVISTA- CAPÍTULO II.....</b>	<b>63</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Existem diversos fatores que contribuem para a degradação da qualidade das águas de lagos, rios e reservatórios. Entre tais fatores, destacam-se o desenvolvimento econômico, industrial, agrícola e tecnológico (SIMOES et al., 2007). Problemas da mesma ordem são causados pela ocupação desordenada da zona costeira, o assoreamento de bacias costeiras, destruição de manguezais e com o despejo de lixo e poluentes orgânicos e inorgânicos (ROSA; GADID, 1996).

Nas áreas portuárias existem diversos agentes contaminantes, e que tem gerado sérios problemas a fauna aquática, prejudicando desde o seu comportamento até a sua reprodução. Pesquisas indicam que quando ecossistemas aquáticos estão poluídos com contaminantes orgânicos e inorgânicos, os peixes serão inevitavelmente contaminados (STREIT, 1998).

Os peixes são usados na alimentação humana e, devido seu potencial de acumular poluentes presentes na coluna d'água, bem como, através da biomagnificação pela cadeia trófica, representam uma importante via de contaminação para populações humanas (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2006). Portanto é extremamente importante que se faça o monitoramento das espécies de importância comercial. Vários grupos de peixes, além da importância comercial, apresentam relevância do ponto de vista ecológico, visto que, podem ser utilizados como bioindicadores dos ambientes aquáticos (CARVALHO-NETA; ABREU SILVA, 2010).

O uso dos biomarcadores em peixes vem sendo eficaz na avaliação dos possíveis efeitos causados pelos contaminantes aos peixes, que são caracterizados como as respostas biológicas, provocados pelos poluentes presentes no ambiente aquático, além de identificar sinais de danos iniciais nos peixes (MARTINEZ; CÓLUS, 2002). Os biomarcadores são caracterizados como respostas biológicas dos organismos quando expostos a poluentes e/ou estressores físicos, revelando danos iniciais na sua fisiologia (HINTON et al., 1992). Essas respostas biológicas tem se revelado uma excelente metodologia de monitoramento da saúde dos organismos aquáticos e têm sido utilizadas em vários programas de monitoramento ambiental (WALKER et al., 1996).

A utilização de biomarcadores histológicos poderá contribuir com os órgãos de gestão ambiental fornecendo os melhores resultados em termos de biomonitoramento da qualidade de águas que estejam sofrendo com impactos antrópicos. Isso porque a utilização de biomarcadores pertencentes a dois ou mais níveis de organização biológica



(molecular, celular, tecidual) possibilita a obtenção de diferentes tipos de respostas que podem ser comparadas e confrontadas, proporcionando um diagnóstico mais preciso e confiável da situação da área estudada (VALDEZ DOMINGOS, 2006). Segundo Jesus e Carvalho (2008) os biomarcadores podem ser analisados em diferentes tipos de organismos e aplicados em programas de monitoramento ambiental, por possuírem as seguintes características: 1) permitem a identificação das interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos; 2) e possibilitam a mensuração de efeitos sub-letais. Essa última ação é norteadora na interpretação de resultados para a avaliação de riscos em ecossistemas aquáticos.

A utilização das brânquias e rins dos peixes em estudos de contaminação aquática são considerados biomarcadores de exposição a estressores ambientais, pois indicam as respostas resultantes da exposição a um ou mais agentes tóxicos (HINTON et al., 1992). Frente às necessidades apresentadas, pretendemos comparar através dos biomarcadores histológicos em brânquias e rim de *Sciades herzbergii* (BLOCH, 1794) a qualidade ambiental de dois pontos distintos do complexo estuarino de São Marcos, Maranhão.

O presente trabalho apresenta a seguinte estrutura: objetivos, fundamentação teórica que tratará sobre a utilização de peixes como bioindicador, biomarcadores como ferramenta de monitoramento, a atual situação de pesquisas com biomarcadores no Maranhão, área de estudo e metodologia. Os resultados serão apresentados e discutidos na forma de dois artigos que tratarão sobre a avaliação dos impactos ambientais de duas áreas do complexo estuarino de São Marcos, utilizando biomarcadores histológicos em brânquias de *S. herzbergii*.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Diagnosticar o impacto ambiental de duas áreas do Complexo Estuarino de São Marcos- MA utilizando biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii*.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Identificar o grau de sanidade dos peixes *S. herzbergii* utilizando biomarcadores histológicos;

- Quantificar lesões branquias em *S. herzbergii* capturados no complexo estuarino de São Marcos, Maranhão.
- Quantificar lesões renais em *S. herzbergii* capturados no complexo estuarino de São Marcos, Maranhão.

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1A utilização de peixes como biondicadores de contaminação aquática**

Plantas aquáticas, crustáceos, algas, peixes, moluscos, mamíferos, aves, entre outros, são organismos que podem ser considerados bioindicadores de ambientes aquáticos (LINS, 2010). Uma espécie considerada bioindicadora deve sobreviver em um ambiente saudável, mas deve apresentar certa resistência aos contaminantes que estão expostos no ambiente (VAN DER OOST et al., 2003). A abundância da espécie no ambiente e a facilidade de adaptação aos ensaios laboratoriais são outros aspectos considerados para um bioindicador, pois estes aspectos facilitam a aplicabilidade de metodologias em diferentes contextos (AKAISHI, 2004).

Organismos que ocupam o topo da cadeia alimentar são normalmente utilizados como bioindicadores, pois possuem uma intrínseca relação com toda a cadeia inferior, demonstrando respostas de efeitos crônicos, persistentes e acumulativos no nível de cadeia, além de efeitos diretos no organismo do indivíduo (LINS, 2010).

Diferentes bioensaios vêm sendo usados em peixes, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, para estudos toxicológicos, bioquímicos e de desenvolvimento. Os peixes respondem de forma parecida aos grandes mamíferos em bioensaios (VANDER OOST et al., 2003). Os benefícios da utilização de peixes como organismos bioindicadores incluem a facilidade com que essas espécies podem ser mantidas em laboratório e expostas a substâncias químicas para experimentos (SILVA et al., 2003).

Os peixes são organismos que acumulam diversos poluentes que estão contaminando a água, além do acúmulo pela ingestão de outros organismos já contaminados (VAN DER OOST et al., 2003). A presença de poluentes genotóxicos ameaça não apenas o organismo que está diretamente ligado a ele, mas todo o ecossistema aquático e o ser humano, que se alimenta diariamente de peixes (GROFF, 2008). O efeito desses poluentes pode ser detectado a partir de respostas biológicas em

cada organismo. Essas respostas biológicas (biomarcadores) são importantes ferramentas para o monitoramento e gestão ambiental.

### **3.2 Biomarcadores para o biomonitoramento de ambientes aquáticos**

Os biomarcadores são representados através de medidas de efeito, os quais podem estar diretamente relacionados à presença de agentes genotóxicos, sendo empregados como uma forma de interpretação dos diferentes níveis ambientais de poluentes em um organismo (HOPKIN et al., 2005).

Um biomarcador é caracterizado como alterações biológicas em níveis moleculares, celulares ou fisiológicas que se apresentam em resposta a mudanças do ambiente; essas respostas podem estar ligadas à exposição ou a efeitos tóxicos de químicos ambientais, ou seja, os biomarcadores são respostas biológicas de um organismo a um determinado poluente ambiental; tais respostas podem atingir parte ou como todo, contribuindo no desequilíbrio da fisiologia do animal (PEAKALL, 1994). Nesse sentido, a utilização do termo biomarcador está ligada aos parâmetros bioquímicos, fisiológicos ou histológicos, tanto de efeito, quanto de exposição de xenobióticos, que atuam no organismo ou em partes dele (BERNET et al., 1999).

O uso de biomarcadores no monitoramento de ambientes aquáticos é justificado por expressar informações sobre efeitos biológicos de poluentes em vez de uma mera análise ou quantificação do estado em que o ambiente se apresenta (VAN DER OOST et al., 2003).

De acordo com Poleksic; Mitrovic-Tutundzic (1993) as mudanças na estrutura e na fisiologia de organismos aquáticos, ocorrem principalmente em ambientes degradados também naqueles que apresentam poluentes em níveis crônicos e subletais. Nesses casos, é possível utilizar a análise morfológica dos órgãos dos animais expostos aos contaminantes como uma das técnicas para a avaliação do efeito de poluentes.

Os biomarcadores morfológicos se apresentam como uma importante ferramenta de avaliação da exposição e dos efeitos de diferentes poluentes, tais como metais pesados, compostos organometálicos e xenobióticos orgânicos, que podem ser aferidos através de diferentes abordagens (ROSS et al., 2002). Podem, então, ser empregados em estudos práticos em campo que tem por objetivo caracterizar ambientes impactados (MONSERRAT et al., 2007). Neste sentido, os biomarcadores podem ser utilizados como uma forma de prevenção, permitindo o monitoramento de ambientes degradados e

a realização de ações de biorremediação antes que ocorram danos ambientais que não possam ser controladas, causando consequências ecológicas severas ao ambiente (CAJAVARILLE et al., 2000).

### **3.3 Biomarcadores histológicos**

As alterações biológicas que mostram a exposição e os efeitos tóxicos dos poluentes presentes no ambiente podem ser usadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes, documentando os efeitos integrados do estresse químico (VAN DER OOST et al., 2003). Os biomarcadores histológicos são considerados excelentes ferramentas de monitoramento da saúde do ecossistema aquático e têm sido utilizados em vários programas de monitoramento ambiental (WALKER et al., 1996).

Os contaminantes apresentam seus efeitos em vários níveis de organização no organismo do peixe, tais como: alterações na estrutura dos tecidos e órgãos, desorganização na fisiologia e mudanças que podem danificar o crescimento e a reprodução (ADAMS, 1990).

A presença de um composto xenobiótico por si só, não indica efeitos nocivos; portanto, é necessário estudos de conexão entre a presença do poluente e seus efeitos deletérios sobre o ecossistema (PAMPANIN, 2006).

Os biomarcadores histológicos são valiosos indicadores de saúde geral de peixes, pois revelam os efeitos de exposição a uma abundância de poluentes causadas pelo homem (VAN DER OOST et al., 2003). Essas alterações histológicas encontradas nos tecidos dos peixes se apresentam como ferramentas sensíveis para detectar os efeitos tóxicos diretos de compostos químicos em órgãos-alvo e, ou seja, são indicadores fortes da exposição prévia do organismo aos estressores ambientais (HINTON et al., 1992; SCHWAIGER et al., 1997).

A exposição de peixes a agentes químicos presente no ambiente pode levar este organismo a adquirir lesões em diferentes órgãos, sendo as brânquias, o fígado e os rins os mais utilizados para este estudo (BERNET et al., 1999).

### **3.4 Alterações brânquias como biomarcadores**

A brânquia é a principal superfície corporal envolvida nas trocas gasosas, tendo a sua presença um efeito marcado na anatomia e no funcionamento do resto do corpo

dos peixes (HUGHES, 1984). Desempenha, também, um papel crucial na regulação ácido-base, na osmoregulação e na excreção de substâncias azotadas (GOSS et al., 1998).

A organização geral da brânquia dos teleósteos baseia-se num sistema de subdivisões sucessivas: arcos, filamentos e lamelas branquiais. O arco branquial situa-se entre as cavidades bocal e opercular, possui uma estrutura cartilaginosa e constitui a base de suporte dos numerosos filamentos, que se projectam para o interior da cavidade opercular (BONE e MARSHALL, 1982). Na sua margem interior, apresenta projecções filamentosas denominadas rastilhos branquiais que impedem a passagem de partículas sólidas através dos filamentos e lamelas (WHITE, 1977).

O espaço existente entre os arcos da brânquia, designado fenda branquial, representa a única via de comunicação entre as cavidades bocal e opercular. Através desta fenda estabelece-se um fluxo contínuo de água, como consequência de um sistema de bombeamento eficiente onde intervêm ambas as cavidades (HUGHES, 1984; PISAM et al., 1991). Os filamentos branquiais, de natureza dupla, apresentam inúmeras alinhamentos secundárias nas superfícies dorsal e ventral, as lamelas, dispostas perpendicularmente aos mesmos (LAURENT, 1991). Estas estruturas são as responsáveis pelos processos respiratórios de modo que, o número e o tamanho relativo das lamelas determinam a área respiratória das brânquias (LAURENT e DUNEL, 1980).

As consequências diretas da ação de poluentes nestes órgãos-alvos podem desencadear processos degenerativos e necróticos, transtornos de crescimento celular, como hiperplasia e hipertrofia celular além de distúrbios circulatórios (HIBIYA, 1982). Dessa maneira, as alterações histológicas encontradas nas brânquias se tornam de fácil reconhecimento e de grande importância para determinar o nível de exposição dos peixes aos poluentes, bem como os danos que estes têm causado aos mesmos (ARELLANO et al., 1999).

### **3.5 Alterações renais como biomarcadores**

A estrutura morfológica do rim dos teleósteos é em geral, caracterizada por apresentar néfrons com corpúsculo renal (glomérulo e cápsula de Bowman) e túbulos renais. O túbulo renal é dividido em duas porções uma proximal e outra distal. Cada estrutura do rim dos teleósteos realiza uma função específica na produção de urina,

regulação osmótica e hormonal do animal (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995; JOBLING, 1995).

A função dos rins dos teleósteos na osmoregulação, síntese de cortisol e eliminação de resíduos pode ser afetada por dano celular induzido por agentes tóxicos. Uma diminuição na eficiência de qualquer um desses processos renais pode sucessivamente, ter um significativo efeito no crescimento, reprodução e sobrevivência dos indivíduos expostos. Portanto, o rim de peixes pode ser um importante órgão-alvo de ação tóxica para alguns xenobióticos, sendo que a maioria das descrições de nefrotoxicidade em peixes tem focado alterações histológicas e enzimáticas (LARSEN; PERKINS Jr., 2001).

É sabido que o tecido renal passa por alta variação estrutural quando exposto a situações específicas, na tentativa de reorganização e alterações morfológicas renais podem induzir mudanças no sistema de defesa, prejudicando a homeostase e saúde do animal (VEIGA et al., 2002). O rim, assim como o fígado, é também um dos órgãos que tendem a acumular as substâncias tóxicas em concentrações superiores aos da corrente sanguínea, em função do alto grau de vascularização e importância fisiológica e toxicocinética (PEDROZO et al., 2002).

### **3.6 A aplicação de biomarcadores para monitoramento de corpos hídricos no Maranhão**

O estado Maranhão possui uma rica diversidade de ecossistemas, dentre eles, destacam-se os estuários, rios, igarapés e bacias. Esses ambientes estão diariamente expostos à xenobiontes devido o crescente processo de contaminação oriundo de atividades industriais, agrícolas e urbanas (FREIRA et al., 2008). A mensuração apenas destes contaminantes no ambiente não traz respostas sobre os efeitos adversos que estas substâncias vêm causando nos organismos vivos presentes nestes ambientes.

Estudos direcionados ao monitoramento de ambientes aquáticos no estado do Maranhão utilizando diferentes tipos de biomarcadores são recentes. Estes estudos são importantes por revelarem informações científicas relacionadas a riscos ou perturbações ambientais que podem ser utilizadas por gestores e sociedade em geral, visando manter e conservar os ecossistemas aquáticos no Estado. A tabela 1 mostra uma breve revisão sobre os trabalhos publicados nesta linha de pesquisa no Maranhão.

Tabela 1- Levantamento dos trabalhos publicados entre os anos de 2010 a 2016 utilizando diferentes tipos de Biomarcadores no monitoramento dos corpos hídricos do Maranhão

Espécie	Tipo de biomarcador	Área de Estudo		Autor/Ano
		Referencia	Potencialmente Contaminada	
<i>Sciades herzbergii</i>	Histológico	Praia do Coqueiro	Porto ALUMA/ALCOA	Carvalho-Neta & Abreu-Silva (2010)
<i>Sciades herzbergii</i>	Suscetibilidade Glutaciona-S-transferase	Ilha dos caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Carvalho Neta et al. (2012)
<i>Oreochomis niloticus</i> e híbrido Tambacu	Histológico	-	Pisciculturas do município de Itapecuru- Mirim	Santos et al. (2012)
<i>Sciades herzbergii</i>	Histológico	Ilha dos Caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Pinheiro Sousa et al. (2013)
<i>Sciades herzbergii</i>	Suscetibilidade Glutaciona-S-transferase	Ilha dos Caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Carvalho Neta et al. (2013)
<i>Bagre bagre</i> e <i>Sciades herzbergii</i>	Histológicos	Ilha dos Caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Pinheiro Sousa et al. (2013)
<i>Centropomus undecimalis</i>	Histológico	-	Laguna da Jansen	Catanhede et al. (2014)
<i>Hoplias malabaricus</i>	Histológico	Lagoa Serena	Rio Ambude	Castro et al. (2014)
<i>Sciades herzbergii</i>	Histológico x suscetibilidade	Ilha dos Caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Carvalho-Neta et al. (2014)

<i>Oreochomis niloticus</i>	Histológico	-	Laguna da Jansen	Pereira et al. (2014)
<i>Bagre bagre e Sciades herzbergii</i>	Histológicos	Ilha dos Caranguejos	Porto ALUMAR/ALCOA	Carvalho-Neta et al. (2014)
<i>Colossoma macropomum</i>	Genotóxicos e hematológicos	Lagoa Serena	Rio Ambude	Carvalho-Neta et al. (2015)
<i>Oreochomis niloticus</i>	Histológicos	Lagora Serena	Rio Ambude	Oliveira et al. (2016)
<i>Crassostrea sp.</i>	Suscetibilidade Glutathiona-S-transferase	-	Ilha de São Luís	Ribeiro et al. (2016)

Os principais tipos de biomarcadores utilizados em pesquisas publicadas no estado do Maranhão foram os histológicos, genotóxicos e de suscetibilidade. Os biomarcadores histológicos (celulares e teciduais) são os mais utilizados atualmente em estudos de contaminação aquática, sendo as alterações nas brânquias, fígado e rins de peixes os órgãos-chaves nestes estudos. Esses estudos abordam biomarcadores de exposição a estressores ambientais, pois sinalizam os efeitos e/ou respostas resultantes da exposição a um ou mais agentes tóxicos (BERNET et al., 1999). Essas categorias de biomarcadores nos permitem examinar órgãos-alvo e células específicas em animais expostos a contaminantes tanto em condições de laboratório como no campo, sendo de relativo baixo custo, visto que não exigem reagentes caros nem equipamentos sofisticados para a sua realização (HINTON et al., 1992).

O uso de biomarcadores genotóxicos é importante na avaliação de contaminação aquática, pois nos mostram alterações no material genético de células eucarióticas quando expostas a substâncias químicas dissolvidas na água, resultando na formação de micronúcleos, os quais podem ser utilizados como biomarcadores para avaliar o grau de contaminação no meio ambiente (SILVA et al., 2008). Os micronúcleos são caracterizados por apresentarem fragmentos cromossômicos resultantes de quebras que não são incorporados no núcleo principal das células filhas após a mitose em decorrência de danos introduzidos nas células parentais (GALVAN, 2011).



Além de trabalhos publicados em periódicos nacionais e internacionais utilizando peixes, outros organismos estão sendo iniciados em estudos com biomarcadores no estado do Maranhão em dissertações de mestrado, como exemplo, os crustáceos, representado pelo caranguejo *Ucides cordatus*, avalia a qualidade ambiental de duas áreas da Baía de São Marcos, utilizando biomarcadores bioquímicos.

### **3.7 *Sciades herzbergii* como bioindicador para avaliação de impactos no Complexo Estuarino de São Marcos**

Os bagres são peixes pertencentes à família Ariidae. *Sciades herzbergii* é conhecido popularmente como bagre guribu. É um peixe tropical encontrado facilmente na América do Sul, deste o nordeste até o extremo do Brasil, sendo que sua grande maioria encontra-se em estuários ou em áreas marinhas e algumas espécies estão presentes em áreas de rios (ARAUJO, 1988; MARCEIUK, 2005). Caracteriza-se como um peixe carnívoro, com forte especialização alimentar em crustáceos decápodes, com adaptação no ambiente estuarino em função dos recursos alimentares disponíveis (RIBEIRO et al, 2012), apresentando grande relevância na comercialização e na pesca artesanal do estado do Maranhão (CARVALHO- NETA, 2010).

Áreas estuarinas são berços para esses tipos de peixes e desempenham importante função na qualidade e variedade biológica, sendo o local fundamental para manutenção e reprodução durante determinado tempo ou integralidade do ciclo de vida (BLABER, 2000), porém essas áreas sofrem constantemente com efeitos da ação antrópica o que pode refletir na dinâmica natural das espécies desses ecossistemas.

O guribu ocorre nas imediações de todo o litoral maranhense, em águas de profundidade baixa, onde há forte incidência de sedimentação (ACERO, 2002) Segundo Martins-Juras (1989) essa espécie possui um período de desova bastante longo no primeiro semestre e nos meses de outubro e novembro. Durante os meses de fevereiro a julho os machos mantêm os ovos encubados na boca.

O *S. herzbergii* também é indispensável na alimentação daqueles que vivem da pesca, possui um elevado valor nutricional, rico em proteína essencial (BARLETA, 2009).

A Classificação taxonômica de *Sciades herzbergii* (Figura 1), de acordo com FISHBASE (2016) é a seguinte:

**Reino** Animalia

**Filo** Chordata

**Subfilo** Vertebrata

**Classe** Actinopterygii

**Ordem** Siluriformes

**Família** Ariidae

**Subfamília** Ariinae

**Gênero** *Sciades*

**Espécie** *Sciades herzbergii*

(Bloch, 1794)

Figura 1. Exemplar de *Sciades herzbergii*, capturado na baía de São Marcos – MA.



Fonte: SANTANA, 2015.

Quanto à anatomia de *S. herzbergii*, apresenta características peculiares possuindo cabeça achatada formada por uma camada óssea e revestida por uma pele grossa, um par de narinas arredondadas coberta por uma leve membrana, barbilhões presentes na maxila inferior, uma nadadeira adiposa carnuda bem desenvolvida anterior a caudal e a superfície do corpo recoberta por uma camada espessa de muco (ACERO, 2002).

### **3.8 Complexo estuarino de São Marcos**

O complexo estuarino de São Marcos abrange diversos ecossistemas, e nele também estão inseridos grandes empreendimentos portuários. Esta porção litorânea apresenta uma hidrodinâmica fortemente influenciada pelo sistema de marés semi-diurnas; recebe aportes de sedimentos dos rios Itapecuru, Mirim e Pindaré, contribuindo

para a vazão e desenvolvimento de outros ecossistemas (PORTOBRAS, 1998; MACEDO, 1989). A zona costeira sofre grande impacto devido ao adensamento populacional que conseqüentemente gera o aumento de resíduos lançados no litoral. Nesta porção litorânea percebe-se que além do crescimento populacional mal planejado, existe o Distrito Industrial do Município de São Luís, considerada como uma área de grande impacto (SODRÉ, et al, 2010).

O Porto do Itaqui, neste estudo considerada a área potencialmente impactada, está situado na cidade de São Luís-MA. A região potencialmente influenciada pela atividade portuária considera a bacia hidrográfica do Itaqui e do Bacanga, junto às principais ligações fluviais com o Porto do Itaqui, abrangendo os rios Grajaú, Pindaré, Mearim e dos Cachorros, bem como a plataforma continental adjacente ao município de São Luís (EMAP, 2016)

O Porto do Itaqui, juntamente com os terminais privados da Vale e Alumar, integra o segundo maior complexo portuário em movimentação de carga do país. O Itaqui é o principal indutor do desenvolvimento econômico e social do Maranhão, que tem grandes investimentos previstos para os próximos anos em áreas como refino de petróleo, agronegócio, celulose e pellets, cimento, geração de energia, entre outros (EMAP, 2016).

O igarapé do Puca localizado no município de Alcântara, considerada nossa área de referência, por possui características ambientais favoráveis ao desenvolvimento da espécie em estudo. A cidade Alcântara está inserida na Área de Proteção das Reentrâncias Maranhenses, por possuir importantes ecossistemas como manguezais e estuários, ricos em diversidades de peixes, com ocorrência de espécies endêmicas especialmente em relação às famílias de pequeno porte (LOWER-McCONNELL,1999; CASTRO, 1999; IBGE, 1984).

Esta região possui um regime pluviométrico característico de estações chuvosas, compreendendo os meses de janeiro a junho, com precipitação mensal superior a 150 mm, e um período de estiagem que vai de julho a dezembro, sendo os meses de agosto a novembro os mais secos, apresentando precipitação mensal inferior a 20 mm. A temperatura local não apresenta grande variação durante o ano, com amplitude térmica de aproximadamente 1,7 °C e média mensal de 26.1 °C (COUTINHO, 2001).

Estes igarapés apresentam um conjunto de fatores físicos, químicos e biológicos da região, que reflete nas características comportamentais e ecológicas de suas

populações (VANNOTE et al., 1980). O igarapé do Puca tem característica a grande redução do fluxo de água no período de estiagem (REIS, 2011).

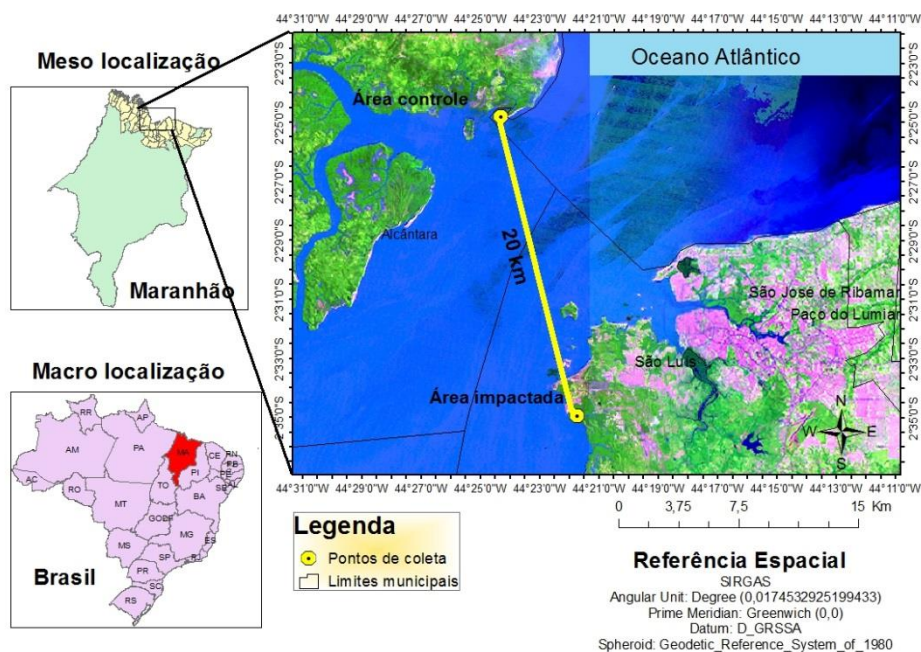
Nessa região, de acordo com Feitosa (1989), o clima está relacionado a elevadas temperaturas no decorrer do ano, podendo apresentar amplitudes térmicas máximas na faixa de 35 °C. Essa uniformidade térmica caracteriza o clima da região, apresentando duas estações bem definidas, sendo uma de estiagem e outra chuvosa.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de Estudo

As áreas de coletas estão inseridas dentro do Complexo Estuarino de São Marcos, sendo A1) Região portuária do Itaqui Bacanga (02°36'025''S; 44°20'829''O); A2) Igarapé do Puca, Alcântara (02°24'951'' S; 44°24'746''O) (Figura 2).

**Figura 2** – Região de coleta dos espécimes *S.herzbergii* na Baía de São Marcos. (1) Região Portuária de São Luís. (2) Igarapé do Puca - Alcântara.



### 4.2 Coleta dos exemplares de *Sciades herzbergii*

A captura dos peixes foi realizada no período de estiagem entre os meses de Setembro a Dezembro de 2015 e no período chuvoso entre os meses de Março a Junho

de 2016 em dois pontos do complexo estuarino de São Marcos. As coletas foram com auxílio dos seguintes apetrechos: redes de arrasto e tarrafas utilizadas por pescadores da região. Os pontos de coleta foram georreferenciadas por GPS (*Global Position System*).

#### **4.3 Análise dados abióticos e dados biométricos**

Durante a captura dos peixes, foram obtidos as seguintes variáveis abióticas: salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido com auxílio do multiparametro (SX751 - SANXIN). Em laboratório, para cada exemplar de *S. herzbergii*, foram registrados os seguintes dados biométricos: comprimento total (Lt), comprimento padrão (LP), peso total (Wt) e o peso das gônadas (Wg) em g. E realizado a avaliação macroscópica dos estágios maturacionais das gônadas de acordo com Vazzoler (1996).

#### **4.4 Análises histológicas das brânquias e rins**

Para as análises histológicas, os rins e o primeiro arco branquial de cada exemplar de *S. herzbergii* foi retirado e fixado em formol a 10%. Posteriormente, as amostras branquiais e renais foram desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Cortes transversais de aproximadamente 5µm de espessura foi corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando as objetivas 10x, 40x e as lesões encontradas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEIS. A classificação das alterações branquiais quanto ao grau de severidade das lesões foi feita de acordo com a escala de Bernet *et al.* (1999) em: I (lesão leve), II (lesão moderada), III (lesão severa).

#### **4.5 Tratamento estatístico**

Para os dados obtidos, se analisou a normalidade através do teste de Kolmogorov- Smirnov ( $p < 0,05$ ). O teste *t* de Student ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para comparar os dados dos valores médios encontrados para alterações branquiais entre os pontos de coleta e entre o período chuvoso e de estiagem para as áreas estudadas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão\*

*[Histological biomarkers in gills of Sciades herzbergii ( Siluriformes, Ariidae ) caught in the Estuarine Complex of São Marcos ,in Maranhão]*

J.S. Castro<sup>1\*</sup>; C. L. França<sup>2</sup>; J. F.F. Fernandes<sup>2</sup>; J.S. Silva<sup>1</sup>; R.N.F. Carvalho-Neta<sup>1</sup>; E. G. Teixeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão

<sup>2</sup> Graduação em Engenharia de Pesca, Bolsistas de Iniciação Científica FAPEMA

### RESUMO

Neste estudo objetivou-se avaliar a qualidade ambiental de duas áreas do complexo estuarino de São Marcos utilizando as alterações branquiais em *Sciades herzbergii* como biomarcadores de contaminação aquática. Foram realizadas coletas no período de estiagem (Setembro/Dezembro de 2015) e no período chuvoso (Março/Junho de 2016). Foram capturados 40 exemplares de *S. herzbergii* em dois locais distintos do complexo estuarino de São Marcos: A1) Porto do Itaqui Bacanga (área pontencialmente impactada); A2) Igarapé do Puca, Alcântara (área controle). As estações foram georreferenciadas por GPS (Global Position System) e em cada região registraram-se as seguintes variáveis abióticas: salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido. Os peixes foram levados ao laboratório para a análise dos dados biométricos. No laboratório as brânquias de cada espécime foram fixadas em formol a 10% e mantidos em álcool a 70% até a execução da técnica histológica usual. Cortes de aproximadamente 5µm de espessura foram corados em hematoxilina e eosina (HE). Os dados biométricos indicaram que no período de estiagem os peixes da região portuária foram maiores que os peixes da área de referência, mas no período chuvoso foram menores. A análise macroscópica das gônadas demonstrou o predomínio de peixes imaturos para ambas as regiões. As alterações branquiais identificadas nos peixes da área potencialmente contaminada foram: deslocamento do epitélio (DE), congestão (CO), aneurisma (AN), fusão lamelar (FL), hiperplasia (HI), dilatação capilar (DC),

Necrose (NE) e proliferação de células epiteliais (PCE). As alterações na região controle foram: deslocamento do epitélio (DE), fusão lamelar (FL), necrose (NE) e proliferação de células epiteliais (PCE). As alterações branquiais foram mais frequentes na região portuária (84%) do que na região controle (16%). Esses resultados indicam que os peixes da área potencialmente contaminada estão apresentando respostas biológicas ao estresse local.

**Palavras-chave:** lesões branquiais, monitoramento ambiental, região portuária, *Sciades herzbergii*.

### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the environmental quality of two areas of the estuarine complex of São Marcos using the gills changes in *Sciades herzbergii* as water contamination biomarker. Samples were collected in the dry season (September/December of 2015) and the rainy season (March/ June 2016). They were captured 40 specimens of *S. herzbergii* in two estuarine complex of distinct sites of São Marcos: A1) Port of Itaquí Bacanga (potencialmente impacted area); A2) Igarapé do Puca, Alcantara (control area). The stations were georeferenced by GPS (Global Position System) and in each region were registered the following abiotic variables: salinity, temperature, pH and dissolved oxygen. The fish were taken to the laboratory for analysis of biometric data. In the laboratory the gills of each specimen was fixed in 10% formalin and kept in 70% alcohol until the execution of the usual histological technique. Cuts of approximately 5µm thick were stained with hematoxylin and eosin (HE). Biometric data indicated that in the dry season the fish port area were higher than fish of the reference area, but in the rainy season were lower. Macroscopic analysis of the gonads showed the predominance of immature fish for both regions. The branchial changes identified in potentially contaminated area of the fish were: displacement of epithelium (DE), congestion (CO), aortic aneurysm (AN), lamellar fusion (FL) hyperplasia (IH), capillary dilatation (AD), necrosis (NS) and epithelial cell proliferation (PCE). The changes in the control region were: displacement of epithelium (DE), lamellar fusion (FL), necrosis (NE), and epithelial cell proliferation (PCE). The gill changes were more frequent in the port area (84%) than in the control region (16%).

These results indicate that the fish from the potentially contaminated area are presenting biological responses to the local stress.

**Keywords:** biomarkers, gill lesions, environmental monitoring, *Sciades herzbergii*.

## INTRODUÇÃO

As áreas portuárias do Brasil são consideradas fontes pontuais de substâncias tóxicas, cujos poluentes podem afetar os ecossistemas marinhos via transporte de sedimento e difusão dessas substâncias nos corpos aquáticos (Sousa *et al.*, 2013). O Porto do Itaqui Bacanga é considerado o segundo maior do Brasil em movimentação de cargas. O mesmo fica dentro do complexo estuário de São Marcos que possui uma área de extensa abrangência, onde se incluem áreas protegidas e portos de alta complexidade.

Os estuários são ecossistemas de elevada importância biológica e sócio-econômica (Filho *et al.*, 2003). Estudos realizados com biomarcadores para avaliação de impactos antrópicos em regiões costeiras do Brasil têm sido crescente nas regiões norte e nordeste do Brasil (Sousa *et al.*, 2013; Carvalho- Neta *et al.*, 2012). Os biomarcadores têm se demonstrado uma ótima ferramenta de avaliação dos possíveis efeitos causados pelos contaminantes aos peixes, que são caracterizados como as respostas biológicas, provocados pelos poluentes presentes no ambiente aquático, além de identificar sinais de danos iniciais nos peixes (Martinez e Cólus, 2002). De acordo com Walker *et al.*, (1996), os biomarcadores histopatológicos tem se revelado uma excelente ferramenta de monitoramento da saúde dos organismos aquáticos e têm sido utilizado em vários programas de monitoramento ambiental.

Nos peixes, um dos órgãos mais afetados são as brânquias, por possuírem uma grande área de exposição, sendo uma porta de entrada para a grande maioria dos poluentes (Fúria, 2005). Este órgão possui estruturas vitais para a saúde dos peixes, pois, além de ser o principal local de trocas gasosas, as brânquias são responsáveis pelos processos de osmorregulação, excreção de compostos nitrogenados, equilíbrio ácido básico, e desempenham a função de órgão sensorial da gustação (Leonardo *et al.*, 2001, Santos *et al.*, 2007).

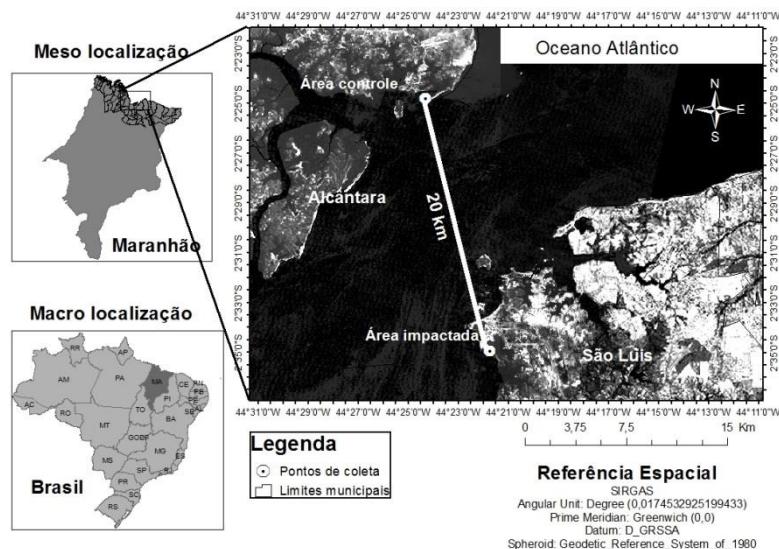
Neste sentido, no presente trabalho objetivou-se avaliar a qualidade ambiental de duas áreas do complexo estuarino de São Marcos utilizando as alterações branquiais em *Sciades herzbergii* como biomarcador de contaminação aquática.



## MATERIAL E MÉTODOS

Foram capturados 40 espécimes de *S. herzbergii* em duas áreas do complexo estuarino de São Marcos (Fig. 1). A região portuária do Itaqui Bacanga foi considerada uma área potencialmente contaminada pelo grande fluxo de embarcações, cargas e desembarques. (A1= 2°34'57.82"S/44°21'34.92"O). O segundo ponto de coleta o Igarapé do Puca, localizado no município de Alcântara, foi considerado uma área de referência por está inserido na Área de Proteção Ambiental das Reentrâncias Maranhenses (A2= 2°24'45.88"S/ 44°24'17.04"O). As amostragens foram realizadas no período de estiagem (Setembro/ Dezembro) de 2015 e no período chuvoso (Março/Junho) de 2016. Os animais coletados foram acondicionados em sacos plásticos e colocados em caixas isotérmicas com gelo para serem transportados ao Laboratório de Biomarcadores de Organismos Aquáticos (LabBOAq) da Universidade Estadual do Maranhão. Paralelamente à captura dos peixes aferiram-se os dados de salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido.

Figura 1. Região de coleta dos espécimes *S. herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos. (1) Área impactada (região portuária). (2) Área controle (Igarapé do Puca)



Em laboratório foram registrados os seguintes dados biométricos de cada exemplar de *S. herzbergii*: comprimento total (Lt), comprimento padrão (Lp), comprimento furcal (Lf) em cm, peso total (Wt) em g. Depois de pesados e medidos,

retiraram-se as brânquias de cada exemplar, as quais foram fixadas em formol a 10% e mantidos em álcool a 70% até o processamento histológico usual.

O primeiro arco branquial de cada exemplar de *S.herzbergii*, foi desidratado em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Cortes transversais de aproximadamente 5 µm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Foi realizada a avaliação macroscópica dos estágios maturacionais das gônadas de acordo com Vazzoler (1996).

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando os aumentos de 100x, 400x, 10x, 40x e as lesões encontradas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEISS. As alterações histológicas branquiais foram avaliadas de forma semiquantitativa por meio do cálculo do Índice de Alteração Histológica (IAH), adaptado de Poleksic e Mitrovic–Tutundzic (1994), baseado na severidade de cada lesão. As alterações foram classificadas em fases progressivas de danos nos tecidos: alterações de estágio I, que não comprometem o funcionamento do órgão; de estágio II, mais severas e que prejudicam o funcionamento normal do órgão; e de estágio III, muito severas e irreversíveis.

Para cada brânquia, foi calculado um valor do IAH através da fórmula:  $IAH = 1 \times \Sigma I + 10 \times \Sigma II + 100 \times \Sigma III$ , sendo que *I*, *II* e *III* correspondem respectivamente ao número de alterações de estágio *I*, *II* e *III*. O valor médio do IAH foi dividido em cinco categorias: 0-10 = funcionamento normal do tecido; 11-20 = danificação leve para moderada do tecido; 21-50 = modificação moderada para severa do tecido; 51-100 = modificação severa do tecido; maior que 100 = danificação irreparável do tecido.

Os dados das alterações branquiais foram apresentados como média e desvio padrão, e submetidos ao teste t ( $p < 0,05$ ) de Student (*software* Statistica 7), uma vez que, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, os pressupostos de normalidade dos dados foram atendidos.

## RESULTADOS

Em relação as variáveis ambientais, verificou-se que os valores médios de temperatura, salinidade, OD e pH não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as áreas estudadas para o período chuvoso e de estiagem (Tab. 01). No entanto houve uma diferença nos valores desses dados entre os períodos sazonais.

**Tabela 01**– Dados abióticos coletados no período de estiagem e chuvoso nos dois pontos de coleta da espécie *Sciades herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís- MA.

Parâmetros	Estiagem		Chuvoso		Valores Recomendados
	A1	A2	A1	A2	
Salinidade	38,3	33,7	14,3	12,4	≥ 30‰
O <sub>2</sub> Dissolvido (ppm)	10,2	8,6	7,8	8,1	>6 mg/L <sup>b</sup>
pH	8,08	8,02	7,95	7,89	6,5-8,5 <sup>b</sup>
Temperatura (°C)	28,5	29,5	26,0	27,0	28 - 32°C <sup>b</sup>

ppm=partes por milhão; mg: miligramas; L= litros; b= resolução CONAMA nº357/2005 e nº430/2011. A1) região portuária. A2) igarapé do puca

Os espécimes de *S. herzbergii* capturados na Região Portuária apresentaram características morfométricas de peso e comprimento superiores aos capturados no Igarapé do Puca para o período de estiagem ( $p > 0,05$ ). Os exemplares capturados no período chuvoso foram maiores e mais pesados na área de referência como demonstrado na Tab. 2.

**Tabela 02**- Dados morfométricos (média ± desvio padrão) de espécimes de *Sciades herzbergii* coletados em dois pontos do Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís – MA no período de estiagem e no período chuvoso.

Variável	Período de Estiagem		Período Chuvoso	
	A1	A2	A1	A2
LT (cm)	34,00 ± 1,41	18,04 ± 1,76	25,1 ± 4,59	29,6 ± 3,73
LP (cm)	24,45 ± 2,89	15,01 ± 1,63	20,46 ± 3,63	28,25 ± 3,87
LF (cm)	27,00 ± 0,98	15,58 ± 1,70	21,42 ± 4,07	26,72 ± 4,07
WT (g)	157,79 ± 10,50	37,71 ± 13,21	111,64 ± 65,11	150,72 ± 88,81

Onde: (Lt) comprimento total, (LP) comprimento padrão, (LF) comprimento furcal e (WT) peso total. A1) região portuária. A2) igarapé do puca.

A avaliação macroscópica das gônadas revelou que 54% dos exemplares coletados eram machos e 46% fêmeas. A região portuária apresentou a maior

quantidade de fêmeas (67%) em relação o Igarapé do Puca onde o predomínio foi de peixes machos (65%), mas sem diferença significativa ( $p>0,05$ ). As fêmeas apresentaram diferentes estádios de maturação gonadal em ambas as regiões. Houve predomínio de exemplares machos imaturos na região portuária, enquanto que na região controle foram identificados diferentes estádios maturacionais (Tab. 3).

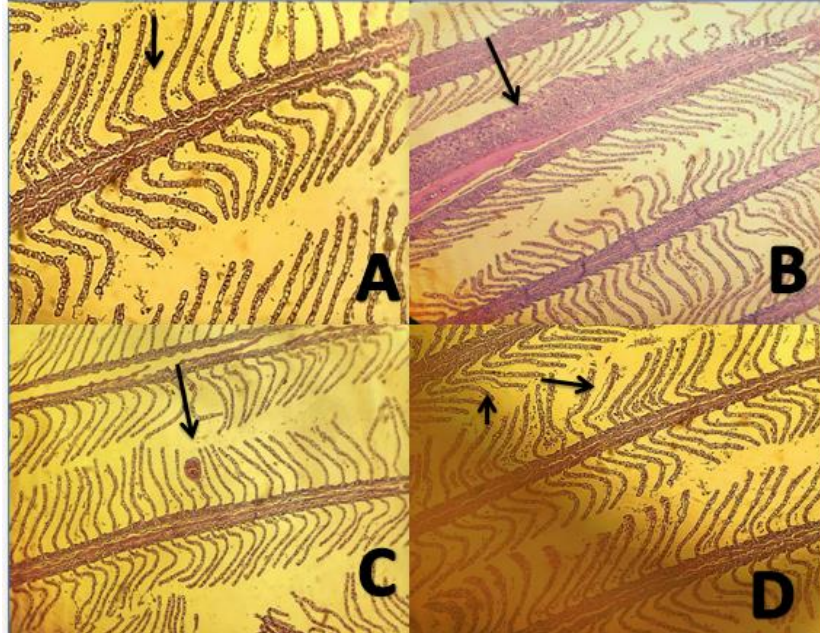
**Tabela 3.** Estágios de maturação gonadal de *S. herzbergii* masculinos e femininos coletadas no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão (VAZZOLER, 1996)

EG	A1 (RegiãoPortuária)		A2 (Igarapé do Puca)	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
EG1	0%	100%	50%	73%
EG2	33%	0%	33%	9%
EG3	50%	0%	17%	18%
EG4	17%	0%	0%	0%

Onde: EG1- imaturo; EG2- maturação; EG3- maduro; EG4- desovado

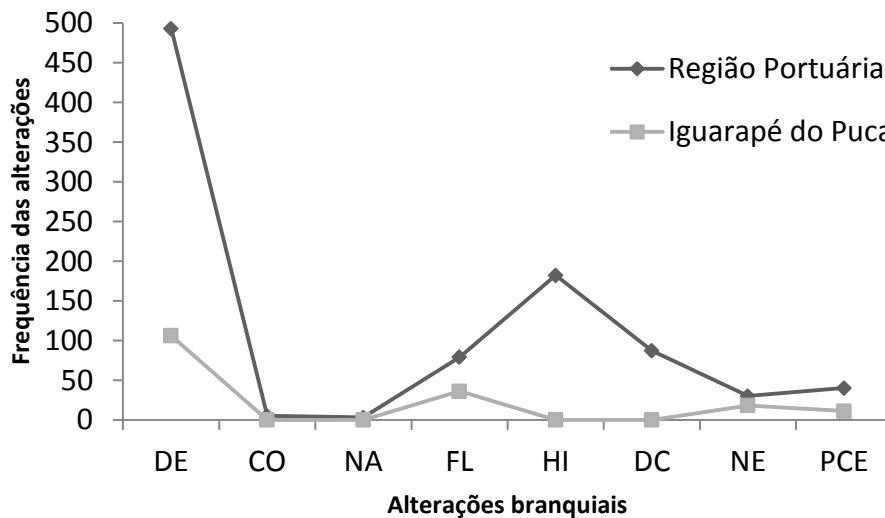
A análise histológica realizada nas brânquias dos exemplares de *S. herzbergii* (Fig. 2) demonstrou que no período de estiagem (67%) os peixes apresentaram maior frequência de lesões do que no período chuvoso (33%). As alterações no período de estiagem na área potencialmente contaminada foram: deslocamento do epitélio (52%), congestão (3%), aneurisma (1%), fusão lamelar (9%), hiperplasia (20%), dilatação capilar (8%), necrose (3%) e proliferação de células epiteliais (4%). As alterações na região controle foram: deslocamento do epitélio (90%), fusão lamelar (7%), congestão (1%) e dilatação capilar (2%). O período chuvoso apresentou um número reduzido de alterações para ambas as áreas. As lesões encontradas no porto com suas respectivas frequências foram: deslocamento do epitélio (89%), fusão lamelar (7%), congestão (1%) e dilatação capilar (3%). Na região controle: deslocamento do epitélio (81%) e fusão lamelar (19%).

**Figura 2.** Morfologia do tecido branquial de *S. herzbergii*. A- tecido normal (seta); B- fusão das lamelas (seta); C- congestão (seta); D- deslocamento do epitélio (seta), HE.

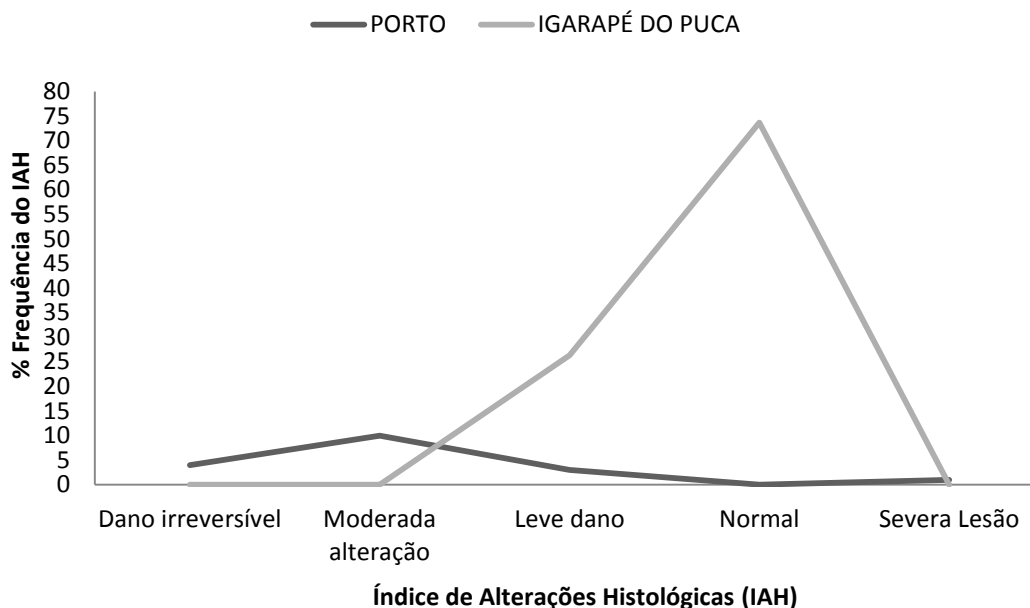


A região portuária apresentou o maior número de alterações (84%) (Fig.3), enquanto o Igarapé do Puca apresentou um número significativamente inferior ( $p < 0,05$ ). A Fig. 4 demonstra o grau de severidade das lesões encontradas nas brânquias de *S. herzbergii* capturados nos dois pontos em estudo no período de estiagem.

**Figura 3.** Frequência das alterações histológicas em brânquias de *S. herzbergii* de duas áreas do Complexo Estuarino de São Marcos.



**Figura 4.** Índice de alterações histológicas em brânquias de *S. herzbergii* de duas áreas do Complexo Estuarino de São Marcos (Poleksic e Mitrovic–Tutundzic, 1994)



## DISCUSSÃO

A grande frequência de alterações encontradas nas brânquias de *Sciades herzbergii* na região portuária de São Luís indica que os peixes estão sofrendo com a contaminação deste ambiente. De acordo com Melo (2012), lesões como levantamento do epitélio, fusão lamelar e hiperplasia surgem como tentativas de defesa das brânquias quando expostas aos poluentes, estas dificultam o processo das trocas gasosas, comprometendo a respiração e a sobrevivência dos peixes. A contaminação do ambiente por resíduos orgânicos pode acarretar doenças infecciosas nos peixes, pois este ambiente encontra-se mais propício a presença de bactérias com elevado potencial patogênica (Moraes e Moraes, 2009).

Resultados encontrados neste trabalho apresentam alguns dados semelhantes ao de Sousa *et al.* (2013), avaliando as brânquias das espécies *Sciades herzbergii* e *Bagre bagre* em dois locais da Baía de São Marcos (Região Portuária e Ilha dos Caranguejos) quando verificaram a presença das seguintes alterações branquiais: estreitamento lamelar, teleangectasia, fusão das lamelas secundárias e descolamento do epitélio das lamelas secundárias.

As regiões portuárias do Brasil apresentam diversas fontes pontuais de substâncias tóxicas, nos quais podem afetar diretamente os ecossistemas marinhos e os

organismos presentes via transporte de sedimento e difusão dessas substâncias nos corpos aquáticos. Neste sentido, o monitoramento ambiental dessas regiões é de extrema importância (Oliveira e Madureira, 2009).

A avaliação macroscópica das gônadas de *S. herzbergii* revelou que houve uma maior frequência de fêmeas no período de estiagem na região portuária. Este resultado se diferencia de dados encontrados por Carvalho- Neta; Abreu- Silva (2013) onde os machos foram encontrados em maior frequência para área impactada no mesmo período. Esses valores podem estar relacionado a fatores ambientais, uma vez que no período de estiagem os níveis de salinidade, oxigênio dissolvido e temperatura forma mais elevados neste região. Fatores ambientais podem ocasionar mudança de temperatura, oxigenação, disponibilidade de alimento e acabam interferindo diretamente nas fases de reprodução de peixes (Izquierdo *et al.*, 2001; Le François e Blier, 2003; Schrek *et al.*, 2001). A temperatura da água, fotoperíodo, precipitação pluviométrica, pH, qualidade da água e quantidade de alimento disponível no meio podem interferir na maturação gonadal, na gametogênese e vitelogênese dos peixes (Bromage *et al.*, 2001; Bayarri *et al.*, 2004) e de acordo com Kuo *et al.* (1974), a importância relativa de cada parâmetro é alterada nos diferentes teleósteos.

Os dados abióticos encontrados estão de acordo com a Resolução CONAMA para águas salgadas (Conselho..., 2011). A região portuária apresentou valores de salinidade e oxigênio dissolvido superiores para ambas as estações, semelhantes aos encontrados por alguns autores (Carvalho- Neta *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013) para a mesma região. A elevada salinidade nas regiões estudadas pode ser justificada pela baixa precipitação, uma vez que se trata do período de estiagem. Miranda *et al.*, (2012) e Riley e Chester (1989), afirmaram que a salinidade é uma propriedade físico-química que caracteriza a concentração dos sais dissolvidos na água do mar e o índice pluviométrico e a evaporação regulam este fator abiótico.

Em relação ao oxigênio dissolvido na água, foi registrado maior valor médio para a região portuária. Esse fato pode estar relacionado à maior ocorrência de microalgas nessa região. De acordo com Lozano (1978), os principais elementos que estão associados à concentração de oxigênio dissolvido na água, são os seguintes: atividade biológica, processo de mistura em função do movimento das águas, temperatura e salinidade. O mesmo autor afirma que é de grande importância o conhecimento do pH da água do mar, sua relação com a biologia marinha, já que o pH apresenta - se como regulador de outros parâmetros.

Os dados biométricos para peixes do período de estiagem encontrados neste trabalho, não foram significativos ( $p > 0,05$ ), se diferenciando dos resultados encontrados por Sousa *et al.* (2013) para a mesma espécie na região portuária. Os exemplares coletados no período chuvoso foram maiores na área controle, embora os organismos apresentassem valores biométricos inferiores. Este resultados corroboram com Carvalho-Neta e Abreu-Silva (2010) que relataram que *S. herzbergii* eram maiores e mais pesadas durante a estação chuvosa em estudo realizado na Ilha dos Caranguejos. Observou-se ainda nos trabalhos realizados por Ribeiro e Carvalho-Neta (2007) e Ribeiro *et al.* (2012) uma diminuição do maior tamanho e maior peso de captura para esta espécie nos estuários maranhenses.

De acordo com Woo, Sin e Wong (1993), os organismos que habitam regiões contaminadas são submetidos a concentrações elevadas de poluentes, apresentando influência fisiológica nos mesmos, comprometendo as etapas do processo reprodutivo, e induzindo os organismos a reservar suas energias para o processo de detoxificação, (Souza; Almeida; Carvalho-Neta, 2013). O grande fluxo de embarcações na região portuária, provavelmente tem provocado o aumento de substâncias tóxicas e pode estar induzindo as lesões branquiais identificadas nos peixes dessa região.

## CONCLUSÕES

A avaliação histológica nas brânquias de *Sciades herzbergii* sugere uma melhor qualidade ambiental do igarapé do Puca em Alcântara. A elevada frequência de alterações e o grau de severidade nos exemplares da região portuária indicam que estes organismos estão demonstrando respostas biológicas ao estresse local.

No período de estiagem os peixes apresentaram maior frequência de lesões do que o período chuvoso. O igarapé do puca apresentou um elevado grau de normalidade no índice das alterações, demonstrando-se como uma área controle que pode ser utilizada em trabalhos com biomarcadores no Maranhão.

## AGRADECIMENTOS

Os nossos agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), pela auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa; A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES pela bolsa concedida; Ao Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática



(LabPEA) e ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) pelo suporte físico para as análises dos peixes.

## REFERÊNCIAS

BAYARRI, M. J.; RODRÍGUEZ, L.; ZANUY, S.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; KAGAWA, H.; OKUZAWA, K.; CARRILLO, M. Effect of photoperiod manipulation on Formatted: Spanish (Spain-Modern Sort the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 136:72-81, 2004.

BROMAGE N, PORTER M, RANDALL C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special references to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, v.197, p.63-69.2001.

CARVALHO-NETA, R.N.F.; TORRES JR., A.R.; ABREU-SILVA, A.L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). *Appl. Bioch. Biot*, v.166, p.1-12, 2012.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; ABREU-SILVA, A. L. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes) for environmental monitoring: : the case study of São Marcos? Bay, Maranhão, Brazil. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, v. 41 (2), p. 217-225, 2013

CONSELHO Nacional Do Meio Ambiente - CONAMA, RESOLUÇÃO Nº 430, DE 16 DE MAIO DE 2011.

FILHO, J.P.; SPILLERE, L. C.; SCHETTINI, C. A. F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do rio Itajaí- SC. *Atlântica*, v.25, n.1, p. 11- 20, 2003

FÚRIA, R.R. Efeito da fração solúvel em água do mar do petróleo e do diesel sobre a morfologia das brânquias de *Trachinotus* sp (Perciformes: Carangidae) [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.

IZQUIERDO, M.S., FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42, 2001.

KUO CM, NASH CE, SHEHADEH ZH. The effects of temperature and photoperiod on ovarian development in captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture*, 3:25-43, 1974.

LE FRANÇOIS, N.R. E BLIER, P.U. (2003). Reproductive events and associated reduction in the seawater adaptability of brook charr (*Salvelinus fontinalis*): Evaluation of gill metabolic adjustments. *Aquat. Living Resour.* 16, 69-76.

Leonardo JMLO et al. Histologia das brânquias de larva da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. *Acta Sci.*;23(4):863-870, 2001.

LOZANO, C. *Oceaografia, Biologia Marina y Pesca*. Editora Paraninfo. Madri/Espanha, 445p. 1978

MARTINEZ, C.B.R. et al. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Braz. J. Biol.*, São Carlos, v. 64, n. 4, p. 797-807, 2004.

MELO, M. R. S. *Alterações histopatológicas em brânquias e fígado de peixes como biomarcadores de contaminação aquática no Rio Bacanga, São Luís-MA*. 2012. 29p. Relatório Final Iniciação científica. FAPEMA.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M & KJERFVE, B. 2002. *Princípios da Oceanografia Física de Estuários*. Editora da USP, 414p.

MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. Apud TAVARES-DIAS, M. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa, 2009. p. 625-723.

OLIVEIRA, C.R.; MADUREIRA, L.A.S. Distribuição de hopanos e avaliação da contaminação por derivados de petróleo em sedimentos superficiais na costa portuária de Santa Catarina, Brasil. In: 32° REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32, 2009, Fortaleza. *Anais...*Fortaleza: [s.n.] 2009. p.97. (Resumo).

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDŽIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: MÜLLER, R.; LLOYD, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. *Oxford: Fishing News Books*, 1994. cap. 30, p. 339-352.

RIBEIRO, E.B.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos, Maranhão, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.6, p.1761-1765, 2012

RILEY, J. P & CHESTER, R 1989. *Introducción a La Química Marina*. México: A.G.T, 457p.

SANTOS, S. G.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*; v. 59, n. 2, p. 376-381, 2007.

SCHRECK, C.B., CONTRERAS-SANCHEZ, W. E FITZPATRICK, M.S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture* 197, 3-24, 2001.

SOUSA.; ALMEIDA, Z.S.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.369-376, 2013.

VAZZOLER, A. E. de M. *Biologia e reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, 1996. 169 p.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. (eds.) *Principles of Ecotoxicology*. Londres: Taylor & Francis, 1996.

WOO, P. T. K.; SIN, Y. M. & WONG, M. K. The Effects of Short-term Acute Cadmium Exposure on Blue Tilapia, *Oreochromis aureus*. *Environ. Biol. Fishes*, 37: 67, 1993.

## 5.2 Alterações renais em *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) no monitoramento de uma Região Portuária do Maranhão, Brasil

J. S. Castro<sup>a\*</sup>, R. L. Cardoso<sup>a</sup>, D. B. Santos<sup>b</sup>; R. N. F. Carvalho- Neta<sup>b</sup>; I. C. S. A. Funo<sup>c1</sup> C. R. P. Carreiro<sup>d</sup>; E. G. Teixeira<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual do Maranhão, Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, São Luís, MA, Brasil, \*jonatascastro@hotmail.com.br

<sup>b</sup> Universidade Estadual do Maranhão, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, São Luís, MA, Brasil

<sup>c</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Av. dos Curios s/n - Vila Esperança, MA, 65095-460, São Luís, MA, Brasil

<sup>d</sup> Universidade Estadual do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, São Luís, MA, Brasil

### RESUMO

Neste estudo objetivou-se avaliar a qualidade ambiental de um Porto de São Luís utilizando as alterações renais em *Sciades herzbergii* como biomarcadores de contaminação aquática. O rim de cada exemplar de *S.herzbergii* coletados em dois pontos do complexo estuarino de São Marcos: A1) Porto do Itaqui (área impactada); A2) Igarapé do Puca (área controle) foram desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Cortes transversais de aproximadamente 5 µm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina. Foi possível identificar alterações do tipo: centro de melanomacrófagos, dilatação dos glomérulos, espaçamento do endotélio capilar, oclusão da luz tubular, néfron imaturo, vasos dilatados. Os exemplares de *S. herzbergii* capturados na região portuária do Itaqui Bacanga apresentaram maior frequência de alterações renais, indicando que os

---

<sup>1\*</sup>Este artigo será submetido à Revista Marine Pollution Bulletin, cujo Qualis é A2 para área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

organismos presentes nessa região estão sofrendo com os impactos causados por esse empreendimento portuário.

**Palavras- chave:** Biomarcadores, complexo portuário, impacto ambiental, peixes, rim.

## **1 Introdução**

Os portos marítimos são os principais centros de atividades econômicas e de poluição ambiental em áreas urbanas costeiras. Devido ao aumento do comércio global, transporte de mercadorias através dos portos tem vindo a aumentar e provavelmente vai continuar a aumentar no futuro (Bailey; Solomon, 2004). O Porto do Itaquí é considerado o segundo maior complexo portuário em movimentação de carga do Brasil, transportando os principais produtos: fertilizantes, ferro, carvão, cobre, dentre outros (EMAP, 2016).

Os ambientes aquáticos estão continuamente sujeitos a contaminação por agentes tóxicos resultantes das indústrias e das atividades domésticas. O monitoramento desses contaminantes através da análise de água, sedimento e biota não são confiáveis, uma vez que existe uma grande variedade de contaminantes, a sua biodisponibilidade, farmacodinâmica bem como potenciais vias de exposição (Oliveira, 2010).

Todavia, esses contaminantes podem ser acumulados em diferentes tecidos dos peixes, principalmente nas brânquias, rim e fígado, causando mudanças biológicas e fisiológicas nesses organismos (Giari et al. 2007). Os biomarcadores associados aos estudos químicos destes ambientes podem fornecer um diagnóstico mais confiável sobre os diversos efeitos causados aos peixes (Zhou et al., 2008).

O rim dos peixes consiste em duas porções, rim anterior que compreende as células hematopoiéticas, linfóide e tecido endócrino e o rim posterior onde são encontrados os néfrons, cercados por hematopoiéticas e tecido linfóide disperso por todo o órgão (Singh et al., 2001). Em comparação com outros órgãos, o rim é mais propenso a sofrer prejuízos, devido ser a principal rota de excreção para os metabólitos de vários xenobióticos aos quais o peixe tenha sido eventualmente exposto (Hinton et al., 1992).

Com o desenvolvimento rápido e contínuo e aumento do crescimento industrial nessas áreas, a saúde ecológica e ambiental desses sistemas estuarinos enfrentam crescente pressão de contaminantes associados com atividades de desenvolvimento e de

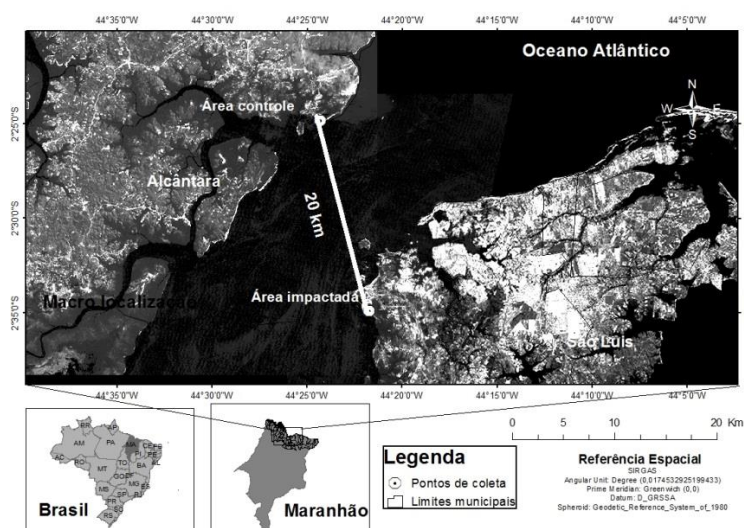
produção industrial, sendo necessário o monitoramento desses ecossistemas (Yuan et al., 2001). Neste sentido, a presente pesquisa visa avaliar a qualidade ambiental de um Porto de São Luís utilizando as alterações renais em *Sciades herzbergii* como biomarcadores de contaminação aquática.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Área de Estudo e coleta de exemplares

O estudo foi desenvolvido em dois pontos do Complexo Estuarino de São Marcos (Fig. 1): A1) Porto do Itaqui Bacanga (A1= 2°34'57.82"S/44°21'34.92"O), considerado a região potencialmente impactada em estudo; A2) Igarapé do Puca, Alcântara (A2= 2°24'45.88"S/ 44°24'17.04"O), região livre de contaminação para comparação dos resultados. As amostragens foram realizadas entre Março e Junho de 2016, sendo coletados 20 espécimes de *S. herzbergii*. Os animais coletados foram acondicionados em sacos plásticos e colocados em caixas isotérmicas com gelo para serem transportados ao Laboratório de Biomarcadores de Organismos Aquáticos (LabBOAq) da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram realizados os dados biométricos (comprimento total (Lt), comprimento padrão (Lp), comprimento furcal (Lf) em cm, peso total (Wt) em g.) Paralelamente à captura dos peixes aferiram-se os dados de salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido.

Figura 1. Região de coleta dos espécimes *S. herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos. (1) Área impactada (região portuária). (2) Área controle (Igarapé do Puca)



## 2.2. Procedimento histológico

O rim de cada exemplar de *S.herzbergii*, foi desidratado em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Cortes transversais de aproximadamente 5 µm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando os aumentos de 100x, 400x, 10x, 40x e as lesões encontradas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEISS. As alterações histológicas nos rins foram classificadas em fases progressivas de danos nos tecidos: alterações de estágio I, que não comprometem o funcionamento do órgão; de estágio II, mais severas e que prejudicam o funcionamento normal do órgão; e de estágio III, muito severas e irreversíveis segundo Poleksic & Mitrovic-Tutundžic (1994).

## 2.3 Tratamento estatístico

Os dados das alterações renais foram apresentados como média e desvio padrão, e submetidos ao teste t ( $p < 0,05$ ) de Student (*software* Statistica 7), uma vez que, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, os pressupostos de normalidade dos dados foram atendidos.

## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Dados morfométricos dos peixes

Os exemplares de *Sciades herzbergii* coletados no Igarapé do Puca (área controle) apresentaram características morfométricas de peso e comprimento superiores aos capturados na Região Portuária (área impactada) (Tabela 1).

**Tabela 1-** Dados morfométricos (média ± desvio padrão) de espécimes de *Sciades herzbergii* coletados em dois pontos do Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís – MA.



Variável	Região Portuária	Igarapé do Puca
	Área Impactada	Área Controle
LT (cm)	25,1± 4,59	29,6 ± 3,73
LP (cm)	20,46±3,63	28,25± 3,87
LF (cm)	21,42±4,07	26,72± 4,07
WT (g)	111,64± 65,11	150,72± 88,81

Onde: (Lt) comprimento total, (LP) comprimento padrão, (LF) comprimento furcal e (WT) peso total

Os exemplares de *S. herzbergii* capturados na área controle apresentaram valores de comprimento total, comprimento padrão, comprimento furcal e peso total superiores aos espécimes da área impactada. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Sousa; Almeida; Carvalho-Neta (2013) em estudos com *Bagre bagre* e *Sciades herzbergii* capturados na Baía de São Marcos, identificando que na área de referência os peixes foram significativamente superiores do que na área impactada.

### 3.2 Dados abióticos

Os parâmetros físico-químicos das áreas amostradas são apresentados na Tabela 2. Os valores das variáveis salinidade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura da água, coletados nas duas áreas mantiveram-se próximos.

**Tabela 2**– Dados abióticos coletados nos dois pontos de coleta da espécie *Sciades herzbergii* no Complexo Estuarino de São Marcos, São Luís- MA.

Parâmetros	Região	Igarapé do Puca	Valores Recomendados
	Portuária	Área Controle	
	Área Impactada		
Salinidade	14,3	12,4	≥ 30‰
O <sub>2</sub> Dissolvido (ppm)	7,8	8,1	>6 mg/L <sup>b</sup>
pH	7,95	7,89	6,5-8,5 <sup>b</sup>
Temperatura (°C)	26,0	27,0	28 - 32°C <sup>b</sup>

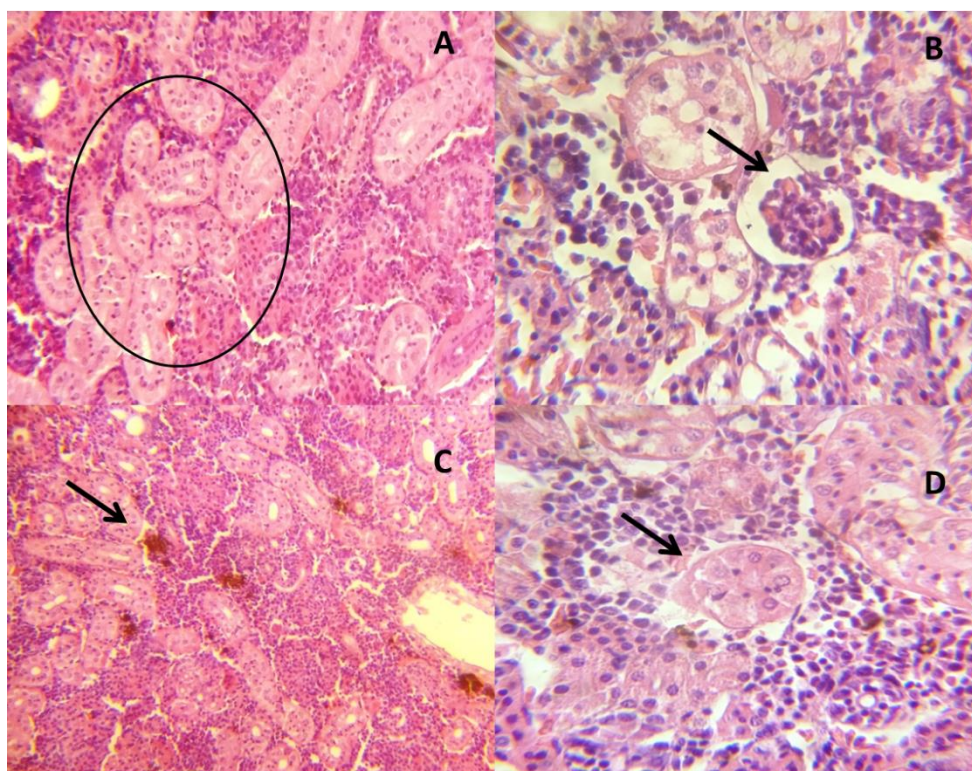
Na presente pesquisa, os dados abióticos da água não apresentaram uma diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre a área impactada e a área controle, com exceção da salinidade, que na região portuária apresentou um valor mais elevado que no Igarapé do Puca. Embora os valores para salinidade e os demais parâmetros estejam de acordo com a resolução CONAMA para águas salgadas (Conselho..., 2011), não se descarta a possibilidade de influência desses fatores sobre as respostas dos organismos. Os fatores ambientais podem afetar vários processos fisiológicos envolvidos na desintoxicação de substâncias perigosas em peixes e, assim, a capacidade de lidar com xenobióticos (Heugens et al., 2001). A análise físico-química tem sido empregada para avaliar a qualidade da água. A temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade são frequentemente utilizados para avaliar a poluição da água, assim como os dados de matéria orgânica e metais na água e no sedimento (MacDonald et al., 2000; Pandey et al., 2003).

Filho *et al.* (2003) em estudo realizado em um porto no Sul do Brasil, encontraram valores de alta salinidade, e discutiram que a influência da descarga fluvial sobre a salinidade é bastante nítida. Em períodos de alta descarga fluvial ocorre o predomínio de água doce no estuário e a salinidade diminui.

### 3.3 Biomarcadores em rim de *Sciades herzbergii*

A análise histológica realizada nos rins dos espécimes de *S. herzbergii* (Fig. 2) demonstrou que os organismos coletados na região portuária (área impactada) apresentaram maior frequência de alterações renais do que na área controle.

As alterações renais encontradas na região portuária foram: centro de melanomacrófagos, dilatação dos glomérulos, espaçamento do endotélio capilar, oclusão da luz tubular, néfron imaturo, vasos dilatados. Na região controle foram encontradas as seguintes alterações: centro de melanomacrófagos, espaçamento do endotélio capilar, oclusão da luz tubular, dilatação dos glomérulos.



**Fig. 2.** Morfologia do tecido renal de *S. herzbergii*. A- tecido mostrando túbulos contorcidos distal e proximal normais (círculo); B- espaçamento do endotélio capilar (seta); C- centro de melanomacrófagos (seta); D- oclusão da luz tubular (seta), HE.

A quantificação das alterações encontradas no rim de *S. herzbergii* nas duas áreas de estudo revelou maior frequência de alterações na região impactada, com destaque para alterações do tipo centro de melanomacrófagos e oclusão da luz tubular (Fig. 3).

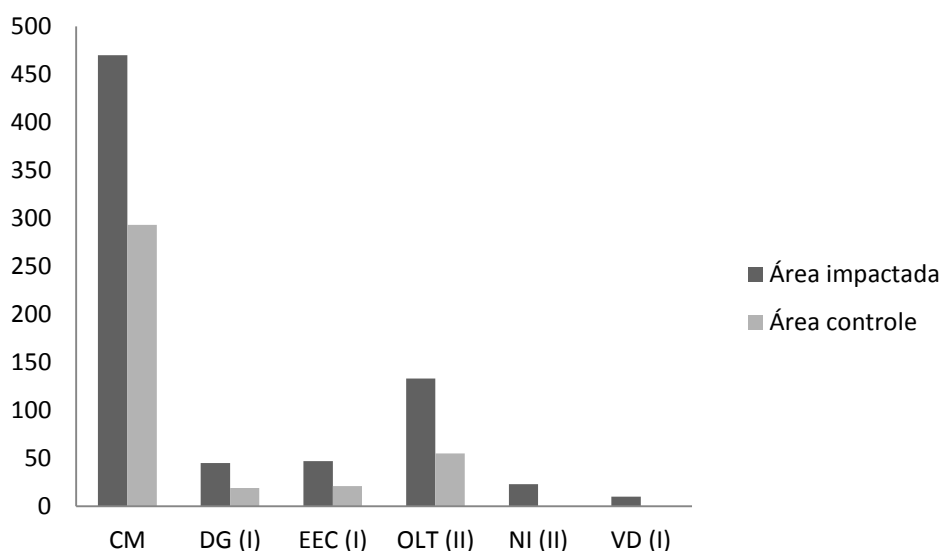
A grande frequência de alterações encontradas no rim de *Sciades herzbergii* na região portuária de São Luís indica que os organismos ali coletados estão sofrendo com a contaminação deste ambiente. O rim de teleósteos é um dos primeiros órgãos a ser afetado por contaminantes da água (Thophon et al. 2003). As lesões renais podem ser indicações de toxinas e assim podem ser utilizados como indicadores para o monitoramento de efeitos de contaminantes (Hinton; Laurén, 1990; Schwaiger et al. 1997).

Em nossos estudos foi identificado uma grande presença de centro de melanomacrófagos na região impactada. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Stentiford et al. (2003) ao avaliar diferentes ambientes estuarinos da Inglaterra, observando maior frequência de centro de melanomacrófagos em *Platichthys flesus*

capturado em ambiente com maior grau de contaminação. A presença de centro de melanomacrófagos é encontrada de forma natural neste órgão, todavia o grande acúmulo está relacionado aos efeitos de materiais poluentes absorvidos por este órgão. Manera et al. (2000) diz que a intensidade e a prevalência de acúmulos de melanomacrófagos no rim de peixes tem sido proposto como um biomarcador útil da degradação ambiental e da poluição aquática.

Alterações do tipo dilatação dos glomérulos, espaçamento do endotélio capilar, oclusão da luz tubular também foram encontrados por Cardoso et al. (2009) em estudos em rim de peixe- espada (*Trichurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu em Niterói no Rio de Janeiro, com destaque também para presença de centro de melanomacrófagos nessa espécie. Foi possível a identificação de alteração do tipo néfron imaturo em *S. herzbergii*, esta alteração pode acontecer de forma natural em ambientes não poluídos, todavia sua presença em excesso neste órgão pode ser indicativo de que o ambiente esteja sofrendo algum tipo de contaminação. Após danos causados por agentes tóxicos em rim de peixes pode haver a produção de néfrons inteiramente novos. Normalmente o rim dos peixes contém aglomerados de células basófilas localizados no interstício, freqüentemente próximos ao ducto coletor. Induzidos por compostos químicos estes aglomerados podem desenvolver-se em novos néfrons (Reimschuessel, 2001; Takashima; Hibiya, 1995).

Fig.3. Frequência das alterações encontradas em rim de *S. herzbergii* capturado em duas regiões do Complexo Estuarino de São Marcos.



Onde: CM-centro de melanomacrófagos; DG- dilatação dos glomérulos; EEC- espaçamento do endotélio capilar; OLT- oclusão da luz tubular; NI- néfron imaturo vasos dilatados; (I) (II)- Classificação das alterações histológicas do rim de acordo com Poleksic & Mitrovic-Tutundžic (1994).

## **5 Conclusão**

A análise histológica realizada nos rim de *S. herzbergii* apresentou uma maior frequência de alterações nos peixes da região portuária. Esse resultado nos permite inferir que os organismos presentes na região portuária estão sofrendo com os impactos gerados a partir das atividades desenvolvidas neste complexo.

## **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), pela auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa; A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES pela bolsa concedida; Ao Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática (LabPEA) e ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) pelo suporte físico para as análises dos peixes.

## **Referências**

Bailey, D.; Solomon, G. 2004. Pollution prevention at ports: clearing the air. environmental impact assessment review, v.24, p. 749- 774.

Cardoso, T. P.; Mársico, E. T.; Medeiros, R. J.; Tortelly, R.; Sobreiro, L. G. 2009. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, *Ciência Rural*, v. 39, n. 2, p. 540-546.

Conselho Nacional Do Meio Ambiente - CONAMA, Resolução nº 430, de 16 de Maio de 2011.

Emap (2016) Empresa maranhense de administração portuária. <http://www.emap.ma.gov.br/emap>. Acesso em 01 de Novembro de 2016

Filho, J. P.; Spillere, L. C.; Schettini, C. A. F. 2003. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do rio itajaí-açu, sc. *Atlântica*, Rio Grande, 25(1): 11-20.

Giari, L.; Manera, M.; Simoni, E.; Dezfuli, B. S. 2007. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. *Chemosphere* 67:1171–1181

Heugens, E. H. W.; Hendriks, A. J.; Dekker, T.; Van Straalen, N. M.; Admiraal, W. (2001) A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 31:247–284

Hinton, D. E.; Laurén, D. J. 1990. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. *American Fisheries Society Symposium*, Bethesda, v. 8, p. 51-66.

Hinton, D. E.; Baumann, P. C.; Gardner, G. R.; Hawkins, W. E.; Hendricks, J. D.; Murchelano, R. A.; Okihiro, M. S. histopathologic biomarkers. in: Huggett, R. J.; Kimerli, R. A.; Mehrle jr, P. M.; Bergman, H. L. 1992. Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 4, p. 155 –196.

Macdonald, D. D.; Ingersoll, C. G.; Berger, T. A. 2000. Development and evaluation of consensus – based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. v. 39, p. 20 – 31.

Manera, M., Serra, R., Isani, G., & Carpena, E. 2000. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. *Journal of Fish Biology*, 57, 457–465.

Oliveira, M.; Ahmad, I.; Maria, V. L.; Pacheco, M.; Santos, M. A. 2010. Monitoring pollution of coastal lagoon using *Liza aurata* kidney oxidative stress and genetic endpoints: an integrated biomarker approach. *Ecotoxicology*, v. 19, p. 643–653,

Pandey, S.; Parvez, S.; Sayeed, I.; Haque, R.; Bin-hafeez, B.; Raisunddin, S. 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). *The Science of the Total Environment*. v. 309, 9. 105 –115.

Poleksic, V.; Mitrovic-tutundžic, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: Müller, R.; Lloyd, R. *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Oxford: Fishing News Books, 1994. cap. 30, p. 339-352.

Reimschuessel, R. A fish model of renal regeneration and development. *Ilar Journal*. v.42, p. 285 – 291, 2001.

Singh, N. P.; Ogburn, C. E.; Wolf, N. S.; Belle, G.; Martin, G. M. 2001. DNA double-strand breaks in mouse kidney cells with age. *Biogerontology* 2:261–270

Sousa, D. B.; Almeida, Z.S.; Carvalho Neta, R.N.F. 2013. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.369-376,

Stentiford, G. D.; Longshaw, M.; Lyons, B. P.; Jones, G.; Green, M.; Feist, S. W. 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Marine Environmental Research*, 55,137–159

Takashima, F.; Hibiya, T. *An atlas of fish histology normal and pathological features*. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag, 1995.

Thophon, S. M.; Kruatrachue, M.; Upatham, E. S.; Pokethitiyook, P.; Sahaphong, S.; Jaritkhuan, S. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution, Barking*, v. 121, p. 307-320.

Yuan, D.; Yang, D.; Wade, T. L.; Qian, Y. 2001. Status of persistent organic pollutants in the sediment from several estuaries in China, *Environmental Pollution*, v. 114, p.101-111.

Zhou, Q.; Zhang, J.; Fu, J.; Shi, J.; Jiang, G. 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal Chim Acta* 606:135–150



# INSTRUÇÕES AOS AUTORES

## NORMAS DA REVISTA

### **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**

*(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)*

#### **Política Editorial**

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

#### **Reprodução de artigos publicados**

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <[www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br)>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços [www.scielo.br/abmvz](http://www.scielo.br/abmvz) ou [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).

#### **Orientação para tramitação de artigos**

-Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação on-line do ABMVZ no endereço [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).

-Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.

-Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.

-A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.

-Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.

-Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.

-É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.

-O ABMVZ comunicará, via eletrônica, a cada autor, a sua participação no artigo. Caso pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

### **Comitê de Ética**

É indispensável anexar cópia do Certificado de aprovação do projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. Esclarecemos que o referido documento deve constar como sendo a primeira página do texto em Word (não incluir no texto em pdf), além da menção, em Material e Métodos, do número do Certificado de aprovação do projeto.

### **Tipos de artigos aceitos para publicação:**

#### **-Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

### **Preparação dos textos para publicação**

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

### **Formatação do texto**

-O texto **NÃO** deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

-Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

### **Seções de um artigo**

-**Título**. Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

-**Autores e Filiação**. Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

### **Nota:**

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.

2. o texto do artigo em pdf **NÃO** deve conter o nome dos autores e filiação.

-**Resumo e Abstract**. Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-

los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

**-Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.

**-Introdução.** Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

**-Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados.

Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

**-Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

**-Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

**-Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

**Nota:**

-Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

-**Discussão.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

-**Conclusões.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

-**Agradecimentos.** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

-**Referências.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ conforme exemplos:

## **Como referenciar:**

### **1. Citações no texto**

-A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

-autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)

-dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)

-mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979)

-mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

-**Citação de citação.** Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

-*Comunicação pessoal*. Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

**2. Periódicos** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88. FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

**3. Publicação avulsa** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415. NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

**4. Documentos eletrônicos** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

**Nota:**

-Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.

-O Sistema reconhece, automaticamente, como “Desistência do Autor” artigos em diligência e/ou “Aguardando liberação do autor”, que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

## **NORMAS REVISTA MARINE POLLUTION BULLETIN**

### ***Submissões***

Submissão a esta revista procede totalmente on-line e você será guiado passo a passo através da criação e upload de seus arquivos. O sistema converte automaticamente os arquivos em um único arquivo PDF, que é usado no processo de revisão por pares. Como parte do seu papel Seu serviço Way, você pode optar por enviar o seu manuscrito como um único arquivo a ser utilizado no processo de arbitragem. Isso pode ser um arquivo PDF ou um documento do Word, em qualquer formato ou lay-out que pode ser usado pelos árbitros para avaliar o seu manuscrito. Ele deve conter figuras de qualidade suficientemente elevadas para arbitragem. Se preferir fazê-lo, você ainda pode fornecer todos ou alguns dos arquivos de origem na apresentação inicial. Por favor, note que os arquivos de figura individual maior do que 10 MB devem ser enviados separadamente.

### ***Referências***

Não há exigências rígidas sobre referência de formatação na submissão. As referências podem ser em qualquer estilo ou formato, desde que o modelo é consistente. Se for caso disso, o autor (s) nome (s), título da revista / título do livro, título do capítulo / título do artigo, ano de publicação, número do volume / capítulo de livro e a paginação deve estar presente. Uso de DOI é altamente incentivado. O estilo de referência utilizado pela revista será aplicada ao artigo aceito pela Elsevier na fase de prova. Note-se que os dados em falta serão destacadas na fase de prova para o autor para corrigir.

### ***Requisitos de formatação***

Não há requisitos de formatação rigorosos, mas todos os manuscritos devem conter os elementos essenciais necessários para transmitir o seu manuscrito, por exemplo, Abstract, Keywords, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Conclusões, arte e quadros com legendas. Se o seu artigo inclui nenhum vídeo e / ou outro material suplementar, isto deve ser incluído na sua apresentação inicial para fins de revisão de pares. Divida o artigo em seções bem definidas.

### ***Abstract***

Os resumos não devem exceder 150 palavras.



## ***Palavras-chave***

Imediatamente após o resumo, fornecer um máximo de 6 palavras-chave, usando a ortografia americana e evitando termos gerais e plurais e diversos conceitos (evitar, por exemplo, "e", "de"). Quando pertinente estes devem incluir as principais espécies em causa, a área geográfica e do contaminante. Ser poupadores com abreviaturas: apenas abreviaturas firmemente estabelecidas no campo pode ser elegível. Essas palavras-chave será utilizada para fins de indexação.

Por favor note que as instruções relacionadas com abstrato e gráfica abstrata ainda se aplicam a todas as novas apresentações.

## ***versões revistas***

Uso de software de processamento de texto Independentemente do formato de apresentação do ficheiro original, a revisão que você deve nos fornecer um arquivo editável de todo o artigo. Mantenha o layout do texto o mais simples possível. A maioria dos códigos de formatação vai ser removido e substituído no processamento do artigo. O texto eletrônico deve ser preparado de uma forma muito semelhante à de manuscritos convencionais (ver também o [Guide to Publishing com a Elsevier](#)). Veja também a seção sobre arte electrónica. Para evitar erros desnecessários que são fortemente aconselhados a usar as funções de 'verificação ortográfica' e 'gramática-Check "de seu processador de texto.

- Título. Conciso e informativo. Títulos são frequentemente utilizados em sistemas de recuperação de informação. Evite abreviações e fórmulas sempre que possível.
- Os nomes dos autores e afiliações. Por favor, indicar claramente o nome dado (s) e nome (s) da família de cada autor e verificar que todos os nomes estão escritos com precisão. Apresentar endereços de afiliação dos autores (onde o trabalho real foi feito) abaixo os nomes. Indique todas as afiliações com uma carta de expoente minúsculas imediatamente após o nome do autor e em frente ao endereço apropriado. Fornecer o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se disponível, o endereço de cada autor e-mail.
- Autor correspondente. Indique claramente quem vai lidar com a correspondência em todas as fases de arbitragem e publicação, também pós-publicação. Certifique-se de que

o endereço de e-mail é dado e que os detalhes de contato são mantidos atualizados pelo autor correspondente.

- endereço Present / permanente. Se um autor mudou desde o trabalho descrito no artigo foi feito, ou estava visitando no momento , um "endereço Present" (ou "endereço permanente ") pode ser indicada como uma nota de rodapé do nome desse autor. O endereço em que o autor realmente fez o trabalho deve ser mantido como o principal, endereço de filiados. Algarismos arábicos sobrescritos são usados para tais notas de rodapé.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho nos permitiu concluir que:

- Os organismos da região portuária estão sofrendo com estresse ambiental causado pela contaminação oriunda das atividades industriais dessa região.
- O igarapé do puca em Alcântara pode ser utilizada como área controle para futuras pesquisas com biomarcadores, devido a baixa frequência de alterações encontradas nos órgãos dos peixes comparado a área impactada.
- Os biomarcadores nas brânquias e nos rim de *S. Herzbergii* se revelaram uma excelente metodologia de diagnóstico de ambientes contaminados, com destaque para as brânquias, onde as alterações são mais fáceis de identificação.

## REFERÊNCIAS

ACERO, P. A. Ariidae, In: Carpenter, K. E. (Ed). **The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic**. Bony fishes part 1 (Acipenseridae to Grammatidae).

ADAMS, S. M. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. **American Fisheries Society Symposium**. N. 8, p. 1-8, 1990.

AKAISHI, F. M. et al. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Atyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 244-253, 2004.

AMADO, L. L.; DA ROSA, C. E.; LEITE, A. M.; MORAES, L.; PIRES, W. V.; LEÃES PINHO, G. L.; MARTINS, C. M. G.; ROBALDO, R. B.; NERY, L. E. M.; MONSERRAT, J. M. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): evidences of genotoxic and immunological effects. **Marine Pollution Bulletin**.v. 52, n. 2, p. 199-206, 2006.

ANA - Agência Nacional de Águas, 2007. **Águas de Março** . Brasília-DF. 50p.

ARAÚJO, F.G. 1988. Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. **Revista brasileira de Zoologia**. 5 509-543

ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 44, p. 62-72, 1999.

BARLETTA, M.; A. BARLETTA-BERGAN; U. SAINT-PAUL & G. HUBOLD. 2003. Seasonal changes in density, biomass, and diversity of estuarine fishes in tidal mangrove creeks of the lower Caeté Estuary (northern Brazilian coast, east Amazon).

**Marine Ecology Progress Series:** 217-228.

BAYARRI MJ, RODRÍGUEZ L, ZANUY S, MADRID JA, SÁNCHEZ-VÁZQUEZ FJ, KAGAWA H, OKUZAWA K, CARRILLO M. Effect of photoperiod manipulation on Formatted: Spanish (Spain-Modern Sort the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **General and Comparative Endocrinology**, 136:72-81, 2004.

BAILEY, D.; SOLOMON, G.. Pollution prevention at ports: clearing the air. **environmental impact assessment review**, v.24, p. 749- 774.2004

BERNET, D.; SCHIMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHRADT-HOLM, WHALI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal Fishery Diseases**, n. 22, p. 25-34, 1999.

BLABER, S.J.M. 2000. Tropical estuarine fishes: ecology, exploitation and conservation. **Oxford, Blackwell Science**, 372p.

BONE, Q. e MARSHALL, N.B., 1982. Biology of Fishes. Blackie & Son Limited, London, 253 p.

BROMAGE N, PORTER M, RANDALL C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special references to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, v.197, p.63-69.2001.

CAJARAVILLE, M.P.; BEBIANNO, M.J.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C. & VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian peninsula: a practical approach. **The science of the total environment**, 247:295-311, 2000.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 61-69, 2006.

CARDOSO, T. P.; MÁRSICO, E. T.; MEDEIROS, R. J.; TORTELLY, R.; SOBREIRO, L. G. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 540-546. 2009.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; ABREU-SILVA, A. L. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes) for environmental monitoring: : the case study of São Marcos? Bay, Maranhão, Brazil. **Latin America Journal of Aquatic Research.**, v. 41 (2), p. 217-225, 2013

CARVALHO-NETA, R.N.F.; TORRES JR., A.R.; ABREU-SILVA, A.L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.166, p.1-12, 2012.

CARVALHO-NETA, R.N.F.; ABREU-SILVA, A.L. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: an in situ study of estuarine ecosystem (São Marcos' Bay, Maranhão, Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography.**, v.58, p.11-17, 2010.

CASTRO. R.M.C., 1999, **Evolução da ictiofauna de riachossul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais**. Pp. 139-155 *In*: E.P., Caramaschi, R. Mazzoni, C.R.S.F. e P.R., Peres-Neto, (eds.), **Ecologia de peixes de riachos**, vol. 7, PPGE- UFRJ, Rio de Janeiro, 260 p.

CONSELHO Nacional Do Meio Ambiente - CONAMA, RESOLUÇÃO Nº 430, DE 16 DE MAIO DE 2011.

COUTINHO, E. C., 2001, **Estudo das características na região do centro de lançamento de foguetes de Alcântara (CLA)**. Dissertação (Mestrado), INPE, São José do Campos, São Paulo, Brasil.

Disponível em: **EMAP**: <<http://www.emap.ma.gov.br/porto-do-itaqui/comunidade-portuaria>>. Acesso em 18 de Janeiro de 2016.

Emap (2016) Empresa maranhense de administração portuária. <http://www.emap.ma.gov.br/emap>. Acesso em 01 de Novembro de 2016

FAO Species Identification Guide for Fisheries Purpose and American Society of Ichthyologist and Herpetologist Special Publication, Rome: FAO. Vol. 2(5).P.831 – 852. 2002

FEITOSA, A.C., 1989. **Evolução Morfogenética do Litoral Norte da Ilha do Maranhão**. Rio Claro, UNESP: 210p. Dissertação de Mestrado.

FILHO, J. P.; SPILLERE, L. C.; SCHETTINI, C. A. F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do rio itajaí-açu, sc. **Atlântica**, Rio Grande, 25(1): 11-20. 2003.

FISHBASE. *Sciads herzbergii*. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em 25 jun., 2016.

FÚRIA, R.R.; **Efeito da fração solúvel em água do mar do petróleo e do diesel sobre a morfologia das brânquias de Trachinotus sp (Perciformes: Carangidae)** [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.

GALVAN, G. L. **Avaliação genotóxica de efluentes químicos de laboratórios de instituição de ensino e pesquisa utilizando como bioindicador o peixe *Astyanax altiparanae* (characidae)**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) Universidade Federal do Paraná, 102p, 2011.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS- FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2007; 59(2):376-381.

GIARI, L.; MANERA, M.; SIMONI, E.; DEZFULI, B. S. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. **Chemosphere** 67:1171–1181, 2007.

GOULDING, M. Amazonian fisheries, p.189-210. *In*: E.F. MORAN (Ed.). **The dilemma of Amazonian development**. Boulder, Colorado, Westview Press, 347p, 1983.

GOSS, G.G., PERRY, S.F., FRYER, J.N. e LAURENT, P., Gill morphology e acid-base regulation in freshwater fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 119A: 107-115, 1998.

GROFF, A. A. **O tabaqui (*Colossoma macropomum*) e o Pirarucu (*Arapaima gigas*) como organismos bioindicadores do efeito genotóxico da radiação ultravioleta (UVA e UVB)**. 77 f. 2008. Dissertação de Mestrado (Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

HEUGENS, E. H. W.; HENDRIKS, A. J.; DEKKER, T.; VAN STRAALLEN, N. M.; ADMIRAAL, W. A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. **Critical Reviews Toxicology**, 31:247–284, 2001.

HIDRAELE PROJETOS E SERVIÇOS LTDA, 2009, **Relatório técnico da caracterização Socioeconômica, condições geológicas, geomorfológicas para construção de Poço Artesiano - Poço P1, localizado na área da Alcântara cyclone space, município de Alcântara**. 19p.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. Histopathologic Biomarkers. *In*: HUGGETT, R. J.; KIMERLE, R. A.; MEHRLE, P. M.; BERGMAN, H. L. (Eds.). **Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of anthropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 4, p. 155-209, 1992.



HINTON, D. E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. **American Fisheries Society Symposium**, Bethesda, v. 8, p. 51-66. 1990.

HOPKIN, S.P.; PEAKALL, D.B.; WALKER, C.H.; SIBLY, R.M. **Principles of Ecotoxicology**. 3 ed. Florida: CRC Press. 315p. 2005.

HUGHES, C.M., 1984. General anatomy of the gills In: W.S. Hoar e D.J. Randall, Fish Physiology. **Academic Press**, New York, pp. 1-72.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 1984. Atlas do Maranhão. Rio de Janeiro: IBGE, 100p.

IZQUIERDO M.S., FERNANDEZ-PALACIOS, H. E TACON, A.G.J. (2001). - Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture** 197, 25-42.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 4. p. 680-693, 2008.

KUO CM, NASH CE, SHEHADEH ZH. The effects of temperature and photoperiod on ovarian development in captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.). **Aquaculture**, 3:25-43, 1974.

LARSEN, B.K.; PERKINS Jr., E.J. Target organ toxicity in the kidney. In: SCHLENK, D. & BENSON, W.H. Target organ toxicity in Marine and freshwater teleosts. London: Taylor & Francis, 2001. p. 90-150.

LE FRANÇOIS, N.R. E BLIER, P.U. (2003). Reproductive events and associated reduction in the seawater adaptability of brook charr (*Salvelinus fontinalis*): Evaluation of gill metabolic adjustments. **Aquatic Living Resources** 16, 69-76.

LEONARDO, J.M.L.O.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; NATALI, M. R.M.; VOLSKI, T.; CAVICHIOLO, F.. Histologia das brânquias de larva da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. **Acta Scientiarum**. 2001;23(4):863-870.

LAURENT, P. e PERRY, S.F., Environmental effects on fish gill morphology. **Physiological Zoology**, 53: 4-25. 1991,

LAURENT, P. e DUNEL, S., Morphology of gill epithelia in fish. **American Journal of Physiology**, 238: R147-159.1980

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIR, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CÍRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento aquático. **Revista Acadêmica das Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, v. 8, p. 469- 484, 2010.

LOWE-McCONNELL, R.H. 1999.**Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**.Edusp, São Paulo, 536p.

LOZANO, C. *Oceaografia, Biología Marina y Pesca*. Editora Paraninfo. Madri/Espanha,445p. 1978

MACEDO, L. A. A, **Controle ambiental do Golfão Maranhense**. Universidade Estadual do Maranhão - DAE. v,48, nº155 – abr/jun89. São Luís

MACDONALD, D. D.; INGERSOLL, C. G.; BERGER, T. A. Development and evaluation of consensus – based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 39, p. 20 – 31.2000.

MANERA, M., SERRA, R., ISANI, G., & CARPENE, E. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. **Journal of Fish Biology**, 57, 457–465.2000.

MARCENIUK, A.P. Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. **Boletim do Instituto de Pesca** 31 (2): 89-

101.2005.

MARTINS –JURAS, I. A. G., **Ictiofaunas estuarinas da Ilha do Maranhão**. 1989. 184 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

MARTINEZ, C. B. R.; CÓLUS, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E. et al (Eds.). **A bacia do Rio Tibagi**. Londrina-Paraná: UFPR, parte C, p. 551-577, 2002.

MARTINEZ, C.B.R. et al. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Brazilian Journal Biology**, São Carlos, v. 64, n. 4, p. 797-807, 2004.

MELO, M. R. S. **Alterações histopatológicas em brânquias e fígado de peixes como biomarcadores de contaminação aquática no Rio Bacanga, São Luís-MA**. 2012. 29p. Relatório Final Iniciação científica. FAPEMA.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M & KJERFVE, B. 2002. **Princípios da Oceanografia Física de Estuários**. Editora da USP, 414p.

MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. Apud TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa, 2009. p. 625-723.

MONSERRAT, J. M.; MARTINEZ, P. E; GERACITANO, L. A.; AMADO, L. L.; MARTINS, C. M.; PINHO, G. L.; CHAVES, I. S.; FERREIRA- CRAVO, M.; VENTURA- LIMA, J.; BIANCHINI, A. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. **Comparative Biochemistry and Physiology part C: Toxicology and pharmacology**. v. 14, 2007.

OLIVEIRA, C.R.; MADUREIRA, L.A.S. Distribuição de hopanos e avaliação da contaminação por derivados de petróleo em sedimentos superficiais na costa portuária de Santa Catarina, Brasil. In: 32º REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32, 2009, Fortaleza. **Anais...**Fortaleza: [s.n.] 2009. p.97. (Resumo).

OLIVEIRA, M.; AHMAD, I.; MARIA, V. L.; PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Monitoring pollution of coastal lagoon using *Liza aurata* kidney oxidative stress and genetic endpoints: an integrated biomarker approach. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 643–653, 2010.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A., FILIPAK NETO, F., MELA, M., SILVA, P. H., RANDI, M. A. F., RABITTO, I. S., ALVES COSTA, J. R. M., PELLETIER, E. 2006. Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. **Environmental Research**, v. 101, n. 1, p. 74- 80, 2006.

PANDEY, S.; PARVEZ, S.; SAYEED, I.; HAQUE, R.; BIN-HAFEEZ, B.; RAISUNDDIN, S. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). **The Science of the Total Environment**. v. 309, 9. 105 –115. 2003.

PAIVA, M.P. A ictiofauna e as grandes represas brasileiras. **Revista DAE**, Sabesp, São Paulo, 38 (116): 49-57, 1978.

PAMPANIN, D.M.;ANDERSEN,O.K.;VIARENGO,A.;GARRIGUES,P. Background for the BEEP Stavanger workshops: Biological effects on marine organisms in two common, large, laboratory experiments and in a field study. Comparison of the value (sensitivity, specificity,etc.) of core and news biomarkers. **Aquatic Toxicology**, n.788, p.81-84, 2006.

PEAKALL,P.B. Biomarkers – the way forward in environmental assessment. **Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology**, n.1 p.55-60, 1994.

PEDROZO, M.F.M.; BARBOSA, E.M.; CORSEUIL, H.X.; SCHNEIDER, M.R.; LINHARES, M.M. Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo. Salvador: CRA, 2002. 246p.

PISAM, M. e RAMBOURG, A. Mitochondria-rich cells in the gill epithelium of teleost fishes: an ultrastructural approach. **International Review of Cytology.**, 130: 191-232, 1991.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: MÜLLER, R.; LLOYD, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: Fishing News Books, 1994. p. 339-352.

PORTOBRÁS. **Parecer técnico hidráulico - sedimentológico referente às alternativas de solução para implantação do píer petrolífero do Porto Comercial do Itaqui**. 1, p.51, Julho 1988.

REIMSCHUESSEL, R. A fish model of renal regeneration and development. *Ilar Journal*. v.42, p. 285 – 291, 2001.

REIS, A.S. **Ecologia trófica e ecomorfologia da ictiofauna de igarapés maranhenses (Alcântara-MA)** / Andressa da Silva Reis. -- São Carlos : UFSCar, 2011. 124 f. Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

RIBEIRO, E. B.; CARVALHO- NETA, R. N. F. Ecologia trófica de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos- MA. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG

RIBEIRO, E.B.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO- NETA, R. N. F. Hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos , Maranhão, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.64, n.6, p.1761-1765, 2012

RIBEIRO S.; Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, Universidade de São Paulo, v. 8. n, p. 58-61, jun. 2012.

RILEY, J. P & CHESTER, R 1989. **Introducción a La Química Marina**. México: A.G.T, 457p.

ROCHA, E.J.P.; RIBEIRO, E.B.M. & EL-ROBRINI, M. (no prelo), **Caracterização Climática da faixa costeira do NE do Pará.**

ROSA, R. S. & O.B.F. GADIG. Peixes Costa Brasileira. **Review Copeia** 1993(3): 902-904, 1983

ROSS, K.; COOPER, N.; BIDWELL, J. R.; ELDER, J. Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference site. **Marine Pollution Bulletin.** v. 44, p. 671- 679, 2002.

SANTOS, S. G.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS- FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**; v. 59, n. 2, p. 376-381, 2007.

SCHAWAIGER, J., WANKE, R., ADAM, S., PAWERT, M., TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery.** 6, p. 75-86, 1997.

SCHRECK, C.B., CONTRERAS-SANCHEZ, W. E FITZPATRICK, M.S.(2001). Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. **Aquaculture** 197, 3-24.

SINGH, N. P.; OGBURN, C. E.; WOLF, N. S.; BELLE, G.; MARTIN, G. M. DNA double-strand breaks in mouse kidney cells with age. **Biogerontology** 2:261–270, 2001.

SIMÕES, F. S.; YABE, M. J. S. Avaliação do efeito da piscicultura em sistemas aquáticos em Assis e Cândido Mota, São Paulo, por indicadores de qualidade da água e análise estatística multivariada. **Química Nova.** v. 30, n. 8, 2007.

SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V.M.: **Biomonitoramento Ambiental.** In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Editors. *Genética Toxicológica.* Porto Alegre: Alcance. p. 165- 180, 2003.

SILVA, G.; CANOVA, T.; GUIMARÃES, A. T. B.; ADAM, M. Influência sazonal sobre a frequência de micronúcleos e edemas branquiais em *Scleromistax barbatus* (siluriformes: callichthyidae) coletados em rios da Serra do Mar - PR, Brasil. **RUBS**, v.1, n.3, p.84-90, 2008.

SISINNO, C.L.S. et al. Toxicity evaluation of a municipal dump leachate using zebrafish Acute Tests. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, New York, v. 64, p. 107-113, 2000.

SODRÉ, E. S. P., FILHO. M. S. F. Perda de qualidade ambiental nas praias de São Marcos e Calhau em São Luis-MA em função da poluição por resíduos sólidos e deposição de efluentes líquidos. **Anais XVI Encontro Nacional dos Geógrafos**. ENG 2010 – Porto Alegre.

SOUSA.; ALMEIDA, Z.S.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.65, n.2, p.369-376, 2013.

STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P.; JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, 55,137–159, 2003.

STREIT, B. Bioaccumulation of contaminants in fish. In: BRAUNBECK, T., HINTON, D. E.; STREIT, B. (Eds). **Fish Ecotoxicology**. Berlin: Birkhauser Verlag, 1998, p. 353-387.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features**. 2. ed. Tokyo: Kodanska, 1995.

THOPHON, S. M.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E. S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass,

Lates calcarifer in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution, Barking**, v. 121, p. 307-320. 2003.

UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F.; ROUBICEK, D. A.; TOMINAGA, M. Y. Evaluation of the water genotoxicity from Santos Estuary (Brazil) in relation to the sediment contamination and effluent discharges. **Environment International**, v. 32, n. 3, p. 359-364, 2006.

VAN DER OOST, R., BEYER, J., VERMEULEN, N.P.E., Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VALDEZ DOMINGOS, F. X. **Biomarcadores de contaminação ambiental em peixes e ostras de três estuários brasileiros e cinética de derivados solúveis do petróleo em peixes**. 2006. 130f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2006.

VANNOTE, R.L.; MINSHALL, G.W.; CUMMINS, K.W.; SEDELL, J.R. & CUSHING, C.E., The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37: 130-137.1980.

VEIGA, M.L.; RODRIGUES, E.L.; PACHECO, F.J.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Histopathologic changes in the kidney tissue of *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 (Characiformes, Prochilodontidae) induced by sublethal concentration of Trichlorfon exposure. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.4, n.2, p.171-175, 2002.

VAZZOLER, A. E. de M. **Biologia e reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Eduem, 1996. 169 p.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. (eds.) **Principles of Ecotoxicology**. Londres: Taylor & Francis, 1996.



WHITE, F.N., Respiration. In: M. S. Gordon, G. A. Bartholomew, A. D. Grinnel, C. B. Jorgensen, F. N. White (eds.), *Animal Physiology: Principles e Adaptations*. Macmillan Publishing Co., Inc., New York, pp. 156-217. 1997.

WOO, P. T. K.; SIN, Y. M. & WONG, M. K. 1993. The Effects of Short-term Acute Cadmium Exposure on Blue Tilapia, *Oreochromis aureus*. **Environmental Biology of Fishes**, 37: 67)

YUAN, D.; YANG, D.; WADE, T. L.; QIAN, Y. Status of persistent organic pollutants in the sediment from several estuaries in China, **Environmental Pollution**, v. 114, p.101-111.2001,

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 143, p. 187-195, 2006.

Zhou, Q.; Zhang, J.; Fu, J.; Shi, J.; Jiang, G. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Anal Chim Acta** 606:135–150, 2008.