



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (MESTRADO) EM ECOLOGIA E  
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

**MARIA FABIENE DE SOUSA BARROS**

**BIOMARCADORES EM BRÂNQUIAS E HEPATOPÂNCREAS DE *Ucides  
cordatus* LINNAEUS (1873) (CRUSTACEA: DECAPODA) PARA O  
MONITORAMENTO DE IMPACTOS ANTRÓPICOS NA ILHA DE SÃO LUÍS,  
MARANHÃO, BRASIL**

**São Luís – MA**

**2022**

**MARIA FABIENE DE SOUSA BARROS**

**BIOMARCADORES EM BRÂNQUIAS E HEPATOPÂNCREAS DE *Ucides cordatus* LINNAEUS (1873) (CRUSTACEA: DECAPODA) PARA O MONITORAMENTO DE IMPACTOS ANTRÓPICOS NA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta

**São Luís – MA  
2022**

Barros, Maria Fabiene de Sousa.

Biomarcadores em brânquias e hepatopâncreas de *Ucides cordatus* Linnaeus (1873) (Crustacea: Decapoda) para o monitoramento de impactos antrópicos na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil / Maria Fabiene de Sousa Barros. – São Luís, 2022.

74 f

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual do Maranhão, 2022.

Orientadora: Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta.

**MARIA FABIENE DE SOUSA BARROS**

**BIOMARCADORES EM BRÂNQUIAS E HEPATOPÂNCREAS DE *Ucides cordatus* LINNAEUS (1873) (CRUSTACEA: DECAPODA) PARA O MONITORAMENTO DE IMPACTOS ANTRÓPICOS NA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão.

Aprovada em:10/03/2022

**BANCA EXAMINADORA**



---

Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta  
(Orientadora/ UEMA)



---

Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos (1ª Examinadora)  
(UEMA)



---

Prof. Dr. Laércio dos Anjos Benjamin (2ª Examinador)  
(Universidade Federal de Viçosa)

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e viver com ousadia, pois o triunfo pertence a quem se atreve, e a vida é muito bela para ser insignificante.”*

*(Charles Chaplin)*

*“Dedico este trabalho a todos meus amigos que colaboraram com a realização desta pesquisa, em especial à minha família e orientadora”.*

*“Dedico também a minha amiga querida Zafira Almeida (“in memoriam”), com todo o meu amor e gratidão por sua amizade e apoio”.*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, minha fonte de refúgio e descanso quando o medo e a insegurança parecem maiores do que consigo suportar.

À minha família, que nas suas dificuldades e limitações me apoiam, sonham e sofrem comigo, durante toda a jornada, em especial a minha mãe por seu amor, apoio e presença constante.

À minha querida orientadora Profa. **Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta** por toda a caminhada, apoio durante todos esses anos desde que nos conhecemos, pela oportunidade que me foi oferecida, por ter acreditado no meu potencial desde sempre, pela confiança, pela amizade e pelo carinho com que sempre me tratou. Amo você.

À minha amiga querida **Zafira da Silva de Almeida** (in memoriam) por todo seu apoio, seus conselhos, seus ensinamentos que me auxiliaram pra que chegasse hoje até aqui. Você me faz muita falta! As pessoas que amamos nunca morrem em nossos corações! Te amo!

Às minhas amigas de mestrado e parceiras de trabalho em campo e Laboratório **Hozana Soares** e **Samantha Pestana**, por me acolherem, aceitarem entrar nessa empreitada juntas, por compartilharem seus conhecimentos, me ajudarem em tudo que eu precisei e participarem, de forma positiva e somando do meu aprendizado. Obrigada pela caminhada, pela ajuda e por estarem sempre comigo.

Às minhas amigas **Karla Bittencourt**, **Hetty Torres**, **Allana Tavares** e **Daniele Borges** por compartilharem seu conhecimento quando precisei de auxílio e direção, pelas mensagens de incentivo e força, durante todas as fases de estudo até a etapa final deste projeto.

À minha mais nova amiga **Lorena dos Santos Kostek**, que surgiu de repente, e já se faz tão presente como um bom amigo, por ter sido tão presente e me auxiliado nesta etapa de finalização do projeto. Obrigada por ter estado aqui nesse momento.

À minha querida **Juadenil Carvalhal** minha querida (Juju), por todo seu incentivo apoio carinho.

Aos **amigos de turma**, pelos risos nos momentos de desespero, pelos conhecimentos divididos e por todas as experiências compartilhadas através de seus conhecimentos.

Aos **amigos, próximos ou distantes geograficamente**, que mesmo indiretamente torcem pelo meu sucesso e conquistas e que não desistem da minha amizade mesmo quando não tendo tempo para eles.

Ao **Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia e Monitoramento de Ambientes Aquáticos (GPEMAAq)** e ao **Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos**, pelo auxílio nas atividades de campo e pelas contribuições. As pessoas que se envolveram com esse projeto, principalmente Gerson Protásio, Wanda Batista meu muitíssimo obrigado.

Aos pescadores **Sr. Marciano, sr. Mundico e sr. Ribamar** pelo auxílio nas coletas dos caranguejos objeto deste estudo. Obrigada!

Aos professores da banca examinadora de qualificação e defesa **Laércio Benjamin e Débora Martins** por aceitarem meu convite e pelas valiosas contribuições.

À **FAPEMA** pelo incentivo através da bolsa de pós-graduação.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade**, da Universidade Estadual do Maranhão, por me permitirem a realização do meu mestrado.

Aos **professores e mestres** do programa por todo conhecimento compartilhado e paciência.

E a todos aqueles que participaram de alguma forma quando cruzaram meu caminho, contribuindo direta ou indiretamente, deixo aqui a minha eterna gratidão.

## RESUMO

Estudos de biomonitoramento com espécies biomonitoras adequadas para análises de biomarcadores histológicos (em órgãos como brânquias e hepatopâncreas) têm sido considerados importantes na avaliação de ambientes impactados. Dessa forma, neste trabalho objetivou-se avaliar lesões em brânquias e hepatopâncreas de *Ucides cordatus*, como indicativos de impactos antrópicos na Ilha de São Luís, Maranhão. Os caranguejos foram coletados pela técnica de braceamento com auxílio de um catador profissional em duas áreas uma na Baía de São José: Raposa (com menor impacto) e Porto Grande Baía de São Marcos (área potencialmente impactada). Em laboratório foram obtidos os dados biométricos de cada exemplar de caranguejo e feita a dissecação dos espécimes, para remoção e fixação das brânquias e hepatopâncreas em solução de Davidson por 24 horas. As amostras dos tecidos foram submetidas à técnica histológica padrão, onde foram desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Em seguida, cortes transversais de 5 micrômetros de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina e as lâminas foram analisadas em microscópio de luz. Os dados biométricos dos caranguejos das duas áreas foram expressos em médias e desvio-padrão. Os dados mostraram lesões branquiais e hepáticas significativas nos caranguejos das duas áreas. As principais lesões encontradas para as brânquias foram rompimento das células pilastras; deformação do canal marginal e necrose em ambos os períodos chuvoso e de estiagem. As lesões hepáticas mais observadas foram deformação do lúmen, células B vacuolizadas, núcleos picnóticos e necrose, também nas duas estações. As médias de largura e comprimento da carapaça, demonstram que os caranguejos de Raposa (área menos impactada) foram menores que os caranguejos da área potencialmente impactada, em ambos os períodos sazonais, contudo também não apresentaram diferenças significativas entre estas ( $p > 0,05$ ). O índice de Bray-Curtis para as alterações branquiais de *U. cordatus* para a estação de estiagem e chuvosa demonstrou para ambas as regiões um agrupamento maior que 0.9 (ou 90%) das lesões do tipo rompimento das células pilastras e deformação do canal marginal; a lesão necrose se agrupou hierarquicamente formando o conjunto de “lesões mais frequentes”. Para as lesões hepáticas verificou-se que os dados para os caranguejos da região de Raposa mostra agrupamento com similaridade (>80%) na estiagem e (>70%) para o período chuvoso, reunindo as lesões núcleos picnóticos, células B vacuolizadas, deformação do lúmen e necrose; para a região de Porto Grande, o cluster indicou um agrupamento (>80%) para ambos os períodos sazonais, reunindo as lesões necrose, deformação do lúmen, células B vacuolizadas e núcleos picnóticos demonstrando estas lesões em ambas as regiões como o conjunto de lesões mais frequentes. As respostas biológicas alteradas (alterações branquiais e hepáticas em *U. cordatus*) comprovam que esses caranguejos estão submetidos a níveis de estresse que estão comprometendo as funções vitais dos caranguejos.

**Palavras-chaves:** Biomonitoramento, Histologia, Caranguejo, Região Portuária

## ABSTRACT

Biomonitoring studies with biomonitor species suitable for the analysis of histological biomarkers (in organs such as gills and hepatopancreas) have been considered important in the assessment of impacted environments. Thus, this study aimed to evaluate lesions in gills and hepatopancreas of *Ucides cordatus*, as indicative of anthropic impacts on São Luís Island, Maranhão. Crabs were collected by the braceamento technique with the help of a professional collector in two areas, one in São José Bay: Raposa (with less impact) and Porto Grande Baía de São Marcos (potentially impacted area). In the laboratory, the biometric data of each crab specimen were obtained and the specimens were dissected to remove and fix the gills and hepatopancreas in Davidson's solution for 24 hours. Tissue samples were submitted to the standard histological technique, where they were dehydrated in increasing series of alcohols, diaphanized in xylene, impregnated and embedded in paraffin. Then, 5 micrometer-thick cross-sections were stained with Hematoxylin and Eosin and the slides were analyzed under a light microscope. The biometric data of the crabs in the two areas were expressed as means and standard deviation. The data showed significant gill and liver lesions in crabs from both areas. The main lesions found for the gills were rupture of the pilaster cells; deformation of the marginal channel and necrosis in both rainy and dry seasons. The most observed liver lesions were lumen deformation, vacuolated B cells, pyknotic nuclei and necrosis, also in both seasons. The averages of carapace width and length show that crabs from Raposa (less impacted area) were smaller than crabs from potentially impacted area, in both seasonal periods, however, they also did not show significant differences between them ( $p>0.05$ ). The Bray-Curtis index for the gill alterations of *U. cordatus* for the dry and rainy season showed for both regions a grouping greater than 0.9 (or 90%) of lesions such as rupture of pilaster cells and deformation of the marginal canal; the necrosis lesion was grouped hierarchically forming the set of “most frequent lesions”. For liver lesions, it was found that the data for crabs from the Raposa region show similarity (>80%) in the dry season and (>70%) for the rainy season, gathering the lesions pyknotic nuclei, vacuolated B cells, lumen and necrosis; for the Porto Grande region, the cluster indicated a grouping (>80%) for both seasonal periods, bringing together necrosis lesions, lumen deformation, vacuolated B cells and pyknotic nuclei showing these lesions in both regions as the set of lesions more frequently. The altered biological responses (gill and liver changes in *U. cordatus*) prove that these crabs are subjected to stress levels that are compromising the crabs' vital functions.

**Keywords:** Biomonitoring, Histology, Crab, Port Region

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Área de captura do caranguejo <i>U. cordatus</i> , Baía de São José – Raposa – área de menor impacto) .....	28
<b>Figura 2.</b> Segunda área de captura do caranguejo <i>U. cordatus</i> , Baía de São Marcos (Porto Grande, Região Portuária - área potencialmente contaminada, Maranhão, Brasil.....	29
<b>Figura3.</b> Exemplar de caranguejo de <i>Ucides cordatus</i> .....	32
<b>Figura4.</b> Coleta de <i>Ucides cordatus</i> em galerias pela técnica de braceamento.....	34
<b>Figura 5.</b> Aferição dos dados parâmetros físico-químicos da água nos locais de coleta.....	34
<b>Figura 6.</b> Imagem de obtenção das medidas LC e CC (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001) e registro do LC, CC, LPQ, CPQ, CDM e peso total a partir de um paquímetro e balança digita.....	35
<b>Figura 7.</b> (A) Remoção das brânquias e dos hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> , (B) preservação dos tecidos.....	36
<b>Figura 8.</b> Estruturas branquiais em <i>U. cordatus</i> coletados nas áreas de estudo Raposa (área menos impactada) e Porto Grande (área mais impactada), A) Brânquia normal: CM – canal marginal; LS – Lamela secundária; LP – Lamela primária B) Célula pilastra normal (círculo), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	41
<b>Figura 9.</b> Lesões observadas na estrutura branquial de <i>U. cordatus</i> coletados nas áreas de estudo Raposa e Porto Grande, Maranhão. A) Rompimento das células pilastras (seta), B) Deformação do canal marginal (seta), C) Ruptura da cutícula (seta), D) Colapso lamelar (asterisco), E) Deslocamento da cutícula (seta), Necrose (asterisco) e F) Hiperplasia (asterisco), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	42
<b>Figura 10.</b> Percentuais de lesões branquiais dos caranguejos ( <i>U. cordatus</i> ) capturados na zona portuária (Área mais impactada) e Raposa (Área menos impactada) .....	45
<b>Figura 11.</b> Fotomicrografia das lamelas secundárias de <i>U. cordatus</i> com parasitos (setas) (não identificados), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	47

<b>Figura 12.</b> Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões branquiais em <i>Ucides cordatus</i> baseada em uma matriz de agrupamento considerando as lesões nas áreas estudadas A) Raposa e B) Porto Grande (estiagem).....	49
<b>Figura 13.</b> Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões branquiais em <i>Ucides cordatus</i> relacionada em uma matriz de agrupamento considerando as lesões nas áreas estudadas A) Raposa e B) Porto Grande (chuvoso).....	50
<b>Figura 14.</b> Fotomicrografia da estrutura normal de hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> coletado na região de Raposa e Porto Grande, visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x. Seta preta indicando um túbulo com lúmen normal formato de “estrela”.....	52
<b>Figura 15.</b> Frequência total de lesões nos hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> encontradas na Área Portuária e na de menor impacto.....	54
<b>Figura 16.</b> Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões hepáticas em <i>Ucides cordatus</i> Raposa A (estiagem) B (chuvoso); Porto Grande C (estiagem) D (chuvoso).....	55
<b>Figura 17.</b> Lesões em hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> capturados na área portuária e de menor impacto, visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	56
<b>Figura 18.</b> Gráfico comparando o total de lesões encontradas em brânquias e hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> na Área Portuária (Porto Grande) e na Área de menor impacto (Raposa).....	57

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Lesões descritas em brânquia na Baía de São Marcos- São Luís Maranhão e áreas de referência.....	30
<b>Tabela 2.</b> Média, desvio –padrão e valor de p pelo teste t de Student dos dados biométricos de <i>U. cordatus</i> capturados em duas áreas diferenciadas, durante o período de estiagem e chuvoso.....	37
<b>Tabela 3.</b> Dados abióticos da água de Raposa e Porto Grande áreas de coleta de <i>U. cordatus</i> capturados no período de estiagem e chuvoso.....	39
<b>Tabela 4.</b> Média, desvio –padrão e valor de p pelo teste t de Student para as alterações branquiais em caranguejos ( <i>U. cordatus</i> ) coletados em duas diferentes áreas durante o período de estiagem e chuvoso.....	44
<b>Tabela 5.</b> Percentuais das lesões em hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> observados na Área Portuária e na de menor impacto.....	52

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	18
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>18</b>
3.1 O ecossistema manguezal.....	18
3.2 Monitoramento ambiental.....	19
3.3 Monitoramento ambiental em manguezais.....	20
3.4 Monitoramento ambiental em regiões portuárias.....	22
3.5 <i>Ucides cordatus</i> como espécie biomonitora.....	24
3.6 Biomarcadores histológicos em brânquias.....	25
3.7 Biomarcadores histológicos em Hepatopâncreas.....	26
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
4.1 Área de estudo.....	27
4.2 Táxon <i>Ucides cordatus</i> .....	31
4.3 Procedimento em campo.....	33
4.4 Procedimento Laboratorial.....	34
4.4.1 Dados biométricos.....	34
4.4.2 Retirada dos tecidos e fixação.....	35
4.4.3 Análise histológica.....	36
4.5 Análise estatístico dos dados.....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
5.1 Dados biométricos de <i>Ucides cordatus</i> e parâmetros físico-químicos da água.....	37
5.2 Lesões branquiais encontradas em <i>Ucides cordatus</i> em Raposa (área menos impactada) e na região portuária (área mais impactada).....	40
5.3 Dendograma e similaridade entre as lesões branquiais em <i>U. cordatus</i> nas áreas estudadas período de estiagem e chuvoso.....	48
5.4 Histologia das lesões hepáticas de <i>U. cordatus</i> .....	51
5.5 Dendograma e similaridade entre as lesões hepáticas de <i>U. cordatus</i> nas áreas estudada período chuvoso e estiagem.....	54
5.6 Comparação das lesões brânquias e hepáticas de <i>U. cordatus</i> capturados na área portuária (Porto Grande) e de menor impacto (Raposa).....	57
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os recursos aquáticos têm sido historicamente impactados (PINTO *et al.*, 2020), sendo diversos os estressores de origem antrópica, tais como: crescimento da população, urbanização descontrolada, expansão de processos produtivos e das atividades econômicas (FIRMINO *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2016; GUIMARÃES *et al.*, 2017; LEMKE *et al.*, 2018), além da ação de poluentes químicos oriundos de resíduos industriais, esgotos domésticos e resíduos da agricultura (CAPPARELLI; MCNAMARA; GROSELL, 2017). A exemplo de ambiente suscetível a estes impactos temos as regiões costeiras que no Brasil, por exemplo, são locais em que se instalam muitos empreendimentos portuários, devido as condições favoráveis que estes locais possuem para a movimentação de navios de grande porte (RAGUNATHAN, 2017), o que nessas áreas geram contaminantes que são deletérios aos organismos aquáticos (VAN DER OOST *et al.*, 2003; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010).

Os complexos portuários em regiões costeiras são responsáveis por introduzirem no ambiente aquático muitas substâncias potencialmente tóxicas que podem causar sérias alterações na biota aquática (BURUAEM *et al.*, 2012). As operações portuárias geram resíduos que poluem o ar, a água, o solo, o subsolo, além de alterar a paisagem (ANTAQ, 2015). Essas substâncias tóxicas comprometem também a biota aquática, causando efeitos mais significativos nesses organismos, uma vez que estes vivem em regiões que apresentam sedimentos finos, como é o caso dos manguezais, considerados como um dos ecossistemas mais produtivos em termos ecológicos, envolvendo diferentes ciclos, importantes para a zona costeira (carbono e do nitrogênio) (BAYEN, 2012).

A Baía de São Marcos possui um complexo portuário (Complexo Portuário da Ilha de São Luís-MA) com empresas como VALE e ALUMAR/ALCOA, sendo o segundo mais importante em termos de movimentações de cargas da América Latina, que mais movimenta (metais diversos, petróleo, fertilizantes, grãos) no Brasil (CARVALHO-NETA *et al.*, 2012).

Estudos anteriores desenvolvidos no Complexo Portuário de São Luís (FURTADO, 2007; SOUSA, 2009; CARVALHO-NETA *et al.*, 2012; ROCHA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2019) descreveram que essa região está sujeita a diversos impactos antrópicos originários das atividades portuárias, domésticas e agrícolas, que contribuem para o surgimento de poluentes químicos, tais como os metais pesados, benzeno, fenóis totais, tributilestanho (TBT) e bifenilas policloradas (PCB). Entretanto o monitoramento



da biota aquática dessa área ainda não é realizado de forma sistemática, assim, sendo importante os estudos com espécies biomonitoras com diferentes biomarcadores para o monitoramento das regiões portuárias do Maranhão.

O ecossistema manguezal, da Baía de São Marcos, no Maranhão, tem sido alvo de constante contaminação química ocasionada por substâncias tóxicas vindas de fontes difusas e pontuais liberadas no meio ambiente (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Entretanto o entendimento sobre os efeitos dos contaminantes oriundos de regiões portuárias nos manguezais maranhenses ainda é insuficiente e estudos posteriores podem preencher lacunas sobre os impactos ocasionados pela poluição química sobre os ecossistemas de manguezais e sobre as pessoas que dependem destes ambientes para seu sustento (BAYEN, 2012).

A ampla quantidade de matéria orgânica presente nos sedimentos finos (argila e silte) dos manguezais desempenham um papel importante na mobilização de poluentes (especialmente metais pesados) por adsorção (SOTO-JIMÉNEZ; PÁEZ-OSUNA 2001; CHATTERJEE *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2014). Estudos têm mostrado que particularmente os manguezais que recebem inputs antropogênicos, contêm uma infinidade de contaminantes químicos (sobre uma vasta gama de concentrações) que são potencialmente tóxicos para os organismos (KRAHN *et al.*, 1994; AMARAL *et al.*, 2009).

Nacionalmente, essas áreas de manguezais são ambientes estuarinos que vêm sendo degradados devido aos impactos de instalações portuárias e urbanas em seu entorno (CARVALHO NETA *et al.*, 2017; PINHEIRO *et al.*, 2012; PINHEIRO; OMAS TOLEDO, 2010) e a biota aquática é a que mais sofre com os impactos. Os crustáceos, por exemplo, são organismos de baixa mobilidade e estão em contato direto com a água e o sedimento sendo capazes de bioacumular metais pesados em seus tecidos com facilidade (PINHEIRO *et al.*, 2012).

Dessa forma, a espécie de caranguejo *Ucides cordatus* caracteriza-se como um importante recurso oriundo de manguezais brasileiros, que se alimenta principalmente de serrapilheira e desempenha um papel ecológico importante na ciclagem de nutrientes (NORDHAUS *et al.*, 2006).

Esse recurso pesqueiro é muito explorado pelas comunidades ribeirinhas, contudo, ainda não se conhecem os níveis de contaminação desses caranguejos. Portanto, estudos que esclareçam o potencial e a dinâmica dos xenobióticos nas populações de importância econômica para o Estado do Maranhão são de grande importância dentro do

contexto de desenvolvimento atual (PINHEIRO-SOUSA *et al.*, 2013), uma vez que assim como os peixes, são organismos sensíveis aos poluentes de origem antrópica e podem mostrar alterações bioquímicas e morfológicas em diferentes tecidos (CARVALHO-NETA e ABREU-SILVA, 2013).

Estudos com moluscos e crustáceos, segundo alguns pesquisadores, são bem vantajosos, uma vez que estes grupos possuem uma série de características, como longevidade, facilidade amostral e de identificação, reduzida vagilidade, ocupação diferencial de posições nas cadeias tróficas e presença em uma grande variedade de nichos ecológicos, que permitem com rapidez o desenvolvimento das pesquisas, (BARBOUR *et al.*, 1999; BAPTISTA *et al.*, 2003; SILVA, 2012).

As populações de organismos bênticos que vivem em ambientes no entorno do complexo portuário de São Luís estão suscetíveis a condições fisiológicas extremas, uma vez que estão em substratos que recebem contaminantes oriundos das cargas e descargas dos navios (SILVA *et al.*, 2016).

Assim, os estudos de biomonitoramento, principalmente em áreas portuárias como a do Porto do Itaqui em São Luís, (área de estudo) proporcionam abordagens tanto sobre a espécie alvo quanto sobre as áreas estudadas, podendo auxiliar em gestão e conservação dos recursos naturais, uma vez que os estudos de monitoramento ambiental com biomarcadores em crustáceos representam uma metodologia eficaz em áreas impactadas como no Porto do Itaqui (SILVA *et al.*, 2016).

Nesse contexto, este trabalho visa contribuir com conhecimento científico relacionado à validação de biomarcadores histológicos no caranguejo *Ucides cordatus*, destacando-se a seguinte hipótese: os caranguejos *U. cordatus* de manguezais impactados por ações antropogênicas desenvolvem respostas biológicas em brânquias e hepatopâncreas que podem ser utilizadas como biomarcadores de contaminação aquática na Ilha de São Luís (MA). Ao se testar essa hipótese, busca-se subsidiar políticas públicas que visem o biomonitoramento da região da ilha de São Luís e à conservação da espécie.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar lesões em brânquias e hepatopâncreas de *Ucides cordatus* como indicativas de impactos antrópicos na Ilha de São Luís, Maranhão.



## 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Quantificar biomarcadores nas brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus*;
- ✓ Verificar possíveis diferenças sazonais período chuvoso e de estiagem nos biomarcadores histológicos nos caranguejos;
- ✓ Comparar os biomarcadores na espécie em dois pontos da Ilha do Maranhão, (Raposa e Porto Grande);
- ✓ Identificar possíveis diferenças biométricas entre os indivíduos das diferentes áreas analisadas.

## 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3.1 O ecossistema manguezal

Os manguezais desempenham importantes papéis ecológicos como berçário natural, fonte de abrigo e alimento para muitas espécies (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; SCHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 2016). São ecossistemas costeiros dotados de grande complexidade, permeando processos de diferentes origens e intensidades, resultando na interação entre ambientes terrestre, marinho e de água doce em regiões tropicais e subtropicais (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; SPALDING *et al.*, 2010). Ainda, segundo Schaeffer-Novelli; Cintrón Molero (1999), possuem importância histórica e socioeconômica, servindo como sítio de pesca e mariscagem para muitas comunidades ao longo da costa brasileira.

O manguezal é um ambiente altamente produtivo com grande importância na ciclagem de nutrientes; além disso, ajudam a evitar o assoreamento do leito estuarino e atuam como barreiras biogeoquímicas à exportação de metais, seja por sua retenção nos sedimentos, nos tecidos vegetais e animais (PINHEIRO *et al.*, 2012). Entretanto, esse ecossistema tem se mostrado como um dos ecossistemas tropicais mais ameaçados, especialmente por poluentes oriundos de atividades antrópicas (BAYEN, 2012; NORDHAUS, 2006).

O manguezal presente na região portuária de São Luís (Maranhão) abriga várias espécies de crustáceos que estão ameaçadas pelos impactos causados por poluentes oriundos das atividades deste complexo portuário. Essa região portuária apresenta o porto público (Itaquí) e os terminais industriais da Ponta da Madeira e Alumar, que são importantes em níveis internacional, nacional e local, permitem o embarque e



desembarque de produtos geradores de renda relevantes para o crescimento da economia global (CARVALHO NETA *et al.*, 2019).

Pesquisas indicam a magnitude desse complexo portuário, pois “Nele aportam consecutivamente inúmeros navios de grande calado, transportando os mais diversificados produtos industrializados, além de sub-produtos extraídos do petróleo, embarcando também uma grande quantidade de minério para várias partes do mundo” (ALCÂNTARA; SANTOS, 2005). Entretanto, esses produtos contribuem para contaminação por meio dos poluentes oriundos da atividade portuária, como por exemplo óleo ou substâncias derivadas, que acentuam os efeitos devastadores desses compostos sobre o equilíbrio da cadeia ecológica (CANTAGALLO *et al.*, 2007), especialmente em regiões de sedimentos finos como é o caso dos manguezais.

No ecossistema manguezal, *U. cordatus* é um dos recursos pesqueiros mais importantes em toda sua área de ocorrência (IVO; GESTEIRA, 1999), sendo a sua exploração uma das atividades extrativistas mais antigas em áreas litorâneas, que gera emprego, renda e subsistência às comunidades pesqueiras ribeirinhas (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001). Esta espécie tem sido capturada além de sua capacidade de crescimento e recomposição populacional, (PINHEIRO *et al.*, 2005). Esses organismos são sensíveis aos poluentes de origem antrópica e podem mostrar alterações bioquímicas e morfológicas em diferentes tecidos (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013).

Essas alterações podem ser validadas para diferentes espécies e são conhecidas como biomarcadores (VAN DER OOST *et al.*, 2003). Dessa forma, a utilização de biomarcadores em *U. cordatus*, direcionarão intervenções em tempo hábil visando monitorar os impactos ambientais e que conseqüentemente contribuirão para a geração de informações científicas para o monitoramento da mesma.

### **3.2 Monitoramento ambiental**

O crescimento populacional urbano nas últimas décadas tem sido responsável pelo aumento significativo das atividades antrópicas sobre os recursos naturais (GOULART; CALLISTO, 2003). O que tem auxiliado para a aceleração de processos de degradação dos rios, lagos e mares, especialmente da qualidade ambiental desses ecossistemas (CORGOSINHO *et al.*, 2004; CALLISTO *et al.*, 2001). Originando graves conseqüências para o ambiente, para as espécies e para a saúde pública das populações (MARCHESAN *et al.*, 2007, SONDERGAARD, 2007). Portanto, observa-se a uma alta necessidade de se

avaliar e monitorar as alterações ambientais e suas consequências sobre os recursos hídricos, principalmente com metodologias que auxiliem servem de instrumento para medir a sanidade dos ecossistemas aquáticos (PIVETTA *et al.*, 2001).

Monitoramento ambiental consiste no conjunto de medições e/ou observações de parâmetros de forma frequente, sendo usado para controle ou medida de informação da qualidade ambiental. Mas o foco, as estratégias de amostragem e os métodos analíticos utilizados no monitoramento devem ser bem-definidos, a fim de se obter resultados confiáveis (POZZA; SANTOS, 2017).

Segundo o Ministério do Meio Ambiente - MMA (2009) entende-se por monitoramento ambiental o conhecimento e acompanhamento sistemático da situação dos recursos ambientais do meio físico e biótico, visando a recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental. O monitoramento ambiental permite, compreender melhor a dialética da relação sociedade e natureza, bem como possibilita o entendimento do resultado das inserções antrópicas ocorridas no ambiente, além disso, proporciona o diagnóstico sobre os fatores que influenciam o estado de degradação, preservação, conservação e recuperação ambiental da área estudada. Também subsidia medidas de remediação, recuperação, ordenamento e planejamento, além de legitimar a definição de políticas ambientais Embrapa (2016).

Esses estudos auxiliam como atividade preventiva, desenvolvida para evidenciar ou medir um risco. Assim, os estudos de monitoramento ambiental têm fornecido subsídios para uma análise mais detalhada sobre a situação dos ambientes (RODRIGUES *et al.*, 2008). Portanto, percebe-se assim, que o uso dessas técnicas de avaliação da saúde ambiental, pode trazer resultados satisfatórios no monitoramento das regiões aquáticas (TORRES, 2015).

### **3.3 Monitoramento ambiental em manguezais**

Os estudos de contaminantes sobre o ambiente e sua biota fornecem informações detalhadas sobre a situação do ambiente (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006); além disso, o efeito de contaminantes sobre o ecossistema e sua fauna é um processo complexo e dispendioso, pois os efeitos macroecológicos (alterações em populações e comunidades), somente são evidentes após períodos de exposição crônica ou aguda (MOORE *et al.*, 2004).

Assim, o monitoramento ambiental e acompanhamento da situação dos recursos ambientais auxiliam na recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental



(Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2009). Dessa forma, monitorar os ambientes auxilia a elucidação dos mecanismos iniciais de degradação (por exemplo, nível molecular e/ou celular) podendo garantir uma compreensão mais rápida sobre a situação do meio ambiente (SOUZA, 2016).

Nesse contexto, destacam-se os manguezais como ambientes que oferecem condições propícias à alimentação e reprodução de muitas espécies, desempenhando um importante papel ecológico como berçário natural, fonte de abrigo e alimento (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; PINHEIRO *et al.*, 2008; SCHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 2016). Além disso, são ambientes altamente produtivos que fornecem consideráveis benefícios ecológicos, econômicos e culturais (ANDRADE, 2016).

Os manguezais são Áreas de Preservação Permanente (APPs) de acordo com o Código Florestal (Lei nº 7.803, de 15 de julho de 1989). Estas áreas apresentam relevância ecológica sobre o ciclo de vida de várias espécies de moluscos, crustáceos e peixes (FAO, 2007; SPALDING *et al.*, 2010), servindo como *habitat* e área de berçário para muitos espécimes juvenis de peixes e crustáceos que possuem importância socioeconômica, tanto direta quanto indireta (MACFARLANE *et al.*, 2007). Além disso, por ser uma área costeira rica, o manguezal exerce papel importante na vida da população ribeirinha, visto que é dele que é retirado o próprio alimento humano, como mariscos, peixes e crustáceos (ONOFRE *et al.*, 2007), pois representam excelentes fontes de proteína animal com grande valor nutricional (SCHAEFFER-NOVELLI, 2002).

Apesar de sua importância, este ecossistema tem sofrido impactos severos, onde menos da metade da extensão original de manguezais permanecem no mundo atualmente, e metade desses “habitats” remanescentes estão degradados (CARNEIRO *et al.*, 2018), estimando-se que cerca de 50% de sua área total já tenha tido sua vegetação suprimida ou convertida por atividades antrópicas, como a implantação de indústrias, portos, infraestruturas de urbanidade e tanques de aquicultura (FAO, 2007; SPALDING *et al.*, 2010). Essas atividades têm causado a lenta extinção da fauna, flora e microrganismos associados ao ambiente natural pela emissão de contaminantes (AGORAMOORTHY *et al.*, 2008) que têm agido de forma contínua como estressores aos organismos desses ambientes (ABESSA, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2008).

Conforme Souza (2016), as ações antrópicas têm acarretado expressivo aporte de compostos químicos aos ambientes aquáticos, onde são acumulados na forma inerte ou tóxica, particularmente nos sedimentos. Os contaminantes ficam biodisponíveis e podem ser encontrados nos diferentes nichos tróficos, causando desequilíbrios



fisiológicos nos níveis individual, populacional, de comunidade ou até mesmo ecossistêmico.

Por isso, então, a necessidade de avaliação e monitoramento de áreas que sofrem com fatores antropogênicos, uma vez que essas atividades podem causar grandes impactos ao ambiente, sendo relevante citar também que as espécies capturadas próximas aos locais contaminados e que servem de alimento podem trazer consigo riscos à saúde pública (ANDRADE 2016).

Estes aspectos evidenciam a necessidade de monitoramento dos efeitos dos contaminantes nos organismos aquáticos destes ecossistemas (TORRES, 2015), sendo necessárias análises para avaliar a toxicidade e a capacidade de suportarem compostos tóxicos que causam efeitos danosos aos organismos (CESAR *et al.*, 1997).

Pesquisas com biomarcadores de contaminação aquática em crustáceos de áreas influenciadas por atividades antrópicas são eficazes para o monitoramento ambiental (CARVALHO-NETA *et al.*, 2012; PINHEIRO-SOUSA *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2013; CARVALHO-NETA *et al.*, 2014), uma vez que possibilitam resultados em curto prazo, além de ser metodologia de fácil execução que ajuda de forma preditiva, possibilitando melhor gestão ambiental e contribuindo com a conservação dos estoques pesqueiros, minimizando danos severos nesses ambientes. Existe, portanto, a necessidade do uso de biomarcadores para investigar a qualidade dos manguezais, especialmente com a validação de grupos biológicos bênticos como espécies biomonitoras de qualidade ambiental.

### **3.4 Monitoramento ambiental em regiões portuárias**

Nas regiões portuárias muitos são os agentes potencialmente contaminantes (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995), resultantes de suas atividades, que não se resumem apenas aos aspectos de manuseio de carga, que acontecem próximo ao cais e em suas adjacências mais também envolvem consequências ambientais, sendo que, muitas vezes, essas consequências vão além dos limites legais desses portos (AAPA, 1998; PORTO, 2011).

As atividades portuárias ocasionam alterações na dinâmica costeira, podendo induzir alterações na linha de costa, supressão de ecossistemas marinhos ou costeiros, alterações na paisagem, além do comprometimento dos recursos ambientais, essas atividades causam alterações graves nas comunidades aquáticas (CUNHA, 2008).

No Brasil, pesquisas descrevem que as instalações portuárias geram resíduos químicos que são prejudiciais aos organismos; esses estudos relatam impactos significativos nos animais que foram submetidos ao estresse ambiental decorrente da exposição a substâncias químicas (metais pesados, benzeno, fenóis totais, tributilestano - TBT e bifenilas policloradas - PCB) oriundas das atividades portuárias (CARVALHO NETA; ABREU SILVA, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2012; SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO NETA, 2013; DE ALMEIDA DUARTE *et al.*, 2017;; BATISTA, 2019, JESUS *et al.*, 2020).

Nesse contexto, na região portuária da Baía de São Marcos no Maranhão, estão localizados o porto do Itaqui e os terminais privados das empresas VALE e ALUMAR/ALCOA, e que foram implantados em áreas de manguezais (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010), um local de intensa atividade portuária, que corresponde como o segundo maior e importante complexo portuário da América Latina (OLIVEIRA *et al.*, 2019). O complexo portuário de São Luís-MA é importante, pois permite o embarque e desembarque de produtos geradores de renda que contribuem para o crescimento da economia global (CARVALHO NETA *et al.*, 2019).

O que nessa região proporciona uma extensa área, onde ocorre a movimentação de navios que transportam diferentes produtos químicos (ferro, manganês, bauxita, soda cáustica, alumina) que são comercialmente importantes para o estado e para o Brasil (CARVALHO NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012; SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO NETA, 2013; CASTRO *et al.*, 2018).

O monitoramento da biota aquática dessas áreas ainda não é realizado de forma sistemática, mesmo sendo ambientes legalmente protegidos e com comprovada importância ecológica e socioeconômica (ANDRADE, 2016).

O que dessa forma, revela que investigações sobre a qualidade de áreas como essas são relevantes, uma vez que os manguezais correspondem a ambientes tropicais bastante ameaçados e pesquisas contribuem para preencher tais lacunas, contribuindo com a avaliação do impacto da poluição química sobre os ecossistemas de manguezais e sobre as pessoas que dependem destes ambientes para seu sustento, explorando, por exemplo, peixes e crustáceos (especialmente camarões e caranguejos) (BAYEN, 2012).



### 3.5 *Ucides cordatus* como espécie biomonitor

Dentre os recursos extraídos dos manguezais destaca-se *Ucides cordatus*. A captura dessa espécie é uma atividade econômica importante conduzida em escala comercial no Brasil (VIEIRA *et al.*, 2004; SAINT-PAUL, 2006). Esse crustáceo é um dos principais recursos extraídos dos manguezais da Ilha de São Luís, sendo um produto bastante consumido pela população maranhense (SOUSA *et al.*, 2007). Wolff *et al.* (2000), Santos (2002), Glaser; Diele (2004), ressaltaram que *U. cordatus* é uma espécie de grande importância econômica, constituindo fonte de renda para parte da população com baixo poder aquisitivo das regiões Norte e Nordeste do Brasil.

*U. cordatus* também desempenha funções importantes dentro do manguezal, como processamento da serrapilheira, fluxo energético, ciclagem de matéria orgânica e bioturbação do sedimento (NORDHAUS *et al.*, 2006). É uma espécie resistente com habilidade de suportar condições adversas como disponibilidade limitada de água (devido às inundações da maré e exposição do substrato), alta salinidade intersticial e baixa concentração de oxigênio nas galerias (LIMA *et al.*, 2010), sendo considerada bioturbadora e tendo participação na ciclagem de nutrientes (ALMEIDA *et al.*, 2011).

É uma espécie considerada como importante biomonitor de qualidade ambiental, pois além de ser encontrado em grande parte do litoral brasileiro, demonstra grande sensibilidade a diversos poluentes (SANTOS, 2002).

Nudi *et al.* (2007), descreveram a espécie *U. cordatus* como biomonitor da presença de óleo em manguezais. A espécie também pode ser utilizada como biomonitor da presença de metais, uma vez que a exposição a estes poluentes revelou sinais de comprometimento do seu sistema hormonal (CORRÊA JR. *et al.*, 2000; HARRIS; SANTOS, 2000). Toledo *et al.* (2007) destacaram a eficiência de *U. cordatus* como biomonitor de genotoxicidade em áreas de manguezal, propiciando a conservação e o biomonitoramento ambiental.

Muitas espécies de invertebrados aquáticos têm sido utilizadas para avaliação da qualidade ambiental (DEPLEDGE; FOSSI, 1994). A utilização de *U. cordatus*, por exemplo, como biomonitor é importante nos estudos de biomonitoramento, pois uma breve exposição dessa espécie a poluentes é capaz de causar mudanças metabólicas significativas, podendo comprometer processos vitais (TOLEDO, 1999; SANTOS, 2002).

A espécie *U. cordatus* tem se revelado uma espécie importante nos estudos de biomonitoramento uma vez que pode sofrer alterações bioquímicas e morfológicas em diferentes tecidos a partir da exposição a um contaminante (ANDRADE, 2016). Nesses casos, quando se analisam as respostas biológicas (biomarcadores) em *U. cordatus* em ambientes impactados e naqueles relativamente livres de impactos, a espécie pode ser validada como biomonitora (CARVALHO NETA *et al.*, 2019). Assim, estudos com a espécie de maior consumo no Brasil, onde sua carne é bastante apreciada são relevantes, tendo em vista que esta sofre com os impactos decorrentes das atividades humanas nos manguezais (ANDRADE, 2016). Dessa forma, o conhecimento das respostas biológicas da espécie é importante tanto no contexto ambiental quanto de saúde pública.

### **3.6 Biomarcadores histológicos em brânquias**

Bioindicadores e biomarcadores têm sido amplamente utilizados para avaliar a contaminação de áreas impactadas (NUNES *et al.*, 2015; TABASSUM *et al.*, 2016). Os biomarcadores podem ser mensurados a partir de diferentes órgãos dos caranguejos, como por exemplo, hepatopâncreas (respostas bioquímicas) e brânquias (respostas morfológicas) (ANDRADE, 2016). Ao escolher um bioindicador, o pesquisador precisa observar algumas características importantes e de acordo com o estudo a ser desenvolvido, já que um bioindicador “ideal” deve apresentar abundância no ambiente, deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência a contaminantes a que possivelmente será exposto, assim como se adaptar a ensaios laboratoriais (AKAISHI, 2003). Dessa forma, alterações branquiais e hepáticas em tecidos funcionam como metodologia sensível para detectar efeitos de compostos químicos em órgãos-alvo (SCHWAIGER, *et al.*, 1997).

As brânquias por estarem em contato direto com a água, tornam-se um importante órgão bioindicador pois possuem a capacidade de acumular muitos compostos tóxicos (AYADI *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2012; GARMENDIA *et al.*, 2010; ILENA *et al.*, 2012), que são nocivos e desencadeiam processos degenerativos de suas células (AMEUR, 2015; MAHARAJAN *et al.*, 2015; VASANTHI *et al.*, 2014).

Este órgão é responsável por várias funções, como trocas gasosas, osmorregulação, excreção de produtos nitrogenados e balanço ácido-base. Portanto, se este órgão for comprometido, a saúde do organismo estará em risco (CENGIZ; UNLU, 2005). Além disso, as brânquias são consideradas rota importante para a excreção,



bioconcentração e absorção de contaminantes por sua ampla área de superfície (AMEUR, 2015; RODRIGUES-BATISTA *et al.*, 2018).

As mudanças morfológicas das brânquias são importantes abordagens no diagnóstico e nas consequências fisiológicas do organismo quando expostos a ambientes contaminados (ROMÃO *et al.*, 2006), uma vez que representam um dos primeiros órgãos a serem afetados por xenobióticos que se encontram dissolvidos na água, e entram em contato direto e permanente com potenciais agentes tóxicos (BERNET *et al.*, 1999), as brânquias também se tornam permeáveis a outros materiais (RUPPERT *et al.*, 2005), apresentando-se como órgãos de grande relevância científica para a área de Ecotoxicologia Aquática (ANDRADE, 2016).

### 3.7 Biomarcadores histológicos em hepatopâncreas

Em crustáceos, o hepatopâncreas é o principal local de armazenamento de lipídeos (O'CONNOR; GILBERT, 1968; PELLON-MAISON *et al.*, 2009). É um órgão análogo ao fígado, combinando as funções do fígado, pâncreas e intestino de vertebrados, possuindo também como funções absorção, digestão, armazenamento e secreção de substâncias (CARNEIRO *et al.*, 2018).

É um órgão que auxilia na desintoxicação de um organismo, pois possui a capacidade de transformar compostos em moléculas menores para excretá-las (COSTA *et al.*, 2015), além disso, em crustáceos, é conhecido por reduzir os efeitos adversos de metais tóxicos na circulação (MAHARAJAN *et al.*, 2015; NEGRO; COLLINS, 2017).

Este órgão na maioria dos crustáceos está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade estrutural entre as espécies, dentre os decápodes, o hepatopâncreas é particularmente bem desenvolvido e forma uma rede complexa de ductos e túbulos que ocupa a maior parte da cavidade cefalotorácica (GIBSON; BARKER, 1979).

O hepatopâncreas exerce muitas funções nos crustáceos, especialmente relacionada com a digestão, agindo na regulação do metabolismo (aminoácidos, carboidratos, vitaminas, carbono e nitrogênio), ajuda na síntese e secreção de enzimas, absorção de nutrientes, armazenamento de lipídios, glicogênio e cálcio, excreção metabólitos nitrogenados e síntese e liberação de hormônios e proteínas (e.g. vitelogenina) (VOGT, 2019; WEEL, 1974). Este órgão, nos crustáceos auxilia na defesa imunológica, (RÖSZER, 2014), auxilia ainda na detoxificação de xenobióticos (BHAVAN;



GERALDINE, 2001; SOUSA; PETRIELLA, 2007) e também é considerado o maior centro metabólico responsável pela produção de espécies reativas de oxigênio em crustáceos (ARUN; KRISHNAMOORTHY; SUBRAMANIAN, 1999).

Assim, quando expostos aos contaminantes presentes no ambiente, as funções do hepatopâncreas são comprometidas, bem como suas estruturas podem sofrer deformações (BATISTA, 2017; WALKER *et al.*, 2010).

Trabalhos já evidenciaram a presença de alterações histológicas como necrose, células B vacuolizadas, camada mioepitelial danificada, alterações no formato do lúmen (BATISTA, 2017; BATISTA, 2019; JESUS *et al.*, 2020), e, portanto, essas lesões servem como sinais de agentes estressores e auxiliam para a avaliação dos efeitos dos poluentes presentes nos manguezais (MAHARAJAN *et al.*, 2015; NEGRO, 2015).

Dessa maneira, o monitoramento dos efeitos dos xenobióticos nos organismos aquáticos se faz necessário e de forma contínua para um diagnóstico mais detalhado e seguro sobre a saúde dos organismos e populações desse ecossistema na costa maranhense, tornando cada vez mais a utilização de biomarcadores como metodologia eficaz nesse diagnóstico (CARVALHO-NETA, 2010; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010, 2013; CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012; SOUSA; CARVALHO-NETA, 2012; ANDRADE, 2016).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Área de estudo**

O estado do Maranhão está situado na porção norte brasileira, contém uma área de aproximadamente 333.365,6 km limitando-se ao norte com o Oceano Atlântico, numa extensão litorânea de 640 km, (MARANHÃO, 2002), estendendo-se pela foz do Rio Gurupi, na divisa com o estado do Pará, até o Delta do Parnaíba, no limite com o estado do Piauí, sendo o segundo litoral mais extenso do Brasil.

A área conhecida como Golfão Maranhense é formada por duas grandes baías (São Marcos e São José) separadas pela Ilha de São Luís e abriga quatro municípios: São Luís, São José de Ribamar, Raposa e Paço do Lumiar. Esta região faz parte de uma zona costeira marcada por estuários e reentrâncias no noroeste do Maranhão, que apresenta cerca de 5.414 km<sup>2</sup> de manguezais. (SOUZA FILHO, 2005).

Esta zona costeira, que constitui o maior sistema contínuo de manguezais do mundo, foi designada por Souza Filho (2005) como Costa de Manguezais de Macromaré

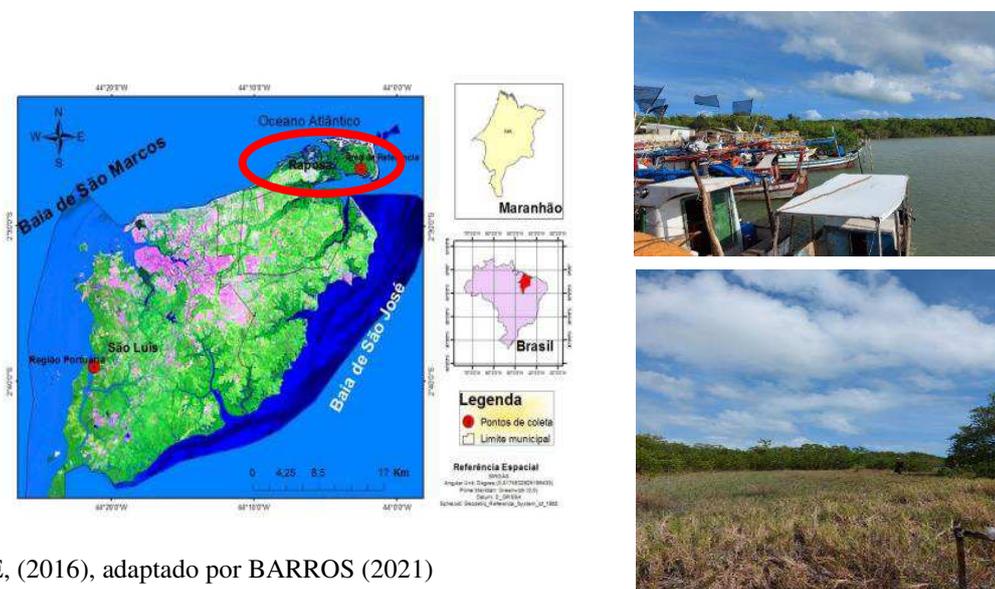
da Amazônia (CMMA). Na área litorânea do Golfão Maranhense encontram-se características comuns ao litoral ocidental com formação de apicuns, baías, braços de mar, cordões arenosos, furos, ilhas, manguezais, áreas de várzea, e ao litoral oriental como cordões arenosos e praias.

O clima é do tipo quente e úmido, com dois períodos estacionais bem distintos, um chuvoso (janeiro a junho) e outro de estiagem (julho a dezembro). De acordo com Ferreira (1988), a região destaca-se ainda por possuir dupla penetração de onda de maré através das baías de São Marcos e São José, conseqüentemente, processos hidrodinâmicos e de mistura (advecção e difusão) estão diretamente relacionados com as correntes de marés provenientes dessas baías.

No âmbito deste trabalho dentro do Golfão Maranhense, a pesquisa foi dividida em duas áreas, sendo o município de Raposa, que está situado cerca de 30 km de São Luís, utilizado como área de menor impacto, uma vez que não apresenta empreendimento portuário de grande porte e não há moradia por perto. Além disso, é um local onde a pesca por esse recurso, o caranguejo ainda é muito forte pelos catadores locais, sendo que os mesmos fazem coletas nesses locais em que as comunidades exploram o caranguejo-uçá.

Esse recurso pesqueiro serve para o consumo e para a economia, tendo em vista que esses caranguejos são distribuídos em feiras como forma de renda dos pescadores (ANDRADE, 2016) (Figura 1). A região de Raposa encontra-se no quadrante nordeste da ilha do Maranhão entre as coordenadas de 02° 25' 22''S e 44° 05' 21''W. A vegetação nessa região é predominante de mangue e apresenta rica fauna e flora (SANTOS *et al.*, 2011).

**Figura 1.** Área de captura do caranguejo *U. cordatus*, Baía de São José – Raposa – área de menor impacto)

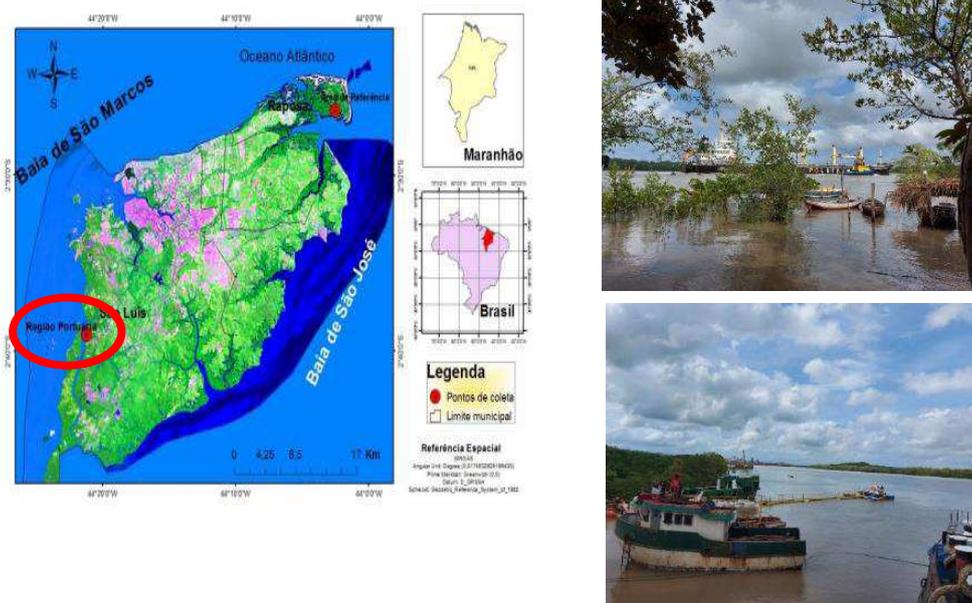


Fonte: ANDRADE, (2016), adaptado por BARROS (2021)

A segunda área de coleta localiza-se no município de São Luís (Porto Grande) ( $02^{\circ} 45' 77''$  S e  $44^{\circ} 21' 28''$  W) utilizado como área mais impactada. Em função da instalação do complexo portuário é uma região onde a atividade portuária é intensa diante das movimentações de navios cargueiros e graneleiros, das instalações de portos e de cerca de 30 empresas nas proximidades, caracterizando-se como o segundo porto que mais movimenta cargas no Brasil (ANTAQ, 2019).

Nessa região observa-se um local de intensa movimentação de navios no Terminal da ALUMAR/ALCOA, onde ocorre a movimentação de produtos químicos como o alumínio/alumina e bauxita. Além disso, nas proximidades são observados locais com embarcações atracadas e outros servindo para a limpeza de embarcações (BATISTA 2017) (Figura 2). Esses impactos já foram descritos em alguns trabalhos realizados com a espécie para essa região e já foram publicados em artigos científicos, dissertações de mestrado e TCCs (Tabela. 1). Esses trabalhos descrevem que a Baía de São Marcos é uma região que vem recebendo impactos decorrentes de contaminantes químicos oriundos de atividades humanas.

**Figura 2.** Segunda área de captura do caranguejo *U. cordatus*, Baía de São Marcos (Porto Grande, Região Portuária - área potencialmente contaminada, Maranhão, Brasil.



Fonte: ANDRADE, (2016), adaptado por BARROS (2021)

**Tabela 1.** Lesões descritas em brânquia na Baía de São Marcos- São Luís Maranhão e áreas de referência

<b>Lesão</b>	<b>Localização</b>	<b>Referência</b>	<b>Tipo de Trabalho</b>
Dilatação do canal marginal Ruptura das células pilastras Deslocamento cutículas Rompimento da cutícula Colapso lamelar Colapso lamelar e edema do tecido Desorganização lamelar Necrose Hiperplasia.	Ilha dos Caranguejos (02°50' 26 S"; 44°30' 61'' W), Coqueiro (02° 40' 21'' S; 44° 21''65'' W),  Porto Grande (02°45''77'' S; 44°21' 28'' W), Cajueiro (02°36' 93'' S; 44°21' 52'' W)	Jesus <i>et al.</i> , 2021	Artigo
Rompimento das células pilastras Deformação do canal marginal Deslocamento da cutícula Ruptura da cutícula.	Ilha dos Caranguejos (02°50'26 S'' e 44° 30'61'' W), Coqueiro (02°40',21'' S e 44° 21''65'' W),  Porto Grande (02° 45''77'' S e 44° 21'28'' W), Cajueiro (02° 36'93'' S e 44° 21'52'' W)	Jesus <i>et al.</i> , 2020	Artigo
Colapso lamelar Colapso lamelar e inchaço do tecido Hiperplasia Infiltração de hemócitos Nódulos melanizados Ruptura de cutícula Cutícula destacada Necrose Ruptura das células da pilastra Dilatação do canal marginal	Baía de São Marcos  (02 ° 43'13"S, 44 ° 21'39"W),  Ilha do Facão, Raposa, Baía de São José (02 ° 25'13"S, 44 ° 05'12"W)	Jesus <i>et al.</i> , 2020	Artigo
Deformação do canal marginal Rompimento de células pilastras Colapso lamelar Necrose Hiperplasia;	Zona portuária (P1) (2°42'57.3"S 44°21'43.4"W). Próximo a comunidade de Coqueiro e ao porto da Alumar/ALCOA no município de São Luís,  rio Paciência (P2) (2°26'37.8"S 44°03'39.6"W). região localizada na ilha do Facão, município de Raposa	Protazio, 2020	Dissertação
Deformação do canal marginal Necrose Infiltração hemocítica Inchaço das lamelas Colapso das lamelas	Baía de São Marcos, Ilha do Facão, Baía de São José (02 ° 25'13"S, 44 ° 05'12"W)	Carvalho-Neta <i>et al.</i> , 2019	Artigo



Deformação do canal marginal Rompimento das células pilastras Hiperplasia Colapso lamelar Ruptura da cutícula Necrose Descolamento da cutícula Redução do espaço inter lamelar Inchaço e alargamento das lamelas secundárias Parasitas	Baía de São Marcos (região portuária) (02 ° 43'13"S, 44 ° 21'39"W) e Baía do Tubarão	Costa, 2020	TCC
Colapso Lamelar, Deformação do canal marginal, Deslocamento Cutícula Rompimento das células pilastras Necrose	Complexo Estuarino São Marcos (2° 42'57,27 "S 44° 21'43,43" W);  Estuário do rio Paciência (2° 26 ~ 37,8 "S 44° 03 ~ 39,6" W).	Oliveira, 2019	Artigo
Deformação do canal marginal Colapso lamelar Ruptura de células pilastras Descolamento da cutícula Necrose	baía de São Marcos (complexo estuarino de São Marcos) (02 ° 43'13"S, 44 ° 21'39"W), estuário do rio Paciência está situado na porção nordeste da ilha de São Luís (2 ° 26 ~ 37,8 "S 44 ° 03 ~ 39,6" W).	Oliveira, 2018	Dissertação
Ruptura de células pilares Necrose Deslocamento e rompimento da cutícula Deformação do canal Marginal Infiltração Hemocítica Desarranjo das lamelas secundárias Aumento das lamelas secundárias	Baía de São Marcos, (02 ° 43'13"S, 44 ° 21'39"W)  ilha de Facão na Baía de São José (02 ° 25'13"S, 44 ° 05'12"W)	Andrade 2016	Dissertação

#### 4.2 Táxon *Ucides cordatus*

Conhecido popularmente no Brasil como caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Figura 3), um caranguejo semiterrestre pertencente à Família *Ucididae* é espécie endêmica do ecossistema manguezal (COSTA, 1979), distribuído na costa atlântica ocidental, desde o estado da Flórida (Estados Unidos) até no (Brasil) (De OLIVEIRA *et al.*, 2013) do Amapá até o estado de Santa Catarina (MELO, 1996).



**Figura 3.** Exemplo de caranguejo *Ucides cordatus*



Fonte: Arquivo pessoal/2021

O caranguejo-uçá é definido como um caranguejo eurialino de grande porte (MELO, 1996), capaz de suportar variações bruscas de salinidade, de 2 a 33 ppm, (MARTINEZ *et al.*, 1998). São organismos que vivem na zona de mesolitoral e supralitoral, em substrato preferencialmente de silte e argila (ALENCAR, 2011). Habita galerias ou tocas com profundidade de até dois metros, ocupadas geralmente por um único indivíduo (BRIGHT; HOGUE, 1972).

Apresenta hábito alimentar essencialmente herbívoro, estocando folhas senescentes de mangue em suas galerias subterrâneas, o que possibilita sua participação no processo de ciclagem de nutrientes (PEROTE, 2010) e no aumento do fluxo de energia na cadeia alimentar do manguezal (SCHORIES *et al.*, 2003). O alimento é forrageado durante a baixa-mar, nas proximidades das tocas. A dieta deste crustáceo é constituída por folhas de mangue (61,2%), material vegetal não identificado e detritos (28,0%), raízes (4,9%), sedimento (3,3%), casca de árvores (2,5%) e material animal, como crustáceos, poliquetas, insetos, bivalves e gastrópodes (0,1%) (NORDHAUS, 2003).

A atividade de captura de *U. cordatus* é uma das mais antigas práticas de extrativismo nos manguezais do Brasil, com muitas comunidades ribeirinhas ainda sobrevivendo de sua extração (Geo Brasil, 2002), principalmente no litoral nordeste do Brasil (ALENCAR *et al.*, 2014) gerando emprego, renda e subsistência às comunidades pesqueiras (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001).

De acordo com Amaral; Jablonski (2005), os aspectos como: sobrepesca, captura seletiva e degradação do habitat dessas espécies podem ser fatores que, em parte,

contribuíram para que *U. cordatus* tenha sido classificada como espécie ameaçada de extinção e, posteriormente, passado para a relação de espécies sobrepescadas ou ameaçadas de sobrepesca (MMA n° 5/04).

Além disso, é uma espécie com baixa taxa de crescimento e longo ciclo de vida (PINHEIRO *et al.*, 2005), abundantes e fácil de se capturar no campo (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001) sendo considerada como importante organismo biomonitor de contaminação (PINHEIRO *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2016). Possuem a capacidade de acumular contaminantes químicos (por diferentes vias), mas são resistentes à sua toxicidade e podem ser utilizados no controle da contaminação do ambiente marinho (NUDI *et al.*, 2007).

Nesse sentido, o caranguejo-uçá (*U. cordatus*) é um excelente bioindicador de poluição dos manguezais que pode sofrer diversos tipos de alterações sob a influência de xenobióticos (PINHEIRO *et al.*, 2013).

#### **4.3 Procedimento em campo**

A autorização legal para execução da pesquisa foi obtida junto ao SISBIO (Número de autorização 76372-1) que emitiu parecer favorável à coleta dos exemplares. As coletas foram realizadas nos meses de setembro, outubro e novembro de 2020, período que corresponde ao de estiagem e nos meses de fevereiro e maio de 2021 que correspondem ao período chuvoso. Em cada área foram coletados 10 espécimes totalizando 100 indivíduos adultos machos, que para fins de padronização, foram coletados na fase de intermuda, afim de evitar quaisquer efeitos do estágio da muda e do sexo (PINHEIRO E FISCARELLI, 2001; PINHEIRO *et al.*, 2012, ANDRADE, 2016, JESUS, 2019).

Com ajuda do catador (pescador artesanal) os caranguejos foram coletados dentro de suas tocas pela técnica de braceamento, que consiste na retirada do caranguejo utilizando-se do braço esticado até o fundo das mesmas (BATISTA, 2019), (Figura 4). Os animais foram capturados em pontos aleatórios pelo manguezal e logo depois foram acondicionados em caixas de isopor e transportados ao laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos da UEMA.

**Figura 4.** Coleta de *Ucides cordatus* em galerias pela técnica de braceamento



Fonte: Arquivo pessoal, 2020

Paralelamente à captura dos caranguejos foram registrados os parâmetros físico-químicos da água superficial (pH, O<sub>2</sub> dissolvido em ppm, temperatura °C, salinidade em ppm e condutividade mg/L) nas duas áreas de estudo (A1, A2) no período de estiagem e chuvoso, utilizando o equipamento multiparâmetro de marca AK88 (Figura 5).

**Figura 5.** Aferição dos dados parâmetros físico-químicos da água nos locais de coleta



Fonte: Arquivo pessoal, 2020

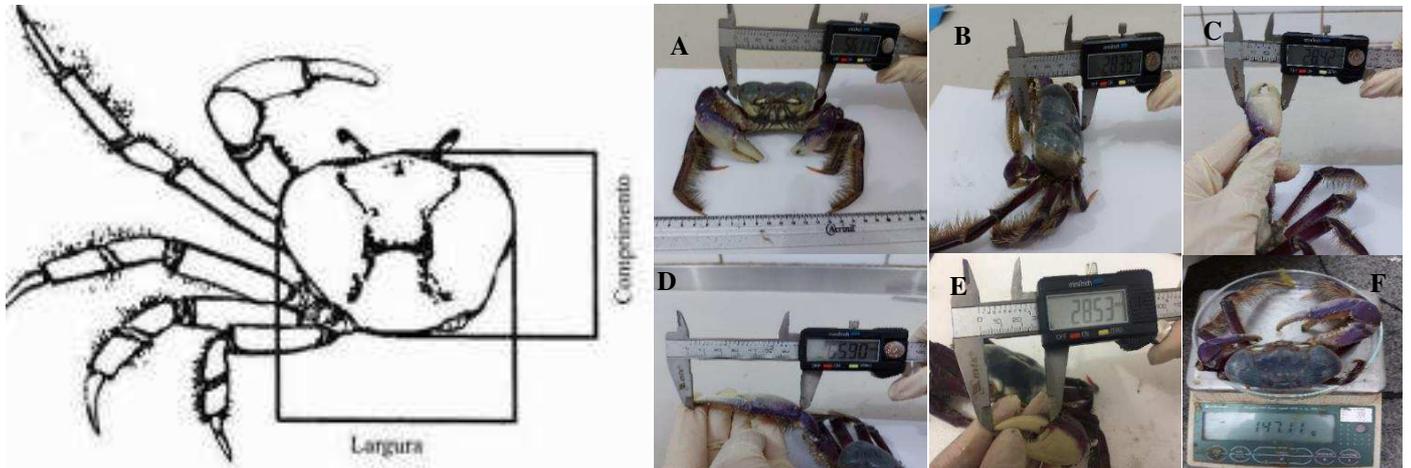
## 4.4 Procedimento laboratorial

### 4.4.1 Dados biométricos

Em laboratório os espécimes de caranguejos-uçá foram imediatamente processados para a obtenção dos dados biométricos com auxílio de um paquímetro de digital. Foram obtidos largura (LC) e comprimento do cefalotórax e (CC), largura e comprimento do própodo quelar (LPQ, CPQ) e comprimento do dedo móvel (CDM). O

peso total (PT) de cada indivíduo foi registrado com uma balança digital de precisão 0,1g (PINHEIRO *et al.*, 2012) (Figura 6).

**Figura 6.** Imagem de obtenção das medidas LC e CC (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001) e registro do LC, CC, LPQ, CPQ, CDM e peso total a partir de um paquímetro e balança digital



Legenda: (A) largura do cefalotórax (LC); (B) comprimento do cefalotórax (CC); (C e D) largura e comprimento do própodo quelar (LPQ, CPQ); (E) comprimento do dedo móvel (CDM); (F) peso total (PT)

#### 4.4.2 Retirada dos tecidos e fixação

Logo após a obtenção dos dados biométricos as amostras foram dissecadas com auxílio de tesoura e pinças para a remoção dos tecidos do hepatopâncreas e brânquias (Figura 7). As brânquias e hepatopâncreas foram removidos de cada exemplar e fixados em solução de Davidson durante 24 horas em potes identificados e lacrados. Após 24 horas os tecidos foram lavados e mantidos em álcool 70% até o processamento histológico usual (VASANTI *et al.*, 2014).

**Figura 7.** (A) Remoção das brânquias e dos hepatopâncreas de *U. cordatus*, (B) preservação dos tecidos



Fonte: Arquivo pessoal, 2021

#### 4.4.3 Análise histológica

Para a análise dos tecidos, as amostras de brânquias e hepatopâncreas foram desidratadas em série crescente de álcoois, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Logo em seguida foram obtidos cortes de aproximadamente 5 $\mu$ m de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

Em microscopia de luz, foram analisados um corte para cada órgão de cada animal. As alterações foram identificadas com base em Maharajan *et al.* (2015), Negro (2015), Vasanthi *et al.* (2014), Rebelo *et al.* (2000) e Bernet *et al.* (1999) "modificado" por Andrade, (2016), Oliveira, (2018), Batista, (2019) e Jesus (2020) e fotomicrografadas com auxílio de microscópio AXIOSKOP – ZEISS, utilizando-se da contagem do número de lamelas afetadas por cada patologia, em relação ao número total de lamelas em cada brânquia de acordo com Rebelo *et al.* (2000), e a contagem dos túbulos de hepatopâncreas identificando o número total de túbulos afetados por cada patologia.

#### 4.5 Análise estatístico dos dados

Os dados biométricos dos caranguejos são apresentados em média e desvio-padrão. Foi aplicado o teste t de Student para comparar as médias entre as áreas (contando com auxílio do programa estatístico PATS 4.03), levando-se em consideração o nível de significância de  $p < 0,05$ .

Os dados histológicos foram submetidos à análise multivariada de Bray-Curtis para verificação de dissimilaridade entre as lesões branquiais e hepáticas encontradas por

área. Para a comparação dos valores médios das lesões entre as áreas, foi aplicado o teste t de Student utilizando-se o programa estatístico PAST 4.03.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Dados biométricos de *Ucides cordatus* e parâmetros físico-químicos da água

Os resultados da análise biométrica de *U. cordatus* capturados em Raposa (área menos impactada) e em Porto Grande (potencialmente impactada) no período de estiagem e chuvoso podem ser observados na tabela 2.

**Tabela 2.** Média, desvio –padrão e valor de p pelo teste t de Student dos dados biométricos de *U. cordatus* capturados em duas áreas diferenciadas, durante o período de estiagem e chuvoso.

Parâmetros	ESTIAGEM			CHUVOSO		
	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student (p>0,05)	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student (p>0,05)
<b>PT</b>	145,8 ± 32,2	137,8 ± 19,75	0,25	125,3 ± 27,0	139,3 ± 32,5	0,15
<b>LC</b>	68,4 ± 6,28	68,8 ± 5,06	0,75	63,3 ± 5,08	64,5 ± 4,9	0,47
<b>CC</b>	49,6 ± 4,36	50,5 ± 3,56	0,38	44,6 ± 3,69	46 ± 4,8	0,32
<b>CPQ</b>	59,5 ± 13,2	59,3 ± 10,4	0,94	54,6 ± 7,91	58,3 ± 11,7	0,26
<b>LPQ</b>	24,8 ± 5,8	22,9 ± 5,11	0,18	23,8 ± 3,59	21,3 ± 5,2	0,09
<b>CDM</b>	33,9 ± 8,39	33,5 ± 6,80	0,82	28,4 ± 5,67	30,3 ± 7,5	0,38

Legenda: PT = peso total; LC= largura da carapaça; CC= comprimento da carapaça; CPQ= comprimento do própodo quelar; LPQ= largura do própodo quelar; CDM= comprimento do dedo móvel.

Os exemplares de *U. cordatus* coletados na região portuária (área mais impactada) apresentaram maiores médias de peso no período chuvoso. Já os espécimes capturados no período de estiagem apresentaram maiores médias de peso para a região de Raposa (área menos impactada), entretanto os valores de peso não apresentaram diferenças significativas entre os períodos sazonais e entre as áreas (p>0,05), diferenciando-se dos resultados encontrados por Batista (2019); Oliveira (2018) e Andrade (2016) para a mesma espécie na região portuária, onde os autores descrevem que os exemplares coletados no período chuvoso obtiveram médias de pesos menores do que os da área de menor impacto.

Entretanto os dados biométricos desta pesquisa corroboram com os resultados descritos por Carvalho-Neta *et al.* (2019); Oliveira *et al.* (2019); Jesus *et al.* (2020), para

espécie onde estes descrevem que os caranguejos de áreas menos impactadas são significativamente mais pesados quando comparados com aqueles de áreas impactadas como as regiões de zona portuária.

Pesquisas já descreveram concentrações elevadas de poluentes em regiões portuárias (CARVALHO-NETA *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2013; ANDRADE, 2016; CARVALHO-NETA *et al.*, 2019; de OLIVEIRA *et al.*, 2019; JESUS, 2020), como por exemplo, metais pesados, HPAs, entre outros, quando comparados com áreas de referências o que pode influenciar negativamente no desenvolvimento dos organismos aquáticos na região portuária de São Luís.

Sabe-se que uma população que vive em um ambiente rico em recursos alimentares, seus indivíduos possivelmente crescerão mais rápido (CASTIGLIONI *et al.*, 2013). Ao contrário, se não existem recursos alimentares suficientes, a população poderá sofrer com esse impacto por falta de alimento. Como a região de Porto Grande é um local de intensa atividade portuária, essa atividade pode influenciar negativamente na quantidade de alimento disponível e, conseqüentemente, na manutenção das populações de caranguejos desse ecossistema (BATISTA 2017).

Os dados para as médias de largura e comprimento da carapaça, demonstram que os organismos de Raposa (área menos impactada), foram menores que os caranguejos da área potencialmente impactada, em ambos os períodos, contudo, não foram encontradas diferenças significativas entre os períodos sazonais e entre as áreas ( $p > 0,05$ ).

Estes dados podem sugerir que a área de Raposa não está livre de impacto, que a mesma pode estar sendo influenciada por ações antrópicas, tendo em vista que este local é rota de turismo e passeios na região. Nesse local, a espécie pode estar recebendo algum tipo de estresse, de origem domésticas, industriais e/ou agrícolas que podem estar alcançando níveis de interação muito próximos aos organismos e influenciando na quantidade de energia investida no crescimento. Esses estresses originários dos impactos antrópicos podem levar a uma redução no tamanho corporal desses indivíduos (MOUREAUX *et al.*, 2011; JESUS 2020).

Estudos conduzidos com vertebrados Carvalho-Neta *et al.* (2014) e com invertebrados Andrade (2016) e Ocaña; Riviera (2016), Oliveira, (2019) e Jesus *et al.* (2020), relatam diferenças relacionadas ao tamanho e peso dos organismos quando estão sujeitos a ambientes com perturbações antrópicas. Isso ocorre devido ao investimento de energia para a desintoxicação de substâncias nocivas em seu organismo (MOUREAUX *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2016)



Pesquisas indicam que o nível de impacto dos manguezais têm influenciado negativamente nos parâmetros populacionais de espécies de crustáceos (JERGENTZA *et al.*, 2004; VIANA *et al.*, 2014; BARRILLI *et al.*, 2015; MORAES *et al.*, 2015), e fatores como temperatura, salinidade, pesca predatória e exposição a xenobióticos têm contribuído para reduzir o crescimento de organismos aquáticos (OLIVEIRA, 2018), uma vez que estes espécimes desviam sua energia de crescimento para desintoxicação (SANTOS *et al.*, 2016).

Os valores para os parâmetros abióticos da água estão apresentados na tabela 3. Os dados de pH entre as áreas e entre os períodos de estiagem e chuvoso na presente pesquisa não apresentaram variações significativas. Os dados para a região de Porto Grande estão próximos aos descritos nos trabalhos de Carvalho-Neta *et al.* (2012), Batista (2019) e Jesus *et al.* (2020). Já para a região de Raposa, os resultados corroboram com os descritos por Oliveira (2019) e Andrade (2016), onde estes autores descrevem o (pH 8) em ambas estações para a localidade próximo ao resultado desta pesquisa.

**Tabela 3.** Dados abióticos da água de Raposa e Porto Grande áreas de coleta de *U. cordatus* capturados no período de estiagem e chuvoso.

	PORTO GRANDE		RAPOSA		CONAMA/valores
	ESTIAGEM	CHUVOSO	ESTIAGEM	CHUVOSO	
<b>pH</b>	7,5	7,5	7,7	7,8	5-9 <sup>b</sup>
<b>Oxigênio dissolvido mg/L</b>	5,3	5,7	3,5	5,7	3>mg/L
<b>Temperatura °C</b>	31,3	29,2	28,4	25,9	28-32 °C <sup>b</sup>
<b>Salinidade ppm</b>	25	29,1	39,7	35,3	0,5- 30‰

Legenda: pH (potencial hidrogeniônico); DO (oxigênio dissolvido); °C (celsius); ppm (partes por milhão); mg/L (miligramas por litro)

A temperatura para a região de Porto Grande no período de estiagem foi de 31,3°C e para a época chuvosa 29,2°C. Resultados diferentes foram observados no período de estiagem por Batista, (2019), Ribeiro, (2020), Oliveira, (2019) e Protazio (2020) que descreveram para a região portuária temperaturas constantes de 29°C. Já para o período chuvoso a presente pesquisa obteve resultados semelhante aos descritos pelos mesmos autores com temperatura de 29°C.

Para a região de Raposa a temperatura esteve em torno de 28,4°C para a estiagem resultado semelhante aos observados por Ribeiro, (2020), Oliveira, (2019) e Protazio



(2020) que relatam temperatura na região em torno de 29°C. Já para o período chuvoso, nesta pesquisa a temperatura foi de 25,9°C dado que não corrobora com os resultados descritos pelos mesmos autores para a mesma época nessa região.

O oxigênio dissolvido (O<sub>2</sub>) apresentou valores de 5,3ppm na estiagem e no período chuvoso 2,8ppm na região de Porto Grande. Para a região de Raposa foi de 3,5ppm na estiagem e 5,7ppm no período chuvoso.

A salinidade nas duas áreas foi diferente, sendo menor em Porto Grande em ambos os períodos sazonais. Carvalho-Neta *et al.* (2012) e Jesus (2019), para a mesma região, descrevem valores próximos ao observado na presente pesquisa, entretanto, para a região de Raposa o valor da salinidade foi diferente dos descritos por esses autores em 2012 (15ppm) e 2019 (20 ppm). Na presente pesquisa esse dado se apresentou mais elevado (39,7ppm) na estiagem e (35,3ppm) no chuvoso. O que permite inferir que somente os valores de salinidade para a região de Raposa não estão de acordo com Resolução Conama nº357/2005 para águas salobras, todos os demais parâmetros abióticos para a região estão de acordo com a resolução.

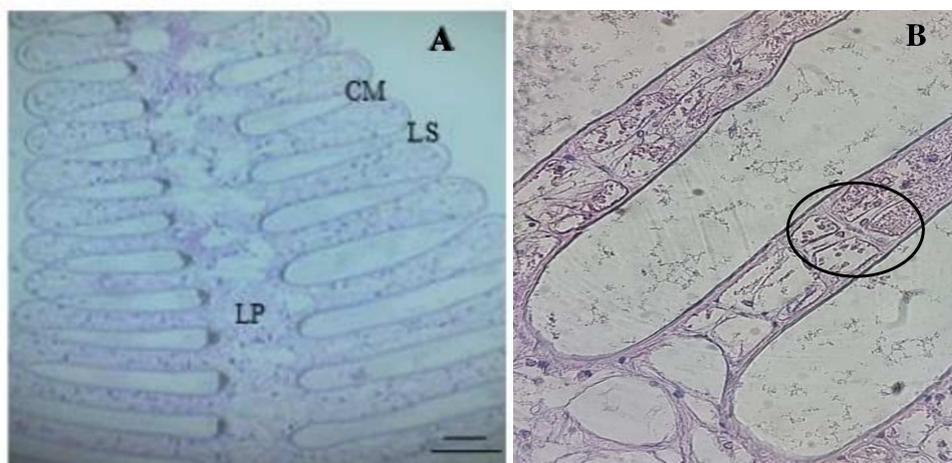
Para a região portuária todos os dados abióticos aferidos estão de acordo com a Resolução Conama nº357/2005 para águas salobras classe 3 (BRASIL, 2005).

## **5.2 Lesões branquiais encontradas em *Ucides cordatus* em Raposa (área menos impactada) e na região portuária (área mais impactada)**

A histologia da estrutura branquial em *U. cordatus* apresentou um padrão semelhante ao já exposto na literatura (MAHARAJAN *et al.*, 2015; NEGRO, 2015; ANDRADE, 2016; BATISTA, 2017; BATISTA, 2019; JESUS, 2020), (Figura 8A). As brânquias apresentam células pilastras (Figura 8B), que normalmente se caracterizam por apresentarem um formato de T (BATISTA, 2019).



**Figura 8.** Estruturas branquiais em *U. cordatus* coletados nas áreas de estudo Raposa (área menos impactada) e Porto Grande (área mais impactada), A) Brânquia normal: CM – canal marginal; LS – Lamela secundária; LP – Lamela primária B) Célula pilastra normal (círculo), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



Nos caranguejos as brânquias são órgãos formados por um epitélio fino e sensível que se diferencia em algumas estruturas. Esse padrão descreve as brânquias de crustáceos como sendo constituídas por um número de lamelas dispostas ao longo de um eixo de comando branquial onde no centro encontra-se a lamela primária (LP), que é a partir de onde se ramificam as lamelas secundárias (LS) entre as quais existem canais de água; no ápice das lamelas secundárias existe um canal marginal (CM), que também apresenta células pilastras, (MAHARAJAN *et al.*, 2015).

Além disso, as brânquias dos crustáceos são constituídas por uma fina cutícula que as envolve e que servem como proteção a impactos e agentes indesejáveis, funcionando como barreira (MAHARAJAN *et al.*, 2015; NEGRO, 2015). Todo esse conjunto é importante para o funcionamento normal do sistema respiratório desses organismos (COSTA, 2020).

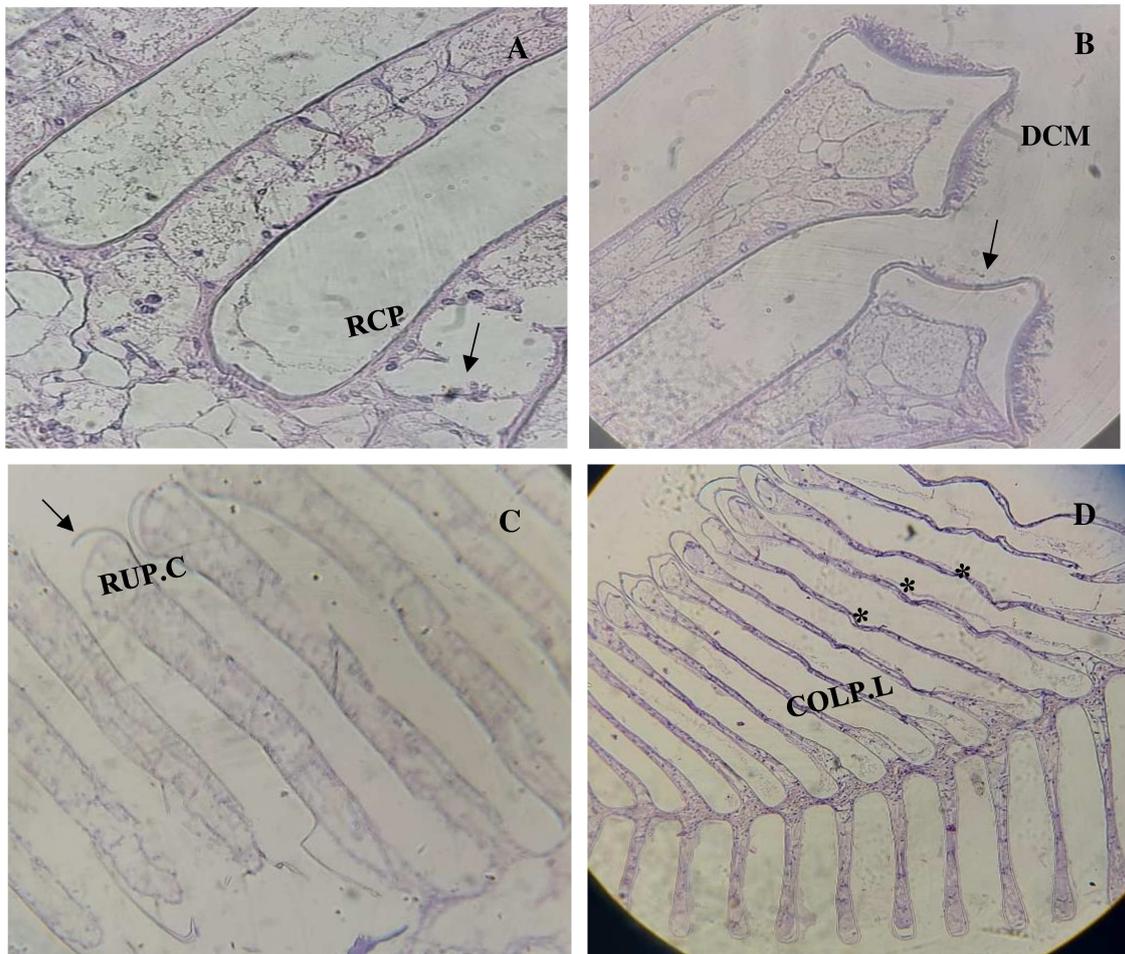
O epitélio da brânquia é a principal superfície de contato com o ambiente, constituindo importante alvo de poluentes presentes na água devido à sua extensa área superficial (WONG; WONG, 2000). O fato desse órgão estar exposto diariamente às impurezas da água provoca uma série de problemas, pois este é o primeiro a estar em contato com a poluição ambiental; e são altamente vulneráveis a produtos tóxicos, que em muitos casos podem causar a morte dos organismos devido à sensibilidade do epitélio branquial a substâncias tóxicas. A alta carga de poluentes presente na água pode causar

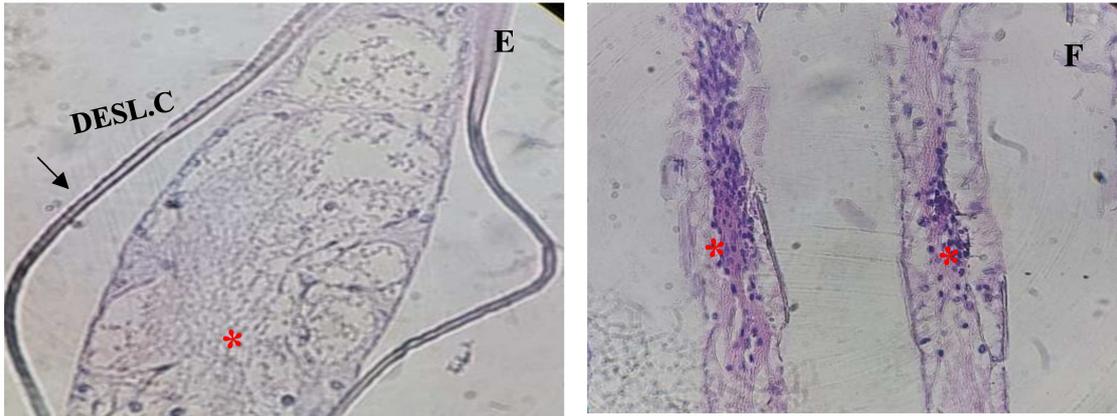
lesões irreversíveis às brânquias, levando o animal à morte (FREITAS *et al.*, 2013; NEGRO, 2015).

Quando essas estruturas branquiais sofrem ação de substâncias químicas, por exposição a esses contaminantes ou por estresse ambiental, elas tendem a se desorganizar e promover uma série de respostas biológicas indicativas de contaminação, ao que denominamos biomarcadores (BUSS, 2003, 2008).

As alterações do tipo rompimento das células pilastras, deformação do canal marginal, ruptura da cutícula, colapso lamelar, deslocamento da cutícula (figura 9E), hiperplasia e necrose foram alterações comumente encontradas na estrutura branquial dos crustáceos (*U. cordatus*) analisados. Essas alterações são consideradas graves uma vez que estão envolvidas na perda da estrutura das células e tecido (NEGRO; COLLINS, 2017).

**Figura 9.** Lesões observadas na estrutura branquial de *U. cordatus* coletados nas áreas de estudo Raposa e Porto Grande, Maranhão. A) Rompimento das células pilastras (seta), B) Deformação do canal marginal (seta), C) Ruptura da cutícula (seta), D) Colapso lamelar (asterisco), E) Deslocamento da cutícula (seta), Necrose (asterisco) e F) Hiperplasia (asterisco), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.





Legenda: RCP (Rompimento das células pilastras rompidas); DCM (deformação do canal marginal); RUP.C (Ruptura da cutícula); COLP.L (Colapso Lamelar); DESL. C (deslocamento da cutícula).

As lesões encontradas em *U. cordatus* em Raposa e na região portuária são expressas na tabela 4. Alguns tipos de lesões se mostraram mais frequentes, como rompimento das células pilastras (RCP), deformação do canal marginal (DCM) e necrose e estas não tiveram variação significativa entre as áreas e entre os períodos sazonais ( $p > 0,05$ ).

Outras alterações se expressaram em menor proporção, como ruptura da cutícula (RUP. C), colapso lamelar (COLP. L), deslocamento da cutícula (DESL. C), hiperplasia e colapso com inchaço (CL. com inchaço), não havendo variação significativa destas lesões para o período de estiagem, entretanto lesões do tipo ruptura da cutícula, hiperplasia e colapso com inchaço apresentaram variações significativas no período chuvoso ( $p < 0,05$ ).



**Tabela 4.** Média, desvio –padrão e valor de p pelo teste t de Student para as alterações branquiais em caranguejos (*U. cordatus*) coletados em duas diferentes áreas durante o período de estiagem.

Lesões branquiais	ESTIAGEM			CHUVOSO		
	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student P>0,05	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student P>0,05
<b>RCP</b>	71,78 ±29,37	60,78 ± 22,93	0,29	60,38 ± 29,52	70,15 ± 32,11	0,52
<b>DCM</b>	86,92 ±22,28	68,5±29,55	0,08	55,23± 35,97	61,84 ± 21,81	0,59
<b>RUP.C</b>	1,71±6,18	3,71±13,11	0,62	1,15± 2,14	3,76 ± 3,82	0,04
<b>COLP.L</b>	14,92±19,35	13,78±19,15	0,88	6,53± 11,69	16,23 ± 32,27	0,33
<b>DESL.C</b>	2,35±3,79	10,28±19,66	0,16	2,15± 3,34	2,23± 3,74	0,95
<b>Hiperplasia</b>	4,71±5,93	6,35±6,62	0,51	5± 4,16	10,76± 6,77	0,01
<b>Necrose</b>	52,14±27,38	48,0±27,32	0,72	54± 38,30	60,46± 30,97	0,65
<b>COLP. I</b>	5,21±13,15	2,0±4,17	0,4	0± 0	1,53± 2,53	0,04
<b>Parasita</b>	1,35±2,52	1,57±2,12	0,81	0,15± 0,36	0,76± 1,42	0,15

Legenda: RCP Rompimento das células pilastras rompidas; DCM (deformação do canal marginal); RUP.C (Ruptura da cutícula); COLP.L (Colapso Lamelar); DESL. C (deslocamento da cutícula), COLP.I com inchaço (Colapso com inchaço).

Pesquisas vêm demonstrando que essas lesões são os principais efeitos observados em caranguejos, conforme resultados apresentados por Andrade, (2016), Oliveira, (2018), Rebelo *et al.* (2000), Batista, (2019), Carvalho Neta *et al.* (2019), que descrevem que esses tipos de lesões, tais como hiperplasia, necrose e rompimento de células pilastras em

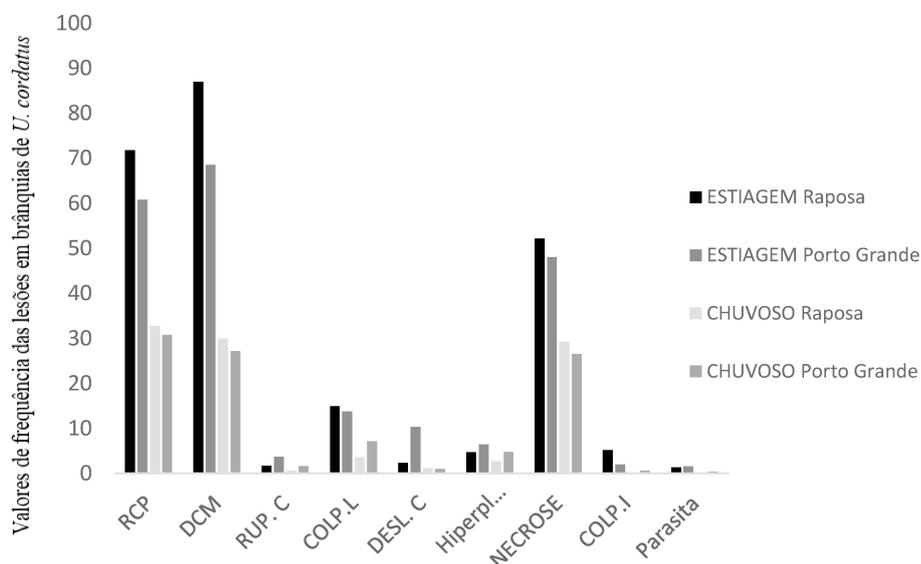


conjunto, podem gerar um dano maior ao tecido branquial tendo como consequência o colapso lamelar.

Dentre as lesões em crustáceos encontradas neste estudo, foi possível observar que houve prevalência de três tipos de lesões branquiais, consideradas mais frequentes (Figura 10). Estas foram deformação do canal marginal em Raposa no período de estiagem com 86,92%, e no chuvoso com 29,91%, para a região de Porto grande DCM obteve frequência de 68,5% na estiagem e 27,15% na chuvosa. Rompimento das células pilastras para a época de estiagem em Raposa a frequência foi de 71,78% e na estação chuvosa de 32,70%, em Porto Grande RCP, se apresentou com frequência de 60,78% na estiagem e 30,8% na estação chuvosa. Necrose para a área de Raposa a frequência foi de 52,14% na estiagem e 29,25% para o período chuvoso, para Porto Grande esta lesão na estiagem foi de 48% e 26,54% para o chuvoso.

As lesões descritas acima em ambas as áreas de coleta e em ambos os períodos sazonais, foram as mais frequentes. Além disso, também foram encontradas outras lesões em menores porcentagens na estrutura respiratórias de *U. cordatus*.

**Figura 10.** Percentuais de lesões branquiais dos caranguejos (*U. cordatus*) capturados na zona portuária (Área mais impactada) e Raposa (Área menos impactada).



Legenda: RCP Rompimento das células pilastras rompidas; DCM (deformação do canal marginal); RUP.C (Ruptura da cutícula); COLP.L (Colapso Lamelar); DESL. C (deslocamento da cutícula), COLP.I com inchaço (Colapso com inchaço).

As lesões mais frequentes nesse estudo também foram descritas nas pesquisas feitas por Rebelo *et al.* (2000) e por Andrade (2016), Jesus (2020), Oliveira (2019), Jerome (2017), Negro; Collins, (2017). As alterações encontradas podem ser indicativas



de exposição a contaminantes ou estresse ambiental visto que em uma das áreas há dados de contaminação por metais, como Arsênio, Cádmio, Cobre, Cromo, Níquel e Zinco (BATISTA, 2019).

Estudos recentes como de Oliveira *et al.* (2019); Jesus *et al.* (2020) destacaram a presença significativa da lesão rompimento das células pilastras em indivíduos capturados em áreas portuárias da Baía de São Marcos, que também foram registradas nessa pesquisa. De acordo com as autoras, o rompimento das células pilastras promovem o desarranjo das lamelas secundárias podendo agravar o estado de sanidade respiratória dos indivíduos. Além disso, a persistência dessas alterações desencadeia o colapso lamelar e a necrose dos filamentos (COSTA, 2020).

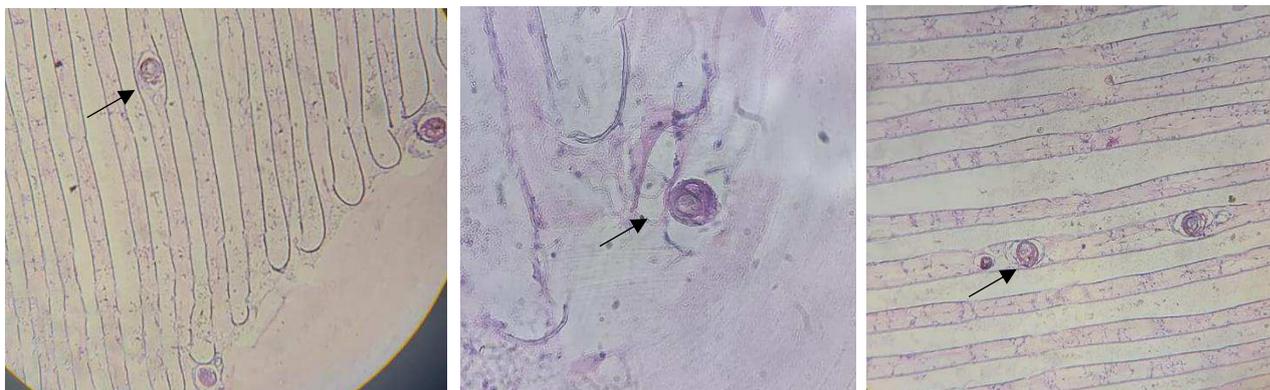
As brânquias estão em contato com o ambiente circundante e devido a sua grande área de superfície isso facilita a interação e absorção de poluentes e conseqüentemente são as primeiras a reagirem aos xenobióticos presentes no meio aquático, as alterações encontradas nos tecidos destes organismos indicam a presença de contaminantes (NEGRO, 2015).

As brânquias, num contexto geral, têm um papel importante para as espécies que dependem deste órgão para a respiração, osmorregulação e excreção de íons dentre outras funções; no entanto, quando estas precisam desempenhar uma atividade maior, como por exemplo, a desintoxicação de metais pesados ou pesticidas, elas acabam sofrendo dano em sua estrutura (REBELO *et al.*, 2000).

Nos caranguejos foi possível observar também a presença de parasitas (Figura 11) que segundo Ventura *et al.*, (2018) seu aparecimento é facilitado em locais em que há má qualidade da água, atrelada às variáveis físico-químicas o que ocasiona estresse nos organismos (PAVANELLI *et al.*, 2008; VARGAS *et al.*, 2015).



**Figura 11.** Fotomicrografia das lamelas secundárias de *U. cordatus* com parasitos (setas) (não identificados a nível taxonômico), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



Para Torres (2016), a presença desses patógenos causa efeitos importantes nas brânquias, como o comprometimento de sua eficiência respiratória, que pode ser reduzida ou comprometida pela presença desses organismos. Segundo Ikerd; Burnett; Burnett, (2015), esses organismos sensibilizam o epitélio respiratório dos indivíduos que levam a distúrbios severos comprometendo a fisiologia (trocas gasosas) dos crustáceos.

Eiras (1994), estudando parasitas em peixes debate que estes organismos, são prejudiciais, tanto pela sua presença, que causa pressão nos tecidos do hospedeiro, como por sua fixação, criando efeitos significativos por meio da sua ação mecânica. Além disso, a alimentação do parasita através do hospedeiro resulta em perda de sangue, efeitos esses que podem levar à perda de peso, diminuição da taxa de crescimento e eventualmente, morte do hospedeiro (ROBERTS *et al.*, 2004).

A brânquia é um órgão multifuncional responsável pela respiração, sendo também principal local para excreção de produtos nitrogenados possuindo importante papel no balanço de íons (NOGA, 2010). Este órgão é altamente suscetível à infecção, e o dano branquial resultante contribui consideravelmente para os efeitos letais causados por parasitas (DICKERSON, 2006).

Dessa forma pesquisas com brânquias de crustáceos revelaram que estas apresentam diversas alterações quando expostas a contaminantes químicos, comprovando que elas são sensíveis a esses agentes (ANDRADE, 2016). O que nos reforça a importância do uso de diferentes metodologias de biomonitoramento dos ecossistemas estuarinos, destacando a utilização de lesões branquiais como biomarcadores de contaminação aquática (TORRES, 2016).



Assim, os estudos dos efeitos que o caranguejo *U. cordatus* sofre com os efeitos de poluentes, principalmente no estado do Maranhão, são insuficientes e se tornam extremamente importantes, pois permitem um olhar mais detalhado sobre o biomonitoramento da espécie em áreas potencialmente impactadas, uma vez que são capazes de auxiliar na avaliação mais precisa da qualidade ambiental (TORRES, 2016).

### **5.3 Dendrograma e similaridade entre as lesões branquiais em *U. cordatus* nas áreas estudadas para o período de estiagem e chuvoso**

A análise de similaridade para as alterações branquiais encontradas em *U. cordatus* entre as áreas e períodos sazonais, mostra um comportamento semelhante das médias e entre a frequência das lesões no histograma, que são reunidos em dois grupos principais.

O índice indicou um primeiro grupo com similaridade maior que 0.9 (ou 90%) formado pelas lesões do tipo rompimento das células pilastras e deformação do canal marginal para a região portuária e de Raposa na estação de estiagem (Figuras 12A e 12B). Em seguida nesses mesmos *clusters*, aparece a lesão necrose que se agrupam hierarquicamente formando o conjunto de “lesões mais frequentes”, distanciando-se as lesões do tipo ruptura da cutícula, deslocamento da cutícula para a área de Raposa, e ruptura da cutícula e colapso com inchaço para a região de Porto Grande. Segundo Jesus *et al.* (2020) alterações, como necrose e ruptura das células pilastra em conjunto, podem originar grandes danos ao tecido branquial resultando em colapso lamelar e perda funcional do órgão.

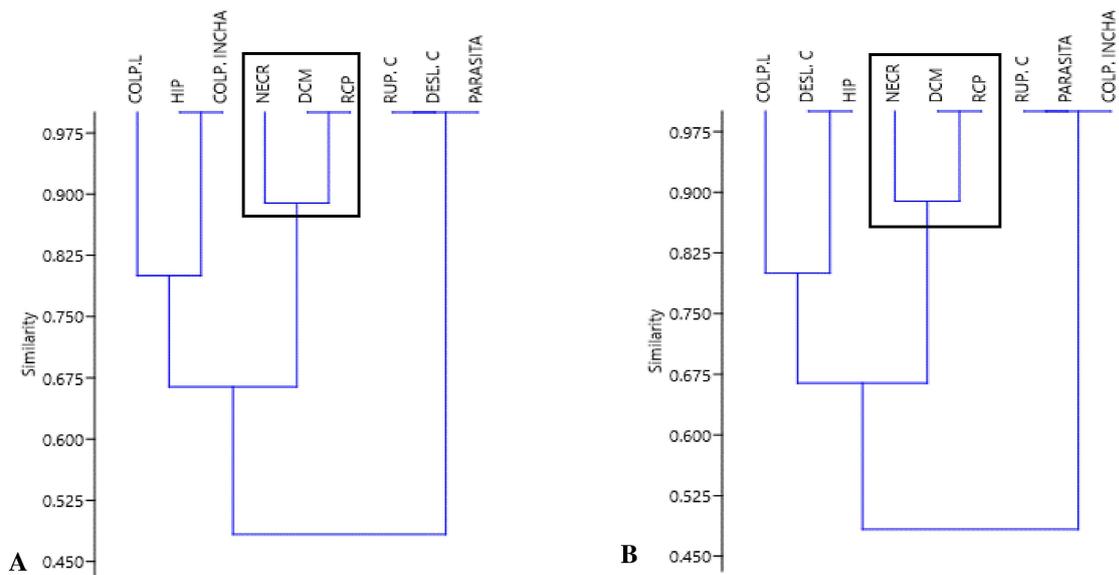
O segundo grupo similar de lesões para a estiagem aparece com 0.8 (ou 80%) causadas por alterações graves como colapso lamelar, hiperplasia e colapso com inchaço para a região de Raposa (Figura 12A). Para a região de Porto Grande esse segundo *cluster* é formado por alterações do tipo colapso lamelar, hiperplasia e deslocamento da cutícula (Figura 12B).

Essas lesões branquiais já foram descritas em outros trabalhos, para as regiões, onde os autores verificaram em brânquias de caranguejos esse mesmo padrão de variação entre áreas potencialmente impactada e áreas de referência (ANDRADE, 2016; CARVALHO-NETA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019; JESUS *et al.*, 2020; PROTAZIO 2020;). Assim, a ocorrência dessas lesões no tecido desses organismos



compromete as funções desempenhadas pelo órgão ocasionando consequências severas nas células e estruturas desses animais (DUARTE *et al.*, 2016; FREITAS; REBELO *et al.*, 2000). Portanto, esses dados corroboram e evidenciam alterações registradas na análise branquial desses organismos, reafirmado pelo agrupamento dessas alterações registradas na presente pesquisa.

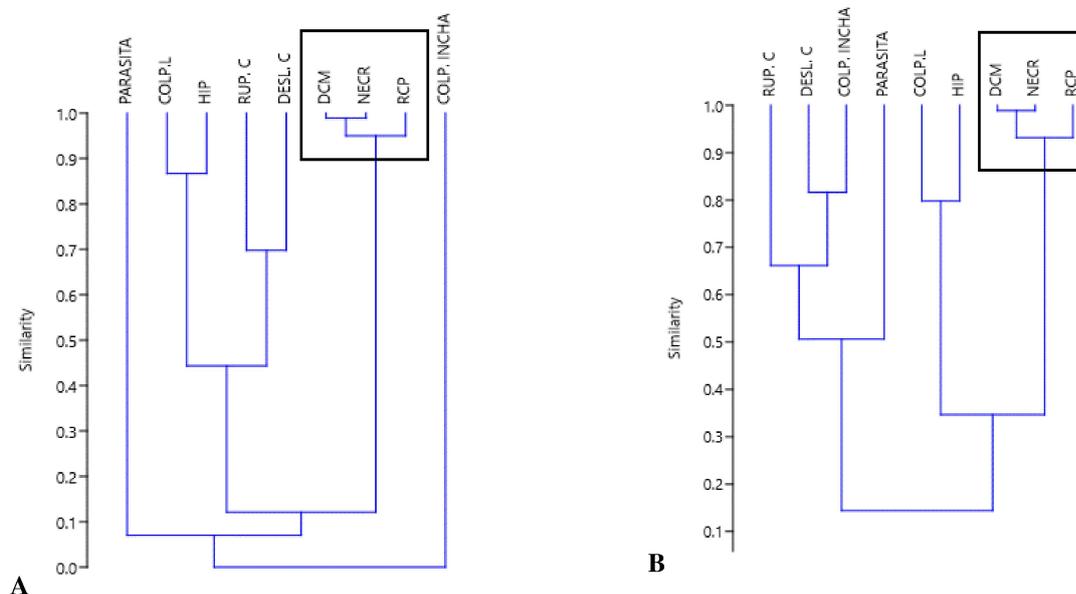
**Figura 12.** Dendrograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões branquiais em *Ucides cordatus* baseada em uma matriz de agrupamento considerando as lesões nas áreas estudadas A) Raposa e B) Porto Grande (estiagem)



Legenda: COLP.L- colapso lamelar); HIP- (Hiperplasia); COLP. Incha (Colapso com inchaço); NECR- (Necrose); DCM- deformação do canal marginal; RCP- rompimento das células pilastras; RUP.C- (ruptura da cutícula); DESL. C (Deslocamento da cutícula).

O índice de Bray-Curtis para as alterações branquiais de *U. cordatus* para o período chuvoso (Figura. 13 A e B) indicou um forte agrupamento (> 90%) das lesões do tipo rompimento das células pilastras, necrose e deformação do canal marginal, as alterações encontradas nas brânquias foram similares nas duas áreas menos e mais impactada.

**Figura 13.** Dendrograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões branquiais em *Ucides cordatus* baseada em uma matriz de agrupamento considerando as lesões nas áreas estudadas A) Raposa e B) Porto Grande (chuvoso)



Legenda: COLP.L- colapso lamelar); HIP- (Hiperplasia); COLP. Incha (Colapso com inchaço); NECR- (Necrose); DCM- deformação do canal marginal; RCP- rompimento das células pilastras; RUP.C- (ruptura da cutícula); DESL. C (Deslocamento da cutícula).

As alterações mais frequentes nas brânquias de *U. cordatus* observadas neste estudo, como rompimento das células da pilastra, deformação do canal marginal e necrose, também foram comumente encontrados nas brânquias de *U. cordatus* analisados por Jesus *et al.* (2020); Oliveira *et al.* (2019).

Desta mesma forma, Carvalho-Neta *et al.* (2019) e Andrade. (2016) verificaram, em brânquias de caranguejos, este mesmo padrão de variação das lesões entre áreas potencialmente impactadas e áreas de menor impacto.

Batista (2019), trabalhando com a espécie *U. cordatus* na mesma região portuária descreve em seu trabalho na estação chuvosa a lesão rompimento das células pilastras como uma alteração frequente, o que se assemelha ao da presente pesquisa para a região de Porto Grande na estação chuvosa. Para esta mesma autora a incidência desta lesão pode estar relacionada com a alta concentração de poluentes que são lançados e estão disponíveis na estação chuvosa na região portuária, uma vez que, para essa época os poluentes são lixiviados com maior facilidade para o meio aquático.

Resultados similares também foram descritos por Protazio (2020), para estação chuvosa, trabalhando em uma região portuária no município de São Luís, Maranhão o autor descreve para a estação chuvosa rompimento das células pilastras (RCP), e

deformação do canal marginal (DCM) como lesões mais frequentes. Essas lesões, tais como necrose e rompimento de células pilastras em conjunto, podem gerar um dano grande ao tecido branquial tendo como consequência o colapso lamelar (BATISTA, 2017).

A lesão do tipo rompimento das células pilastras é uma alteração que é definida como a quebra celular, e que resulta em morte celular, o que leva à necrose (FREITAS-REBELO *et al.*, 2000).

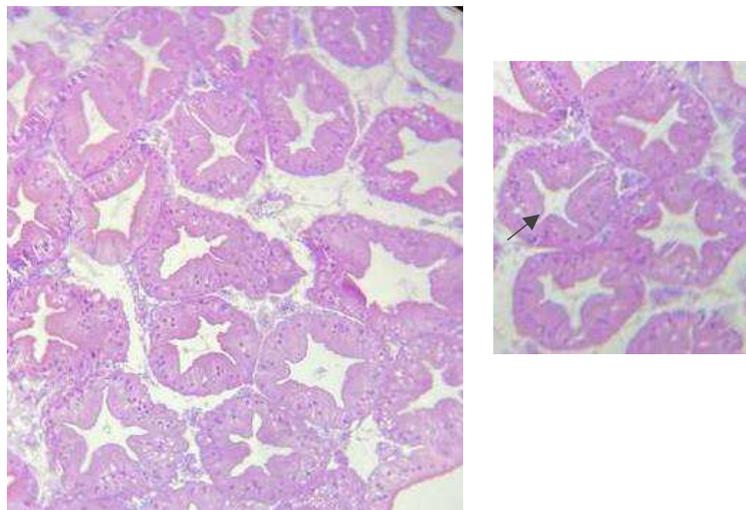
Para a região de menos impacto, área de Raposa Carvalho-Neta *et al.* (2019) e Andrade (2016), descrevem as lesões do tipo DCM, RCP e necrose como as mais frequentes, resultados que corroboram com o descrito neste estudo. Essas alterações não causam a morte imediata dos organismos, mas representam distúrbios importantes que impedem o organismo de desempenhar suas funções no ecossistema (CARVALHO-NETA *et al.*, 2019).

#### **5.4 Histologia das lesões hepáticas de *U. cordatus***

O hepatopâncreas apresenta como padrão histológico a presença de túbulos com tecidos marrom-amarelados e ocupa a maior parte da cavidade cefalotórax (BATISTA, 2017) (Figura 14). Está conectado com o estômago pilórico por meio de ductos e cobre parte do intestino médio (CUARTAS; DÍAZ; PETRIELLA, 2003; FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2009). Observam-se, ainda glândulas circulares ou elípticas, que consiste em um tecido epitelial composto por diferentes tipos de células E-células (embrionárias), o F-células (fibrilares), as células B (blister like), e células-R (reabsorção), este órgão apresenta um lúmen normal com forma de estrela na maioria dos crustáceos (BATISTA, 2017).



**Figura 14.** Fotomicrografia da estrutura normal de hepatopâncreas de *U. cordatus* coletado na região de Raposa e Porto Grande, visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x. Seta preta indicando um túbulo com lúmen normal formato de “estrela”.



As alterações observadas no tecido do hepatopâncreas de *U. cordatus* estão apresentadas na tabela 5.

**Tabela 5.** Percentuais das lesões em hepatopâncreas de *U. cordatus* observados na Área Portuária e na de menor impacto.

Lesões hepáticas	ESTIAGEM			CHUVOSO		
	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student P>0,05	Raposa	Porto Grande	Teste t de Student P>0,05
<b>DEF.L</b>	18,33 ± 5,64	20,89 ± 11,99	0,43	18±3,39	20,92±13,19	0,49
<b>CEL. B. VAC.</b>	30,28 ± 17,68	46±29,45	0,33	59,67±8,80	48,75±27,99	0,23
<b>DEF. EP.</b>	3,22±3,12	3,89±4,76	0,63	4,92±4,01	3,83±3,00	0,48
<b>N.PIC.</b>	53,33±27,79	81±55,45	0,07	118,75±8,81	96,42±47,00	0,14
<b>C. M. DAN.</b>	3,94±5,63	5,84±4,85	0,28	8,75±3,00	5,17±4,90	0,05
<b>NECROSE</b>	12,5±7,68	15,39±13,41	0,45	15,83±7,20	15,92±11,04	0,98

Legenda: DEF.L (deformação do lúmen); CEL. B. VASC. (células B vacuolizadas); DEF. EP. (deformação do epitélio); N. PIC (núcleos picnóticos); C. M. DAN. (camada mioepitelial danificada).



A análise dos dados demonstrou que para ambos os pontos de coleta, e para os períodos sazonais as lesões no hepatopâncreas com maiores médias foram núcleos picnóticos (N. PIC), células B vacuolizadas (CÉL. B.VAC.), deformação do lúmen (D.L) e necrose.

Para a área portuária os percentuais de lesões foram maiores do que nos caranguejos da área de menor impacto para a estiagem e não apresentaram diferenças significativas.

Já para o período chuvoso a região de menor impacto área de Raposa apresentou maiores valores para as lesões de células B vacuolizadas e núcleos picnóticos sem diferenças significativas. Entretanto a análise estatística demonstrou haver diferença significativa, apenas para a lesão camada mioepitelial danificada onde obteve maiores valores para a região de Raposa. Resultados descritos por Batista, (2017); Batista, (2019); Jesus *et al.* (2020) apontam que para a região portuária os percentuais de lesões foram maiores que para a região de menor impacto, resultados similares aos encontrados neste estudo.

Segundo Maharajan *et al.* (2015) alterações evidentes como a proliferação de células B, indicam uma alta taxa de excreção pelo hepatopâncreas, o que pode estar relacionado ao fato de que este é um órgão de armazenamento e de desintoxicação, dessa forma a eliminação dos xenobióticos ocorre quando se eleva o número de células F e converte-as em células B.

O hepatopâncreas não é apenas um órgão digestivo que possui habilidades de absorção, digestão, armazenamento e secreção, mas também um importante local onde as biotransformações e desintoxicação ocorrem nos crustáceos (MAHARAJAN *et al.*, 2015).

Assim, as lesões nos túbulos do hepatopâncreas observadas nos caranguejos nas áreas estudadas sugerem que a integridade do tecido afetado pode ser devido à exposição deste órgão por contaminantes. Portanto, estas lesões descritas e consideradas graves indicam danos nas células e nos tecidos de forma irreversível (BERNET *et al.*, 1999).

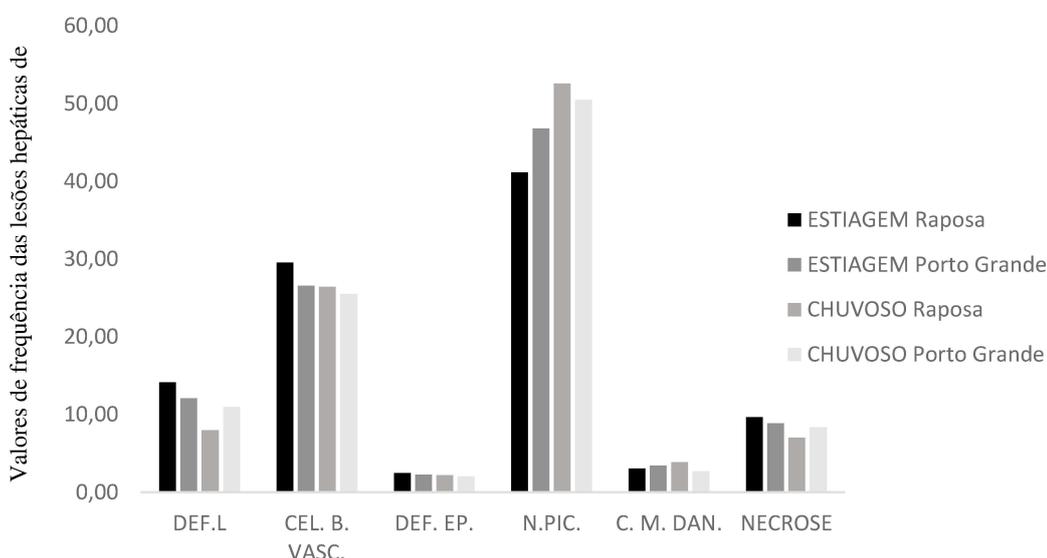
As frequências das lesões em hepatopâncreas encontradas nas duas áreas estão expressas na figura 15. Verificou-se que a porcentagem de lesões foi maior para a região portuária em ambas estações (estiagem e chuvosa). Estes dados corroboram com os trabalhos de Jesus *et al.* (2020) e Jesus *et al.* (2021) trabalhando com a espécie *U. cordatus* em uma região portuária de São Luís, MA, que descrevem para a região de maior impacto uma frequência maior de lesões. Esses dados, podem inferir que os caranguejos da área



portuária estão tendo respostas em diferentes órgãos decorrentes de contaminantes químicos presentes no ambiente (BATISTA, 2017).

Este órgão desempenha funções importantes em vários processos metabólicos nos crustáceos (CACECI *et al.*, 1988; BHAVAN; GERALDINE, 2000). Estudos testando efeitos de contaminantes mostram que estes tipos de alterações nos tecidos do hepatopâncreas de crustáceos estão relacionados à sua exposição a substâncias químicas contaminantes (JESUS *et al.*, 2020).

**Figura 15.** Frequência total de lesões nos hepatopâncreas de *U. cordatus* encontradas na Área Portuária e na de menor impacto.



Legenda: DEF.L (deformação do lúmen); CEL. B. VASC. (células B vacuolizadas); DEF. EP. (deformação do epitélio); N. PIC (núcleos picnóticos); C. M. DAN. (camada mioepitelial danificada).

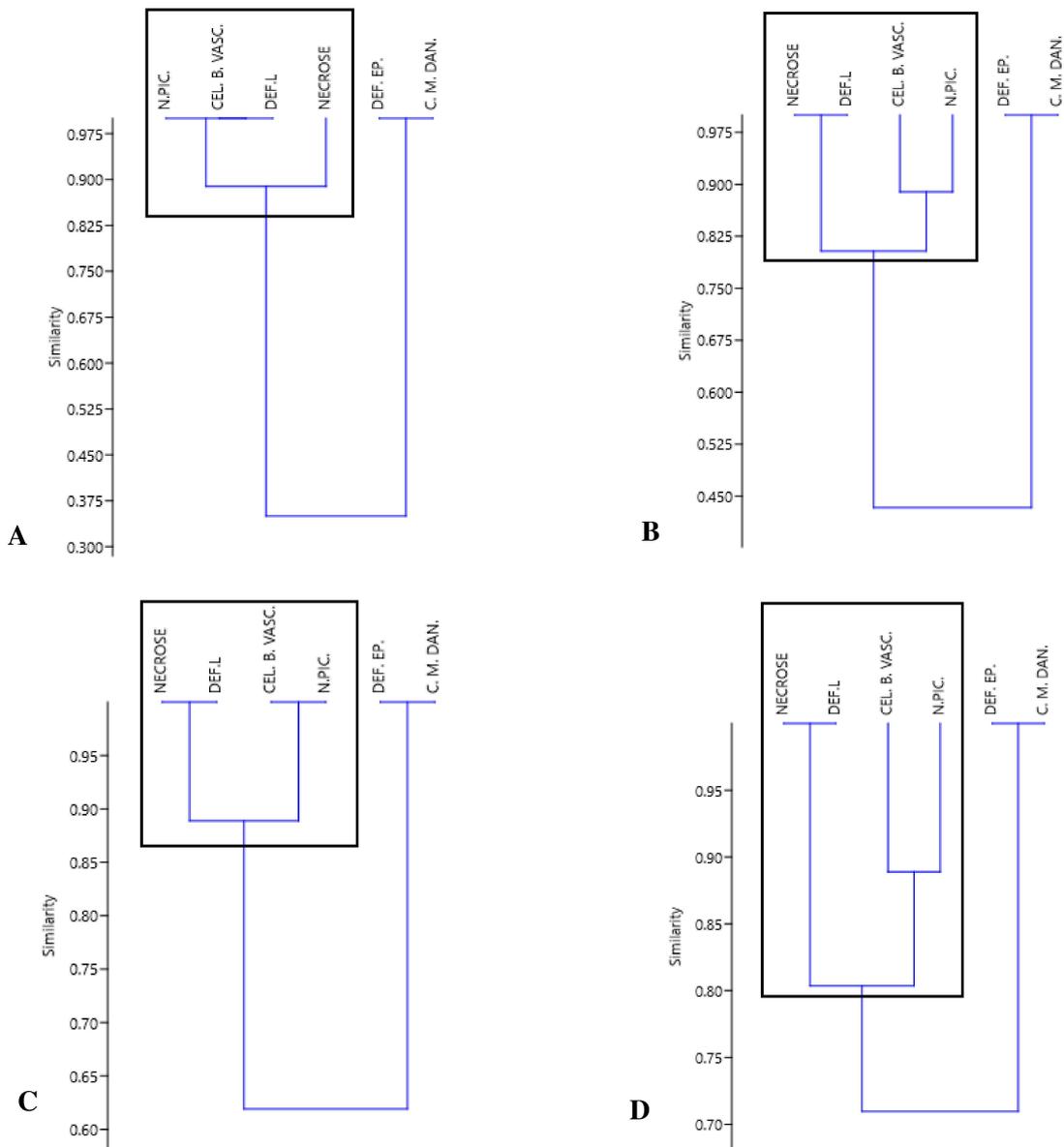
### 5.5 Dendrograma e similaridade entre as lesões hepáticas de *U. cordatus* nas áreas estudadas período de estiagem e chuvoso

A figura 16 apresenta a similaridade das variáveis das lesões hepáticas de *U. cordatus* coletados na área portuária e de menor impacto. Os dados do cluster para a região de Raposa mostra agrupamento com similaridade (>80%) na estiagem e (>70%) para o período chuvoso, reunindo as lesões núcleos picnóticos, células B vacuolizadas, deformação do lúmen e necrose e distanciando em ambas estações as lesões delaminação do epitélio e camada mioepitelial danificada.



Para a região de Porto Grande, o cluster indicou um agrupamento (>80%) para ambos os períodos sazonais, reunindo as lesões necrose, deformação do lúmen, células B vacuolizadas e núcleos picnóticos e distanciando assim como em Raposa, as lesões delaminação do epitélio e camada mioepitelial danificada.

**Figura 16.** Dendrograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões hepáticas em *Ucides cordatus* Raposa A (estiagem) B (chuvoso); Porto Grande C (estiagem) D (chuvoso).



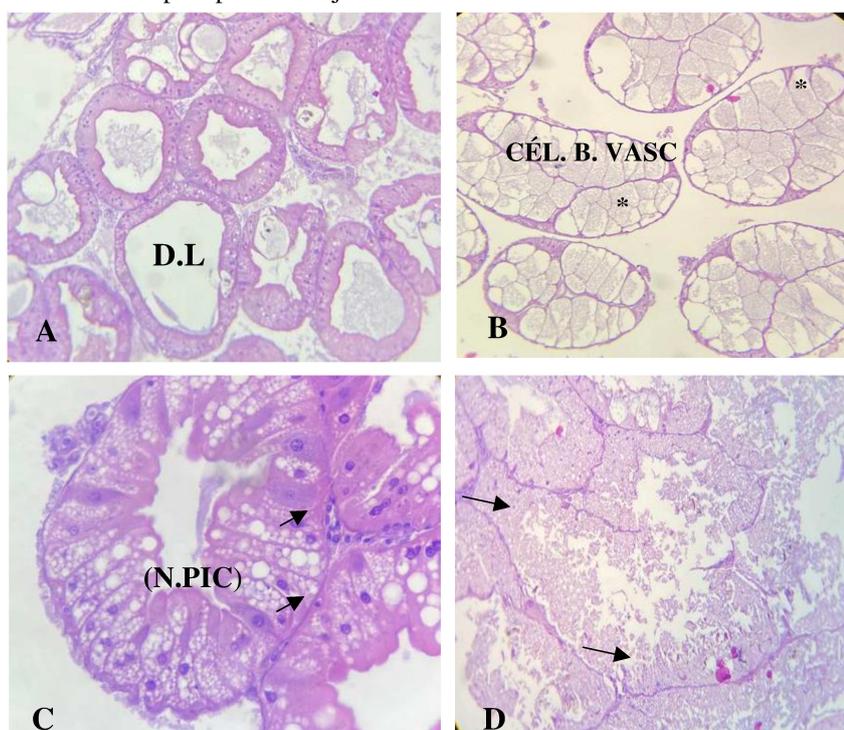
Legenda: DEF.L (deformação do lúmen); CEL. B. VASC. (células B vacuolizadas); DEF. EP. (deformação do epitélio); N. PIC (núcleos picnóticos); C. M. DAN. (camada mioepitelial danificada).

O hepatopâncreas dos espécimes decápodes crustáceos é o principal órgão envolvido na digestão, absorção e reserva de nutrientes, secreção de enzimas digestivas e excreção de resíduos (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Este órgão também desempenha um papel importante no equilíbrio iônico do organismo (ZHUANG; AHEARN, 1996) e na desintoxicação de substâncias (SOUSA, 2003; COLLINS, 2010).

A lesões de deformação do lúmen, células B vacuolizadas, núcleos picnóticos e necrose foram alterações também descrita nos trabalhos de Jesus *et al.* (2020); Jesus *et al.* (2021) onde estas se apresentaram como a mais frequente nos caranguejos estudados. Para os autores as alterações observadas nos diferentes órgãos de caranguejos são devidas a doenças químicas crônicas de contaminação no ambiente. Assim, o hepatopâncreas de crustáceos desempenha papéis importantes em vários processos metabólicos e a exposição a contaminantes químicos podem levar a alterações estruturais (BHAVAN; GERALDINE, 2000).

A figura 17 mostra as lesões mais encontradas nos hepatopâncreas de *U. cordatus* encontradas na área portuária e área de menor impacto (Raposa). São elas: deformação do lúmen, células- B vacuolizadas, núcleos picnóticos e necrose.

**Figura 17.** Lesões em hepatopâncreas de *U. cordatus* capturados na área portuária e de menor impacto, visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



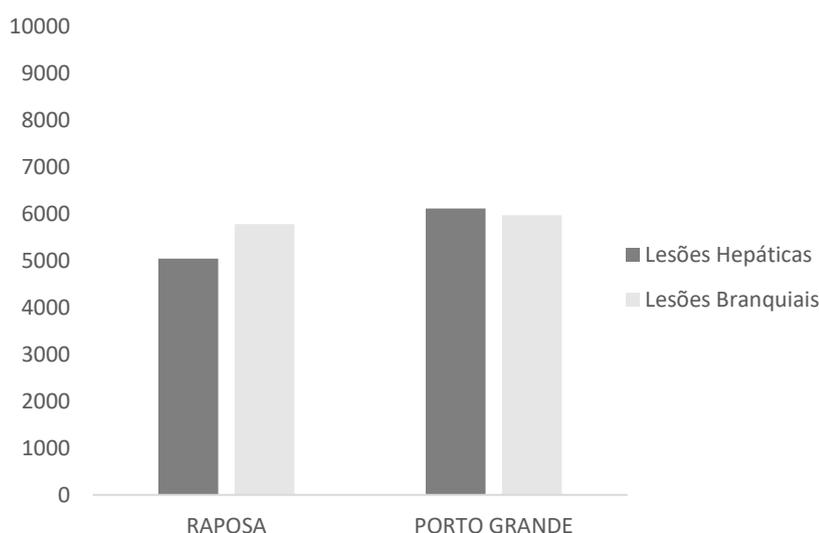
Legenda: A- deformação do lúmen (DL); B- células- B vacuolizadas (asterisco) (CÉL. B. VASC); C- núcleos picnóticos (seta) (N.PIC) e necrose (seta).

Portanto as lesões aqui descritas afetam diretamente o tecido e causam danos nas células, as alterações citadas são consideradas “graves”, por isso, indicam danos nas células e nos tecidos de forma irreversível (BERNET et al., 1999).

### 5.6 Comparação das lesões branquiais e hepáticas de *U. cordatus* capturados na área portuária (Porto Grande) e na área de menor impacto (Raposa)

A figura 18 apresenta de forma comparativa o quantitativo de lesões encontradas nas brânquias e nos hepatopâncreas de *U. cordatus*, capturados na área de menor impacto e na área de maior impacto. Esses dados indicaram que as lesões foram bem representativas tanto nas brânquias quanto no hepatopâncreas de *U. cordatus*.

**Figura 18.** Gráfico comparando o total de lesões encontradas em brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus* na Área Portuária (Porto Grande) e na Área de menor impacto (Raposa).



Dessa forma, a hipótese proposta sobre os espécimes de caranguejos que vivem na região portuária estarem sofrendo com impactos, oriundos de poluição por contaminantes, mostrou-se por meio das lesões graves aqui identificadas, que os caranguejos estão expostos a um ambiente poluído e desenvolvendo mecanismos de defesa.

Esses órgãos, em conjunto, atuam como importantes estruturas que auxiliam em análises de biomarcadores, podendo fazer parte de metodologias para o biomonitoramento de áreas impactadas.

A utilização de biomarcadores em outros organismos como peixes, por exemplo, trazem respostas biológicas ao estresse provocado pelos poluentes e podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos, sendo excelentes para monitorar a saúde do ecossistema aquático e têm sido incluídos em vários programas modernos de monitoramento ambiental de países desenvolvidos (WALKER *et al.*, 1996).

Além disso, outras classes como peixes e moluscos por exemplo, são ótimos organismos sentinelas em programas de biomonitoramento de rotina, tanto em nível nacional como internacional, os moluscos costumam ser escolhidos como espécie bioindicadora, devido a sua ampla distribuição geográfica e possibilidade de fácil aquisição no campo. Por outro lado, os peixes nestes estudos são de grande importância devido à posição-chave destes organismos na cadeia trófica e seu elevado valor comercial (VIARENGO *et al.* 2007). Dessa forma a utilização de biomarcadores em outras classes servem para documentar e quantificar tanto a exposição quanto os efeitos de poluentes ambientais, e a utilização dessas diferentes espécies nos estudos de biomonitoramento pode ser uma abordagem bastante útil para a avaliação dos efeitos da contaminação ambiental nas populações (WINKALER *et al.*, 2001).

## 6 CONCLUSÃO

Os dados do trabalho relacionados com a análise de biomarcadores de contaminação aquática com a espécie *U. cordatus*, em Raposa e Porto Grande, Maranhão permitiram concluir que:

- os exemplares de *Ucides cordatus*, pelas lesões brânquias e hepáticas observadas, estão em um ambiente submetidos a estressores decorrentes de algum tipo de contaminante que ocasionou ao aparecimento das lesões;
- os percentuais das lesões nos caranguejos de Raposa e região portuária, demonstram que os organismos das duas áreas estão respondendo à exposição por contaminantes lançados no ambiente;
- apesar dos caranguejos de Raposa (área menos impactada) serem mais pesados também apresentaram lesões significativas, indicando que a Região de Raposa já deve estar apresentando presença de contaminantes, já que essas lesões estão aparecendo de forma significativa nos caranguejos;



- quanto à similaridade entre as lesões branquiais, os resultados permitem concluir que essas alterações são um dos principais efeitos de resposta quando o animal foi exposto a concentrações elevadas de poluição o que leva a rompimento e degeneração celular, que não causam a morte imediata dos organismos, mas que representam perturbações importantes que impedem que o organismo realize suas funções no ecossistema;
- a similaridade das lesões nos hepatopâncreas de *U. cordatus*, mostrou que as alterações mais frequentes indicam que a integridade do tecido afetado pode ser devido à exposição deste órgão por contaminantes;
- os dados aqui expostos revelam que as brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus* apresentaram lesões significativas revelando que estes são órgãos sensíveis à contaminação aquática em ambientes possivelmente impactados e que *U. cordatus* é uma boa espécie biomonitora porque expressou respostas morfológicas que são importantes para avaliação da poluição ambiental;
- a brânquia do caranguejo foi caracterizada como órgão mais sensível devido à presença de lesões significativas e graves, uma vez que este órgão permanece em contato direto com o ambiente externo e é particularmente sensível a mudanças na qualidade ambiental, tornando-se o principal “alvo” dos contaminantes.



## REFERÊNCIAS

- AAPA – **Environmental Management Handbook**. American Association of Port Authorities (AAPA), Alexandria, VA, U.S.A. Disponível on-line em <http://www.aapa-ports.org/Issues/content.cfm?ItemNumber=989>, 68p. 1998.
- ABESSA, D.M.S.; CARR, R.S.; SOUSA, E.C.P.M.; RACHID, B.R.F.; ZARONI, L.P.; GASPARRO, M.R.; PINTO, Y.A.; BICEGO, M.C.; HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S; MUNIZ, P. Integrative ecotoxicological assessment of contaminated sediments in a complex tropical estuarine system. In Hofer TN (ed) **Marine pollution: new research**. Nova Science Publishers, New York, pp 125-159. 2008.
- AGORAMOORTHY, G.; CHEN, FU-NA.; HSU, M. J. Threat of heavy metal pollution in halophytic and mangrove plants of Tamil Nadu, India. **Environmental Pollution**. v. 155. p. 320-326, 2008.
- AKAISHI, F.M. **Avaliação do potencial tóxico da fração solúvel de petróleo em água (FSA) em *Astyanax* sp. utilizando biomarcadores de contaminação**. 141.f Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2003.
- ALCÂNTARA, E. H. de.; SANTOS, M. C. F. V. dos. **Mapeamento de áreas de sensibilidade ambiental ao derrame de óleo na região portuária do Itaqui, São Luís, MA - Brasil**. Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Goiânia: INPE, 2005.
- ALENCAR, C. E. R. D.; LIMA-FILHO, P. A.; MOLINA, W. F.; FREIRE, F. A. M. Sexual Shape Dimorphism of the Mangrove Crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda, Ucididae) accessed through Geometric Morphometric. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-8, 2014
- ALENCAR, C. E. R. D. **Dinâmica populacional do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (CRUSTACEA, BRACHYURA, UCIDIDAE) no município de Porto do Mangue, litoral norte do Estado do Rio Grande do Norte**; (Dissertação) Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Natal, RN, 2011.
- ALMEIDA DUARTE, L.F.; de SOUZA, C.A.; PEREIRA, C.D.S.; PINHEIRO, M.A.A., Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: In situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 145, 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.07.051>. 2017.
- ALMEIDA, E. V.; DE ALMEIDA K. E. I. M, R.; DA SILVA-FILHO, E. V. **Análise da concentração de metais traço no caranguejo Uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763)**. UFF – Programa de Pós-Graduação em Geoquímica Ambiental. Universidade Federal Fluminense. GEOAMB. 2011.
- ALMEIDA, E. V.; KUTTER, V. T.; MARQUES, E. D.; SILVA-FILHO, E. V. First assessment of trace metal concentration in mangrove crab eggs and other tissues, SE Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 7, p. 420-434, 2016.



AMARAL, A.C.Z.; JABLONSKI, S. Conservation of marine and coastal biodiversity in Brazil. **Conservation Biology**, v.19 n. 3 p. 331-349. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2005.00692.x. 2005

AMARAL, V.; PENHA-LOPES, G.; PAULA, J. RNA/DNA ratio of crabs as an indicator of mangrove habitat quality. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v. 19, p. 56–62, 2009.

AMEUR, W.B.; EL MEGDICHE, Y.; LAPUENTE, J.; BARHOUMI, B.; TRABELSI, S.; ENNAUCEUR, S.; CAMPS, L.; SERRET, J.; RAMOS-LÓPEZ, D.; GONZALEZ-LINARES, J.; TOUIL, S.; DRISS, M. R.; BORRÀS, M. Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax* gill exposed to persistent pollutants. A field study in the Bizerte Lagoon: Tunisia. **Chemosphere**, v. 135, p. 67–74, 2015.

ANDRADE, T. S. O. M. **Biomarcadores em caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) para monitoramento ambiental em áreas portuárias**/Ticiane de Sousa de Oliveira Monta Andrade. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão. São Luís. 2016.

ANTAQ. **Agência Nacional de Transportes Aquaviários. Principais portos do Brasil**. Porto do Itaqui. Disponível em: Acesso em 19 de fev. de 2015.

ANTAQ. **Agência Nacional de Transportes Aquaviários. Principais portos do Brasil**. <http://www.antaq.gov.br>. 2019

ARUN, S.; KRISHNAMOORTHY, P.; SUBRAMANIAN, P. Properties of glutathione peroxidase from the hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 31, n. 6, p. 725–732, 1999.

AYADI, I.; MONTEIRO, S. M.; REGAYA, I.; COIMBRA, A.; FERNANDES, F.; OLIVEIRA, M. M.; PEIXOTO, F.; MNIF, W. Biochemical and histological changes in the liver and gills of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to red 195 dye. *RSC Adv* v. 5, n. 106 p. 87168-87178. 2015.

BAPTISTA, D.F.; BUSS, D.F.; EGLER, D.F. Macroinvertebrados como bioindicadores de ecossistemas aquáticos contaminados por agrotóxicos. In: Peres, F. & Moreira, J.C. (orgs.) **É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente**. Editora FIOCRUZ, 384p. 2003.

BARBOUR, M.T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B.D.; STRIBLING, J.B. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, Benthic macroinvertebrates and fish. **Environmental Protection Agency**, Washington, D.C. v. 339. 1999.

BARRILLI, G.H.C.; ROCHA, O.; NEGREIROS, N. F.; VERANI, J. R. Influence of environmental quality of the tributaries of the Monjolinho River on the relative condition factor (Kn) of the local ichthyofauna. **Biota Neotropica**. v. 15, n. 1, p.1–9. 2015.



BATISTA, W. S. **Biomarcadores bioquímicos e histológicos em Caranguejo-Uçá *Ucides Cordatus* (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) para monitoramento na Baía de São Marcos, Maranhão** Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) -, Universidade Estadual do Maranhão, UEMA). 2019.

BATISTA, W. S. **Alterações em brânquias e hepatopâncreas de Caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*) como biomarcadores para monitoramento de áreas portuárias em São Luís (Maranhão)**. Trabalho de Conclusão de curso. Curso de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Maranhão. 2017.

BAYEN S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: a review. **Environment International** v. 48, p. 84–101. 2012.

BERNET, D.; SCHIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**. V.22, p.25-34. 1999.

BHAVAN, P. S.; GERALDINE, P. Biochemical stress responses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to Endosulfan. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 70, n. 1, p. 27–41, 2001.

BHAVAN, S. P.; GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. **Aquatic Toxicology**. 50, 331-339. doi:10.1016/S0166-445X(00)00096-5. 2000.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução n.357. de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, p.58-63. 18 mar. 2005.

BRIGHT, D. B.; HOGUE, C. L. A synopsis of the burrowing land crabs of the world and list of their arthropod symbionts and burrow associates, Los Angeles – USA: **Natural History Museum**, n° 220, 1972

BURUAEM, L.M.; HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J. E.; COSTA-LOTUFO. L.V.; ABESSA, D. M. Contamination of port zone sediments by metals from large marine ecosystems of Brazil. **Marine Pollution Bulletin** v.64, p. 479–488. 2012

CALLISTO, M.; MORENO, P.; BARBOSA, F.A.R. Habitat diversity and benthic Caribbean. **Ecological Research**, p.64, 2003.

CANTAGALLO, C.; MILANELLI, J. C. C.; DIAS-BRITO, D. Limpeza de ambientes costeiros brasileiros contaminados por petróleo: uma revisão. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2007.

CAPPARELLI, M. V.; MCNAMARA, J. C.; GROSELL, M. Effects of waterborne copper delivered under two different exposure and salinity regimes on osmotic and

ionic regulation in the mudflat fiddler crab, *Minuca rapax* (Ocypodidae, Brachyura). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 201–209, 2017.

CARNEIRO, L. M. et al. Distribuição de elementos traço em tecidos de *goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) capturados nos manguezais do Sul da Bahia-Brasil e avaliação do potencial de risco no consumo. **Química Nova**, v. 41, p. 959-968, 2018.

CARVALHO NETA, R. N. et al. Changes in Glutathione S-Transferase Activity and parental care patterns in a catfish (Pisces, Ariidae) as a biomarker of anthropogenic impact in a Brazilian harbor. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, n. 1, p. 132–141, 2017.

CARVALHO NETA, R. N. F. et al. Biochemical and morphological responses in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) as indicators of contamination status in mangroves and port areas from northern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 16, p. 15884–15893, 2019.

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

CARVALHO-NETA, R. N. F.; SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; SANTOS, D. M. S.; TCHAICKA, L. A histopathological and biometric comparison between catfish (Pisces, Ariidae) from a harbor and a protected area, Brazil. **Aquatic Biosystems**, v. 10, p. 12, 2014.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES, 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 Biotecnology**, v.166, p.1314-1327, 2012.

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

CARVALHO-NETA, R. N. F. **Biomarcadores e inteligência artificial para monitoramento de impactos ambientais no Complexo Portuário de São Luís-Maranhão**. 2010. 123f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia / Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, 2010.

CASTIGLIONI, D. S.; SILVA-CASTIGLIONI, D.; OLIVEIRA, P. J. A. Reproductive biology of *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) in two mangrove areas from the south coast of state of Pernambuco, Brazil. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 13, n. 4, p. 433-444, 2013.

CASTRO, S.; FRANÇA, C. L.; FERNANDES, J. F. F.; SILVA, J. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; TEIXEIRA, E. G. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São



Marcos, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 70, 410–418, 2018.

CENGIZ, E. L.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 2005 (in press).

CESAR, A.; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. **Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição** – Universidade Santa Cecília – UNISANTA - Santos. São Paulo, Brasil. 37p. 1997.

CHATTERJEE, M. V. S. F. E.; SILVA FILHO, E. V.; SARKAR, S. K.; SELLA, S. M.; BHATTACHARYA, A.; SATPATHY, K. K.; BHATTACHARYA, B. D. Distribution and possible source of trace elements in the sediment cores of a tropical Environ Sci Pollut Resmacrotidal estuary and their ecotoxicological significance. **Environment International** v. 33, n. 3, p. 346–356. 2007.

COLLINS P. Environmental stress upon hepatopancreatic cells of freshwater prawns (Decapoda: Caridea) from the floodplain of Paraná River. **National Scientific** 2: 748–759. 2010.

CORGOSINHO, P. H. C.; CALIXTO, L. S. F.; FERNANDES, P. L.; GAGLIARDI, L. M.; COSTA, G. M., OLIVEIRA, L. C., MUNIZ, C. C., OLIVEIRA, A. S., VIEIRA, B. S., LIMA, M. G., & SCHUUNGUES, C. O. Histomorfologia do fígado de bicuda *Boulengerella cuviere* (Agassiz, 1829) (teleostei, Cetnoluciidae). **Revista de ciências agroambientais**, 13(2), 45-49, 2015.

CORRÊA JUNIOR, J. D.; ALLODI, S.; AMADO-FILHO, G. M.; FARINA, M. Zinc accumulation in phosphate granules of *Ucides cordatus* hepatopancreas. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33(2), 217-221. 2000.

COSTA, C. C. **Biomarcadores histológicos em *Ucides cordatus* (Decapoda, Ocypodidae) para comparação do estado de conservação de manguezais na Ilha de Santana e região portuária de São Luís (Maranhão)** Monografia (Graduação) – Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Maranhão, 2020.

COSTA, R. S. Biologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea – Decapoda) do Nordeste brasileiro. **Boletim Sociedade Cearense Agronomia**., Fortaleza, v. 20, p. 1-74, 1979.

CUNHA, I. A. – **Política ambiental, negociação de conflitos e sustentabilidade**. 297p, Leopoldianum, Santos, SP, Brasil. Disponível online em [http://www.unisantos.br/edul/public/pdf/politi\\_caambiental.pdf](http://www.unisantos.br/edul/public/pdf/politi_caambiental.pdf), 2008.

DE OLIVEIRA BOTELHO, E. R., SANTOS, M. D. C. F., ALMEIDA, L., & DA

SILVA, C. G. M. Estrutura Populacional Do Caranguejo-Uçá *Ucides Cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Brachyura: Ucididae) No Complexo Estuarino Do Rio Caravelas (Caravelas-Bahia). **Técnico-Científico**, 37.



DEPLEDGE, M. H.; FOSSI, M. C. The role of biomarkers in environmental assessment in Invertebrates. **Ecotoxicology**, v. 3, p. 161–72, 1994.

DICKERSON, H.W. *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* (Phylum Ciliophora). **Doenças e desordens de peixes**, v. 1, p. 116-153, 2006.

DUARTE, L. F. A.; SOUZA, C. A.; NOBRE, C. R. et al. Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western atlantic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.133, p.176-187, 2016

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto, Fundação Eng. António de Almeida. 339 p. 1994.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - **Monitoramento Ambiental**. Brasília – DF, Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2016.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The world's mangrove** 1980-2005. FAO Forestry Paper, nº 153. 2007.

FIRMINO, P. F.; MALAFAIA, G.; RODRIGUES, A. S. L. Diagnóstico da integridade ambiental de trechos de rios localizados no município de Ipameri, Sudeste do Estado de Goiás, através de um protocolo de avaliação rápida. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, 15(2), 1-12. 2011.

FREIRE, M.M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I. S.F.; ARIAS, A. R.L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v 12, n. 3, p 347-354. Doi: 10.4257/oeco.2008.1203.011. 2008.

FREITAS R, M.; RODRIGUEZ, E. M.; SANTOS, E. A.; ANSALDO, M. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**., v.125, p.157- 164, 2000.

FREITAS, R. A. D.; CORREIA, K. D. M.; TAVARES, M. G. D. O.; OLIVEIRA, G. M. C.; CINTRA, A.; RICIOLE, H.; ANTONIOSI, FILHO, N. R. Avaliação das brânquias de *Danio rerio* expostos a diferentes concentrações de gasolina e diesel. Pesticidas: r. **ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v. 23, jan./dez. 2013

FURTADO, J.G.C. **Estudo de impactos ambientais causados por metais pesados em água do mar na baía de São Marcos: correlações e níveis debackground**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Faculdade de João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. 74f.2007.

GARMENDIA, L.; SOTO, M.; CAJARAVI, M.P.; MARIGÓMEZ, I. Seasonality in cell and tissue-level biomarkers in *Mytilus galloprovincialis*: Relevance for long-term pollution monitoring. **Aquatic Biology**.v. 9, n. 3, p. 203-219. 2010.



GEO BRASIL (2002) - **Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil. 447p., Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis, Brasília, DF, Brasil**, ISBN: 85-7300-144-5 Disponível on-line em [http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/site\\_cnia/geo\\_brasil\\_2002.pdf](http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/site_cnia/geo_brasil_2002.pdf)

GIBSON, R.; BARKER, L. P. The decapod hepatopâncreas. **Oceanographic Marine Biology Annual Revision**, 17: 285- 346, 1979.

GLASER, M.; DIELE, K. Asymmetric outcomes: assessing central aspects of the biological, economic and social sustainability of a mangrove crab fishery, *Ucides cordatus* (Ocypodidae), in North Brazil. **Ecological Economics**, v. 49, p. 361-373. 2004.

GOMES, I. D.; NASCIMENTO, A. A.; SALES, A.; ARAÚJO, F. G. Can fish fill anomalies be used to assess water quality in freshwater neotropical systems? **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 9, p. 5523-5531, 2012.

GOULART, M. D.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como **Instituto Biológicos.**; v. 71, n. 2, p. 227-232, 2004.

GUIMARÃES, A.; RODRIGUES, A. S. L.; MALAFAIA, G. Adapting a rapid assessment protocol to environmentally assess palm swamp (Veredas) springs in the Cerrado biome, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 11, p. 189-592. 2017.

HARRIS, R. R.; SANTOS, M. C. F. Heavy metal contamination and physiological variability in the Brazilian mangrove crabs *Ucides cordatus* and *Callinectes danae* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biology**, v. 137, p. 691-703. 2000.

IKERD, J. L.; BURNETT, K. G.; BURNETT, L. E. Effects of salinity on the accumulation of hemocyte aggregates and bacteria in the gills of *Callinectes sapidus*, the Atlantic blue crab, injected with *Vibrio campbellii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 183, p. 97-106, 2015.

ILENA, C.; TRANCOSO, H. C.; GAZENAVE, J.; BACCHETTA, C.; BISTONI, M. A. Histopathological changes in the gills and liver os *Prochilodus lineatus* from the Salado River basin (Santa Fe, Argentina) **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 693-702, 2012.

IVO, C.T.C.; GESTEIRA, T.C.V. Synopsis of the observations on the bioecology and fishery of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), caught in estuaries in Brazil. **Boletim Técnico Científico do Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste**, v. 1, n. 7, p. 9-52, 1999.

JERGENTZA, S.; PESSACQ, P.; MUGNI, H.; BONETTO, C.SCHULZ, R. Linking in situ bioassays and population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine pampa. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, n. 2, p. 133-141, 2004.



JEROME, F. C.; HASSAN, A.; OMONIYI-ESAN, G. O.; ODUJOKO, O. O. CHUKWUKA, A. V. Metal uptake, oxidative stress and histopathological alterations in gills and hepatopancreas of *Callinectes amnicola* exposed to industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, p. 179–193, 2017.

JESUS, W. B.; SOARES, S. H.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ANDRADE, T. S. O. M., OLIVEIRA, S. R. S.; SANTOS, F. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores enzimáticos e histológicos em brânquias de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) indicativos de impactos ambientais em uma região portuária do nordeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1413-1423. 2020.

KRAHN, M. M.; MYERS, M. S.; BURROWS, D. G.; MALINS, D. C. Determinação de metabólitos de xenobióticos na bÍlis de peixe de águas poluídas. **Xenobiotica**, v. 14, n. 8, p. 633-646, 1994.

LEMKE, A. P.; VILHARVA, K, N.; SÚAREZ, Y. R. **Comparação entre o Índice de Qualidade da Água com um Protocolo de Avaliação Rápida em dois córregos urbanos do município de Naviraí, MS.** Realização, v. 5, n. 9, p. 87-92. 2018.

LIMA, M. N. B.; MOCHEL, F. R.; CASTRO, A. C. L. Bioecologia do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda:Brachyura) na Área de Proteção Ambiental das Reentrâncias Maranhenses, Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 23, p. 01-10, 2010.

MACFARLANE, G. T.; STEED, H.; MACFARLANE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. **Journal of Applied Physics. Microbiology**, v.104, n.2, p. 305–344, 2007.

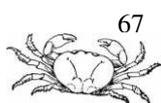
MAHARAJAN, A. et al. Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 72, p. 104–112, 2015.

MARCHESANI, E.; ZANELLA, R.; AVILA L.; CAMARGO E.; MACHADO, M. Rice herbicide monitoring in two brazilian rivers during the rice growing season. **Scientia Agricola** 64, 131-137, 2007.

MARTINEZ, C. B. R.; HARRIS, R.R.; SANTOS, M.C.F. Transepithelial potential differences and sodium fluxes in isolated perfused gills of the mangrove crab *Ucides cordatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 120, p. 227-236. 1998.

MELO, G. A. S. **Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro.** São Paulo, Editora Plêiade, 1996.

MMA, Programa Nacional do Meio Ambiente II PNMA II. Componente desenvolvimento institucional, Subcomponente monitoramento ambiental. **Ministério do Meio Ambiente /Secretaria de Biodiversidade e Florestas.** Brasília. - Fase 2 2009 – 2014.



- MOORE, M.N.; DEPLEDGE, M.H.; READMAN, J.W.; LEONARD, D.R.P. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. **Mutation Research**, 552 (1-2): 247-268. 2004.
- MORAES, E.E.B.; NUNESMAIA, B.J.B.; PINHEIRO, M.A.A. Population biology of the 'uçá'-crab, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura: Ucididae), in mangroves of the Joanes River, Bahia State. **Nauplius** v. 23, p. 59-71. 2015.
- MOUREAUX, C.; SIMON, J.; MANNAERTS, G.; CATARINO, A. I.; PERNET, P.; DUBOIS, P. Effects of field contamination by metals (Cd, Cu, Pb, Zn) on biometry and mechanics of echinoderm ossicles. **Aquatic Toxicology**, v. 105, p. 698– 707, 2011.
- NEGRO, C. L. Histopathological effects of endosulfan to hepatopancreas, gills and ovary of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda: Trichodactylidae). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 113, p. 87-94. 2015.
- NEGRO, C. L.; COLLINS, P. Histopathological effects of chlorpyrifos on the gills, hepatopancreas and gonads of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis*. Persistent effects after exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, n. February, p. 116–122, 2017.
- NOGA, E.J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. 378p
- NORDHAUS, I. **Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *U. cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil**. Bremen, 217f. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) - Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen. 2003.
- NORDHAUS, I.; DIELE, K.; WOLFF, M. Litter processing and population food intake of the mangrove crab *Ucides cordatus* in a high intertidal forest in northern Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 67, p. 239–250, 2006.
- NUDI, A. H.; WAGENER, A. L. R.; FRANCONI, E.; SCOFIELD, A. L.; SETTE, C. B.; VEIGA, A. Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. **Environment International**, n. 33, p. 315–327, 2007.
- NUNES, B.; ANTUNES, S. C.; GOMES, R.; CAMPOS, J. C.; BRAGA, M. R.; RAMOS, A. S.; CORREIA, A. T. Acute effects of tetracycline exposure in the freshwater fish *Gambusia holbrooki*: Antioxidant effects, Neurotoxy and histological alterations. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. V. 68, p. 371-381.2015
- O'CONNOR, J. D.; GILBERT, L. I. Aspects of lipid metabolism in crustaceans. **American Zoologist**, **New Hampshire**, v. 8, n. 3, p.529-568, ago. 1968.
- OCAÑA, A. F; JESÚS-NAVARRETE, A.; JESÚS-CARRILLO, R. M; OLIVA-RIVERA, J. J. Efectos del disturbio humano sobre la dinámica poblacional de *Ocypode*



quadrata (Decapoda: Ocypodidae) en playas del Caribe mexicano. **Revista de Biología Tropical**, (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) v. 64, n. 4, p. 1625-1641, 2016.

OLIVEIRA G. T.; ROSSI I. C.; KUCHARSKI, L. C.; DA SILVA, R. S. M. Hepatopancreas and glycogen content during fasting in crabs previously maintained on a high-protein or carbohydrate-rich diet. **Comparative Biochemistry and Physiology I Journal**. A 137: 383–390, 2004.

OLIVEIRA, S. R. S. DE. **Biomarcadores enzimáticos e histológicos em *Ucides cordatus* Linnaeus, 1763, Crustácea, Decapoda para avaliação do impacto antrópico na região portuária em São Luís, Maranhão**. 2018. 86 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2018.

OLIVEIRA, S. R. S.; BATISTA, W. D. S.; SOUSA, J. B. M. et al. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v.102, p.802-810, 2019.

ONOFRE, C. R. E.; CELINO, J. J.; NANO, R. M. W.; QUEIROZ, A.F.S. Biodisponibilidade de metais traços nos sedimentos de manguezais da porção norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. **Revista de biologia e ciências da terra**, v.7, n.2, p. 65-82, 2007.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3a ed. Maringá: EDUEM, 2008. 311p.

PELLON-MAISON, M. et al. *Macrobrachium borellii* Hepatopancreas Contains a Mitochondrial Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase Which Initiates Triacylglycerol Biosynthesis. *Lipids*, [s.l.], v. 44, n. 4, p.337-344. **Springer Science Business Media**. DOI: 10.1007/s11745-008-3275-1, 8 jan. 2009.

PEROTE, S. M. O. **Estrutura populacional da floresta de mangue e do caranguejoca, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), na Reserva Extrativista Marinha “Mãe Grande” de Curuçá, Curuçá - PA**. Dissertação (Mestrado em Recursos Biológicos da Zona Costeira Amazonica - Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Bragança – PA. 90f. 2010.

PINHEIRO, M. A. A. et al. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 81, p. 114–121, 2012.

PINHEIRO, M. A. A.; DUARTE, L. F. A.; TOLEDO, T. R.; ADAM, M. L.; TORRES, R. A. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 10, p. 8273-8285, 2013.

PINHEIRO, M. A. A.; SILVA, P. P. G.; DUARTE, L. F. A.; ALMEIDA, A. A.; ZANOTTO, F. P. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea, Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* 40



(Angiosperma: Rhizophoraceae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 81, p. 114-121, 2012.

PINHEIRO, M.; OMAS TOLEDO, T. Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), in Sao Vicente, State of Sao Paulo, Brazil. **Revista CEPSUL**, v. 1, n. 1, p. 61–65, 2010.

PINHEIRO, M. A. A.; TADDEI, F. G. Relação peso/largura da carapaça e fator de condição em *Dilocarcinus pagei* Stimpson (Crustacea, Trichodactylidae), em São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v 22, n. 4, p. 825-829, 2005.

PINHEIRO, M. A. A.; COSTA, T. M.; GADIG, O. B. F.; BUCHMAN, F. S. C. **Os ecossistemas costeiros e sua biodiversidade na Baixada Santista**. In: Oliveira, A.J.F.C.; Pinheiro, M.A.A.; Fontes, R.F.C. (Eds.) *Panorama Ambiental da Baixada Santista*, Universidade Estadual Paulista – Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente (SP), pp 7-26. 2008.

PINHEIRO, M. A. A.; FISCARELLI, A. G. **Manual de apoio à fiscalização do caranguejo-uçá. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (IBAMA) / Centro de Pesquisa e Extensão Pesqueira das Regiões Sudeste e Sul (CEPSUL) 1ª ed.** Itajaí, p 60, 2001.

PINHEIRO, M. A. A.; FISCARELLI, A. G.; HATTORI, G. Y. Growth of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura: Ocypodidae) at Iguape, SP, Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 25, n. 2, p. 293-301, 2005.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Integrated analysis of two biomarkers in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes), to assess the environmental impact at São Marcos' Bay, Maranhão, **Brazil. Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 41, n. 2, p. 305-312, 2013.

PINTO, M. P. G.; DE OLIVEIRA, B. O. S.; VALENTE, K. S. Avaliação de Impactos Antropogênicos em córregos na zona urbana da Amazônia Ocidental: Humaitá, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 8 n. 3. 2020.

PROTAZIO, G. DOS S. / **Biomarcadores genotóxicos e histológicos em *Ucides cordatus* Crustacea, Decapoda indicativos de impactos em áreas portuárias e de manguezais da Ilha do Maranhão**. Dissertação (Mestrado em OCEANOGRAFIA, Universidade Federal do Maranhão). 2020.

RAGUNATHAN, M. G. Vicissitudes of oxidative stress biomarkers in the estuarine crab *Scylla serrata* with reference to dry and wet weather conditions in Ennore estuary, Tamil Nadu, India. **Marine Pollution Bulletin**, v. 116, p. 113–120, 2017.

REBELO, M. F.; RODRIGUEZ, E. M.; SANTOS, E. A.; ANSALDO, M. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 125, p. 157–164, 2000.



RIBEIRO, E. B.; NOLETO, K. S.; DE OLIVEIRA, S. R. S.; DE JESUS, W. B.; DE SOUSA SERRA, I. M. R.; DE ALMEIDA, Z. D. S.; JORGE, M. B. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. **Marine pollution bulletin**, v158, p. 111-348. 2020.

ROBERTS, R.J.; KA JOHNSON.; MT CASTEN. 2004. Control of *Salmincola californiensis* (Copepoda: Lernaeopodidae) in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum): a clinical and histopathological study. **Journal of Fish Diseases**, v. 27, n. 2, p. 73-79, 2004.

ROCHA, C.H.S. **Bioacumulação de metais e presença de metalotioneína no caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, São Luis, MA, 2017.

RODRIGUES-BATISTA, J.; ZIMMERMANN, G. P. R.; DA ROSA NETO, E.; GEHLEN, G.; SILVA, L. B. Analysis of histopathological abnormalities in the gills of *Astyanax jacuhiensis* (Characidae) for assessment of water quality in the Ijuí River, southern Brazil. **Acta toxicológica Argentina**, v. 26, n. 3, p. 99-103, 2018.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. Roca: São Paulo, 2005.

SAINT-PAUL, U. **Interrelations among Mangroves, the Local Economy and Social Sustainability: a Review from a Case Study in North Brazil**, in.: Environment and Livelihoods in Tropical Coastal Zones, eds HOANH, C.T.; TUONG, T.P.; GOWING, J.W.; HARDY, B., p. 154-162. 2006.

SANTOS, M. C. F. Drinking and osmoregulation in the mangrove crab *Ucides cordatus* following exposure to benzene. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 133, p. 29–42. 2002.

SANTOS, R. M.; WEBER, L.; SOUZA, V. L.; SOARES, A. R.; PETRY, A. C. Effects of water-soluble fraction of petroleum on growth and prey consumption of juvenile *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes: Erythrinidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 10-17, 2016.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G. Brazilian mangroves: a historical ecology. **Ciência e Cultura**, v 51, n. 3, p. 271-286, 1999.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezal, marisma e apicum (Diagnóstico Preliminar)**. In: Fundação BIO-RIO; MMA - Ministério do Meio Ambiente. Avaliações e ações prioritárias para conservação da biodiversidade das Zonas Costeira e Marinha. Brasília: MMA/SBF. 2002.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. **Caribbean Ecological Research**, São Paulo, p 64, 1995.



SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; SORIANO-SIERRA, E.J.; VALE, C.C.; BERNINI, E.; ROVAI, A.S.; PINHEIRO, M.A.A.; SCHMIDT, A.J.; ALMEIDA, R.; COELHO-JR, C.; MENGHINI, R.P.; MARTINEZ, D.I.; 22 ABUCHAHLA, G.M.O.; CUNHA-LIGNON, M.; CHARLIER-SARUBO, S.; SHIRAZAWA-FREITAS, J.; CINTRÓN-MOLERO, G. Climate changes in mangrove forests and saltmarshes. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. 2, p. 83-98, 2016.

SCHORIES, D. et al. The keystone role of leaf-removing crabs in mangrove forests of North Brazil. **Wetlands Ecology and Management**, v. 11, n. 4, p. 243–255, 2003.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; WOLFGANG, H.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

SILVA, C.S.L.M. **Utilização de ensaios ecotoxicológicos na avaliação de risco ambiental promovido por pesticidas: caso-estudo Brejo do Cagarrão**. 128 p. Dissertação de mestrado – Escola Superior Agrária de Beja, Portugal, 2012.

SILVA, J. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; FORTES, L. F. **Bio-Ontologia como suporte ao monitoramento de duas espécies de peixes da Baía de São Marcos, São Luis (MA)**. São Luis EDUEMA. p. 254. 2016.

SOARES, T. S.; CORTES, M. A. S.; FREITAS, A. D.; VASCONCELOS, F. C. W. Avaliação dos impactos ambientais na área de influência direta do córrego da Estiva, município de Betim, MG, Brasil. **Ciência e Natura**, v. 38, n. 2, p. 620-636. 2016.

SOTO-JIMÉNEZ M. F.; PÁEZ-OSUNA, F. Distribution and normalization of heavy metal concentrations in mangrove and lagoonal sediments from Mazatlan Harbor (SE gulf of California). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 53, n. 3, p. 259-274, 2001.

SOUSA L.G. **Estudios sobre las modificaciones tisulares del camarón *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea). Su empleo como indicadores de contaminación. Tesis Doctoral (Doctorado en Ciencias, área Biología)**. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 2003.

SOUSA, D. B. P.; CARVALHO-NETA, R. N. F. **Lesões branquais e hepáticas como biomarcadores de contaminação aquática em *Sciades herzbergii* e *Bagre bagre* da Baía de São Marcos, Maranhão**. Relatório parcial (Iniciação Científica - CNPq). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PPG) - UEMA. São Luís, p. 22, 2012.

SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Integrated analysis of two biomarkers in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes) to assess the environmental impact at São Marcos' Bay, Maranhão. Brazil **Latim American Journal of Aquatic Research**, v. 41, p. 305-312, 2013.



SOUSA, J. K. C. **Avaliação de impactos ambientais causados por metais traço em água sedimento e material biológicos na Baía de São Marcos, São Luís-Maranhão.** Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. 110f. 2009.

SOUZA, C. A. D. **O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), como espécie bioindicadora do estado de conservação de manguezais.** (tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista UNESP). 2016.

SOUZA-FILHO, P. W. M. Costa de manguezais de macromaré da Amazônia: cenários morfológicos, mapeamento e quantificação de áreas usando dados de sensores remotos. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 4, n. 23, p. 427-435, 2005.

SPALDING, M.; KAINUMA, M.; COLLINS, L. Mangrove and People. In: SPALDING, M.; KAINUMA, M.; COLLINS, L. (eds) **Word Atlas of Mangroves.** Earthscan, Washington (DC), p. 23-43, 2010.

TABASSUM, H.; ASHFAQ, M.; KHAN, J.; SHAH, M. D. Z.; RAISUDDIN, S.; PAREVEZ, S. Short term exposure of pendimethalin induces biochemical and histological perturbations in liver, kidney and gill of freshwater fish. **Ecological Indicators**. V. 63, p. 29-36. 2016.

TOLEDO, A. C. C. **Efeito do Benzeno e da mudança de salinidade no consumo de oxigênio e amônia excretada no caranguejo de mangue *Ucides cordatus*.** Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Fisiologia Geral), Universidade de São Paulo. 127 p. São Paulo, 1999.

TOLEDO, T.R.; TORRES, R.A.; PINHEIRO, M.A.A. **Avaliação do impacto genotóxico em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) em sistemas de manguezais do sudeste do Brasil.** XII Congresso Latino- Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR, Florianópolis. 2007.

TORRES, H. S. **Biomarcadores histopatologias em duas espécies de bagres (Pisces, Ariidae) de importância econômica na Baía de São Marcos Maranhão** (Dissertação Mestrado) – Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca. Universidade Estadual do Maranhão, 2015.

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, n. 2, p. 57-149, 2003.

VARGAS, M. et al. Parásitos y lesiones histopatológicas en branquias de gamitanas (*Colossoma macropomum*) juveniles bajo crianza semiintensiva. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 26, n. 4, p. 577-586, 2015

VASANTHI, L. A.; MURUGANANDAM, A.; REVATHI, P.; BASKAR, P.; JAYAPRIYAN, K.; BABURAJENDRAN, R.; MUNUSWAMY, N. The application of histocytopathological biomarkers in the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) to assess heavy metal toxicity in Pulicat Lake, Chennai. **Marine Pollution Bulletin**, v. 81, p. 85–93, 2014.



VENTURA, A. S.; DOS SANTOS, J. S.; VIEIRA, A. N.; ZANELLA, J.; DE ARAÚJO GABRIEL, A. M. Efeitos do parasitismo por *Ichthyophthirius multifiliis* sobre as brânquias de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (OSTEICHTHYES: CHARACIDAE). **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 12, n. 4, p. 263-269. 2018.

VIANA, L.F.; TONDATO, K.K.; SÚAREZ, Y.R.; LIMA-JUNIOR, S.E. Influence of environmental integrity on the reproductive biology of *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski. in the Ivinhema river basin **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 2, p. 165-173, 2014.

VIEIRA, R. H. S. F.; LIMA, E. A.; SOUSA, D. B. R.; REIS, E. F.; COSTA, R. G.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp., presence and susceptibility in crab *Ucides cordatus*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.46, n. 4, p. 179-182. 2004.

VIARENGO, A.; LOWE, D.; BOLOGNESI, C.; FABBRI, E. & KOEHLER, A. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology part C: Toxicology and Pharmacology**, 146(3): 281-300. 2007.

WALKER, C. H. et al. **Principles of ecotoxicology**. London: Taylor & Francis, 1996.

WINKALER, E. U.; DAS GRAÇAS SILVA, A.; GALINDO, H. C.; DOS REIS MARTINEZ, C. B. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 23, 507-514. 2001.

WOLFF, M.; KOCH, V.; ISAAC, V. A trophic flow model of the Caeté mangrove estuary (North Brazil) with considerations for the sustainable use of its resources. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 789-803. 2000.

WONG, C.K.; WONG, M.H. Morphological and biochemical changes in the gills of *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 48, n. 4, p. 517-527, 2000.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 478 p. 2006.

ZHANG C, Y. U Z.G.; ZENG G. M.; JIANG M.; YANG Z. Z.; CUI F.; HU L. Effects of sediment geochemical properties on heavy metal bioavailability. **Environment international**, v. 73, p. 270-281, 2014.

