



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE**



**BIOMARCADORES EM *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763),
DESENVOLVIMENTO DE BIO-ONTOLOGIA E APLICATIVO PARA
MONITORAMENTO DE IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES
PORTUÁRIAS DO MARANHÃO**

SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

São Luís – MA
2024

SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

**BIOMARCADORES EM *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763),
DESENVOLVIMENTO DE BIO-ONTOLOGIA E APLICATIVO PARA
MONITORAMENTO DE IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES
PORTUÁRIAS DO MARANHÃO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, na Universidade Estadual do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Prof.a Dr.a Raimunda
Nonata Fortes Carvalho Neta

São Luís – MA
Dez/2024

Oliveira, Suelen Rosana Sampaio de.

Biomarcadores em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), Desenvolvimento de Bio-Ontologia e Aplicativo para Monitoramento de Impactos Ambientais em Regiões Portuárias do Maranhão . / Suelen Rosana Sampaio de Oliveira. – São Luís(MA), 2024.

100p.

Tese (Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - PPG BIONORTE) Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, 2024.

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

Elaborado por Luciana de Araújo - CRB 13/445

SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

**BIOMARCADORES EM *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763),
DESENVOLVIMENTO DE BIO-ONTOLOGIA E APLICATIVO PARA
MONITORAMENTO DE IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES
PORTUÁRIAS DO MARANHÃO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-Graduação
em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede
BIONORTE, na Universidade Estadual do
Maranhão, como requisito parcial para a
obtenção do Título de Doutor em
Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em: 25/11/2024

Banca examinadora

Prof.^a Dr.^a Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof.^a Dr.^a Débora Batista Pinheiro Sousa
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Jadson Pinheiro Santos
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Jonatas da Silva Castro
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof.^a Dr.^a Marianna Basso Jorge
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Suelen Rosana Sampaio de Oliveira, (☒) autorizo (☐) não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “BIOMARCADORES EM *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763), DESENVOLVIMENTO DE BIO-ONTOLOGIA E APLICATIVO PARA MONITORAMENTO DE IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES PORTUÁRIAS DO MARANHÃO” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

São Luís (MA), 26 de dezembro de 2024.

Suelen Rosana Sampaio de Oliveira

Este trabalho é dedicado a Deus e às
minhas famílias de sangue e
científica.

AGRADECIMENTOS

Neste espaço, gostaria de expressar a minha gratidão:

À Deus pelo dom da vida, proteção, cuidado e amor. Também agradeço a Ti, Senhor, pelo acalento nos momentos de ansiedade durante a escrita desta Tese.

À minha família, em especial a minha mãe Maria das Dores Sampaio de Oliveira e meu pai Valdecy Gomes de Oliveira, por ser minha base, por não pouparem esforços para a minha formação. Agradeço também ao meu esposo Nathanael, pelo companheirismo, estímulo e cuidado. Amo vocês!

À minha orientadora, Raimunda Fortes, por mais esta oportunidade de trabalharmos juntas, partilhar seu conhecimento, apoio e dedicação. Obrigada por ser exemplo de profissional ético e acima de tudo, amável. Minha querida “mãe científica”, muito obrigada!

À equipe do Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) e do Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática (LABPEA) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), em especial ao Gerson, Luan e Luciana, pelo suporte na pesquisa em campo e laboratório. E também à equipe do Laboratório de Biologia e Ambiente Aquático (BioAqua) e do Laboratórios Multiusuários em Pesquisa da Pós-Graduação (LAMP) da UEMA, em especial a Natália Jovita pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas.

À professora Thaís Roseli Corrêa e sua equipe do Laboratório de Cultura de Tecidos da UEMA pela disponibilização do equipamento para as análises bioquímicas.

À professora Marianna Basso Jorge da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), por disponibilizar o ultrafreezer para armazenamento das amostras.

À Fundação de Amparo a Pesquisas e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo incentivo à pesquisa e pelo auxílio financeiro dos projetos, inclusive o deste trabalho.

Aos catadores de caranguejo Seu Mundico, do Porto Grande, e Seu Ribamar e Seu Maruim, da Raposa, pelo transporte até os pontos de coleta, seu trabalho de catação e conhecimento popular. A pesquisa não seria possível sem vocês! Muito obrigada!

A todos do Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia e Monitoramento de Ambientes Aquáticos (GPEMAAq), deixo meus sinceros agradecimentos pelas valiosas contribuições e discussões que ajudaram no desenvolvimento da pesquisa.

À Universidade Estadual do Maranhão, pelo incentivo financeiro e por proporcionar a oportunidade de desenvolver este trabalho e o suporte necessário, através do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE).

A todos aqueles que estiveram ao meu lado, seja apoiando ou incentivando, na realização deste trabalho, deixo-lhes meu muito obrigada!

**Consagre ao Senhor tudo o que
você faz, e os seus planos serão
bem-sucedidos.**

(Provérbios 16:3)

**Caranguejo-Uçá
Caranguejo-Uçá
Apanho ele na lama
e boto no meu caçua!**

(Gilberto Gil)

OLIVEIRA, Suelen Rosana Sampaio de. **Biomarcadores em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), Desenvolvimento de Bio-Ontologia e Aplicativo para Monitoramento de Impactos Ambientais em Regiões Portuárias do Maranhão.** 2024. 99 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2024.

RESUMO

Com este trabalho objetivou-se utilizar biomarcadores em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) como base para o desenvolvimento de uma bio-ontologia e um aplicativo, para monitorar impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão. Em 2021, espécimes machos de *U. cordatus* (caranguejo-uçá) foram capturados trimestralmente nos manguezais do Complexo Portuário de São Luís – MA (através da técnica de braceamento) em dois pontos diferenciados: P1 localizado entre dois portos na região industrial de São Luís (onde há um intenso fluxo de embarcações de pequeno e grande porte, em decorrência das atividades portuárias e pesqueiras); P2 que está próximo de um importante porto pesqueiro e turístico da região sujeito à interferência humana (efluentes, resíduos sólidos e óleo de motor de embarcação). Dos exemplares foram registradas as medidas biométricas e extraídos as brânquias e hepatopâncreas para análise histológica e da atividade de enzimas (catalase – CAT e glutatona S-transferase – GST). Brânquias, hepatopâncreas e tecido comestível dos caranguejos também foi coletado para análise de metais (Al, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Pb, Mn, Ni e Zn). Em campo, foram coletadas amostras de águas e sedimentos para análise do conteúdo de metais e outros elementos (Al, As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg, Mn, N, Ni, P e Zn). O resultado para os parâmetros abióticos mostrou valores de acordo com a legislação para ambas áreas. Al, P, Mn e Zn foram encontrados em níveis acima dos permitidos na água. Todos os elementos encontrados no sedimento foram maiores em P1. Em geral, os elementos nos tecidos foram concentrados na ordem: Fe>Al>Zn>Cu>Mn>Ni>Cr>Pb para o ponto P1 e Al>Fe>Zn>Cu>Mn>Ni>Cr>Pb para o ponto P2. Alterações nas atividades de CAT e GST em caranguejos de ambas áreas foram encontradas, sendo as brânquias com registro de maior atividade ($p < 0,05$), pois estavam em contato direto com o contaminante (resposta aguda). Os resultados mostraram maiores valores de lesões histológicas em P1, mas observou-se que o dano ao órgão foi semelhante entre as áreas. As lesões classificadas como irreversíveis foram encontradas em grande número em organismos capturados em P1, comprometendo o funcionamento do órgão e a sanidade dos organismos residentes nessa região. Alterações histológicas mais graves foram observadas no hepatopâncreas, sendo o melhor órgão evidenciar o histórico de contaminação. As informações de biomarcadores serviram de base para a construção da bio-ontologia com a espécie biomonitora. A evolução da ontologia ajudou a conectar conceitos, facilitando o entendimento sobre o estresse do ambiente estuarino onde estão localizadas as atividades portuárias. Isso reforça a utilidade da bio-ontologia para monitoramento ambiental em regiões portuárias. O software Crab Monitor foi criado e atuará no melhor compartilhamento e acesso a informações, numa abordagem mais eficaz de biomonitoramento de regiões portuárias com espécies nativas. Com base nos resultados obtidos conclui-se que a bio-ontologia e o software Crab Monitor podem auxiliar no monitoramento contínuo e preditivo de regiões portuárias e industriais.

Palavras-chave: Aplicativo; Bioinformática; Caranguejo-uçá; Monitoramento ambiental; Brânquias; Hepatopâncreas.

OLIVEIRA, Suelen Rosana Sampaio de. **Biomarkers in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), Development of Bio-Ontology and Application for Monitoring Environmental Impacts in Port Regions of Maranhão.** 2024. 99 f. Thesis (Ph.D. in Biodiversity and Biotechnology) – State University of Maranhão, São Luís, MA – Brazil, 2024.

ABSTRACT

This study aimed to use biomarkers in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) as a basis for the development of a bio-ontology and an application to monitor environmental impacts in port regions of Maranhão. In 2021, male specimens of *U. cordatus* (caranguejo-uçá) were captured quarterly in the mangroves of the Port Complex of São Luís - MA (through the bracing technique) at two different points: P1 located between two ports in the industrial region of São Luís (where there is an intense flow of small and large vessels, due to port and fishing activities); P2 which is close to an important fishing and tourist port in the region subject to human interference (effluents, solid waste and vessel engine oil). Biometric measurements were recorded from the specimens and the gills and hepatopancreas were extracted for histological analysis and enzyme activity (catalase – CAT and glutathione S-transferase – GST). Gills, hepatopancreas and edible tissue of the crabs were also collected for analysis of metals (Al, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Pb, Mn, Ni and Zn). In the field, water and sediment samples were collected for analysis of the content of metals and other elements (Al, As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg, Mn, N, Ni, P and Zn). The results for the abiotic parameters showed values in accordance with the legislation for both areas. Al, P, Mn and Zn were found at levels above those permitted in the water. All elements found in the sediment were higher in P1. In general, the elements in the tissues were concentrated in the order: Fe>Al>Zn>Cu>Mn>Ni>Cr>Pb for point P1 and Al>Fe>Zn>Cu>Mn>Ni>Cr>Pb for point P2. Changes in CAT and GST activities were found in crabs from both areas, with the gills showing the highest activity ($p < 0.05$), as they were in direct contact with the contaminant (acute response). The results showed higher values of histological lesions in P1, but it was observed that the damage to the organ was similar between the areas. The lesions classified as irreversible were found in large numbers in organisms captured in P1, compromising the functioning of the organ and the health of the organisms residing in this region. More severe histological changes were observed in the hepatopancreas, with the organ best demonstrating the history of contamination. The biomarker information served as a basis for the construction of the bio-ontology with the biomonitor species. The evolution of the ontology has helped to connect concepts, facilitating the understanding of the stress of the estuarine environment where port activities are located. This reinforces the usefulness of the bio-ontology for environmental monitoring in port regions. The Crab Monitor software was created and will act to better share and access information, in a more effective approach to biomonitoring of port regions with native species. Based on the results obtained, it is concluded that the bio-ontology and the Crab Monitor software can assist in the continuous and predictive monitoring of port and industrial regions.

Keywords: Application; Bioinformatics; Caranguejo-uçá; Environmental monitoring; Gills; Hepatopancreas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de Localização da Ilha de São Luís, demonstrando os pontos de coleta.	28
Figura 2. Manguezais de coleta de amostras biológicas e ambientais.....	28
Figura 3. Exemplar de <i>Ucides cordatus</i>	29
Figura 4. Vista dorsal da espécie <i>U. cordatus</i> demonstrando a forma correta para mensurar a largura (A) e comprimento (B) do cefalotórax.	32
Figura 5. Exemplares de <i>U. cordatus</i> enfileirados, aguardando a finalização da análise biométrica.	33
Figura 6. Etapas do procedimento bioquímico.	34
Figura 7. Média e desvio padrão para os dados de variável abiótica da água coletadas nos pontos amostrais durante os períodos chuvoso e seco.	41
Figura 8. Atividade das enzimas CAT e GST nas brânquias e hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> durante o ano de 2021.....	45
Figura 9. Análise multivariada de metais e biomarcadores enzimáticos em brânquias e hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> capturados em P1 e P2.	46
Figura 10. Alterações histológicas encontradas nas brânquias e hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> , coletados na baía de São Marcos.	47
Figura 11. Soma total das lesões em brânquias e hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> coletados durante os períodos sazonais de 2021, nos dois sites de coleta.	47
Figura 12. Valores de índice para brânquias (Ig) e hepatopâncreas (Ih) de <i>U. cordatus</i> em cada área.....	49
Figura 13. Interface do programa Protégé mostrando as classes e subclasses da bio-ontologia de monitoramento de regiões portuárias.....	50
Figura 14. Propriedade dos objetos conectando os conceitos da bio-ontologia.	52
Figura 15. Instâncias das subclasses Captura e Biometria (losangos roxos).....	52

Figura 16. Instâncias das subclasses Ponto de amostragem, Período sazonal e Parâmetros abióticos.....	53
Figura 17. Instâncias da subclasse Biomarcador bioquímico.....	53
Figura 18. Detalhamento da estrutura da bio-ontologia, destacando a subclasse Lesões branquiais e suas instâncias (losangos roxos).....	54
Figura 19. Detalhamento da estrutura da bio-ontologia, destacando as instâncias da subclasse Lesões no hepatopâncreas.	54
Figura 20. Estrutura da bio-ontologia de monitoramento de regiões portuárias, mostrando as classes e subclasses, e o tipo de relacionamentos de acordo com as cores das setas.	55
Figura 21. Ícone do aplicativo Crab Monitor.	56
Figura 22. Interface do aplicativo Crab Monitor.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Referência dos métodos utilizados para a análise de metais nos tecidos de <i>U. cordatus</i> , fornecidas pelo laboratório especializado.....	30
Tabela 2. Referência dos métodos utilizados para a análise de metais e outras substâncias na água e sedimentos, fornecidas pelo laboratório especializado.	31
Tabela 3. Fator de importância (w) das lesões em brânquias e hepatopâncreas de acordo Jerome et al. (2017) com base em Bernet et al. (1999), com pequenas adaptações.	35
Tabela 4. Resultado de metais e outros elementos medidos em amostras de água e sedimento coletados em P1 e P2, em 2021.	42
Tabela 5. Resultados de metais encontrados em amostras de brânquias, hepatopâncreas e tecido comestível (músculo) de <i>U. cordatus</i> coletadas nos dois pontos de amostragem (P1 e P2).	43
Tabela 6. Medianas dos dados biométricos de <i>U. cordatus</i> coletados durante o período chuvoso e seco, em P1 e P2.	44
Tabela 8. Porcentagem de danos às brânquias e ao hepatopâncreas de <i>U. cordatus</i> causada por lesões, durante 2021, nos dois pontos amostrais.	48
Tabela 7. Registros de medidas biométricas de <i>U. cordatus</i> capturados na região portuária de São Luís - MA, e outras regiões de baixo impacto.....	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS.....	17
1.1.1 Objetivo geral.....	17
1.1.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Bio-ontologias e suas aplicações.....	19
2.2 Espécies biomonitoras e respostas biológicas	21
2.3 Biomonitoramento em regiões portuárias	23
2.4 Abordagens metodológicas para ambientes portuários de São Luís utilizando biomarcadores	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Área de estudo	27
3.2 Táxon utilizado como biomonitor	28
3.3 Amostragem	29
3.3.1 Amostras biológicas	29
3.3.2 Amostras ambientais	31
3.4 Análise Biométrica	32
3.5 Obtenção de amostras de brânquias e hepatopâncreas	33
3.6 Análises bioquímicas.....	33
3.7 Análise histológica.....	34
3.8 Análises estatísticas.....	35
3.9 Bio-ontologia.....	36
3.9.1 Domínio e escopo.....	37
3.9.2 Termos importantes.....	37
3.9.3 Classes e hierarquia de classes	38
3.9.4 Propriedades	38
3.9.5 Instâncias.....	39
3.10 Aplicativo (software) para monitoramento ambiental: Crab Monitor.....	40
4 RESULTADOS	41
4.1 Parâmetros ambientais.....	41
4.2 Biometria da espécie	43
4.3 Biomarcadores enzimáticos	44
4.4 Biomarcadores histológicos.....	46

4.5 Bio-ontologia de biomarcadores em <i>Ucides cordatus</i> para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão	49
4.6 Crab Monitor	55
5 DISCUSSÃO	57
5.1 Parâmetros ambientais	57
5.2 Biometria da espécie	59
5.3 Biomarcadores enzimáticos	61
5.4 Biomarcadores histológicos	63
5.5 Bio-ontologia de biomarcadores em <i>Ucides cordatus</i> para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão	63
5.6 Crab Monitor	65
6 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS	69
ANEXOS	82
ANEXO I	83
ANEXO II.....	85

1 INTRODUÇÃO

Os portos são áreas inseridas em uma zona costeira/marítima, lacustre ou hidroviária, notavelmente reconhecidos por razões econômicas, bem como militares (FALCÃO; CORREIA, 2012). No passado, foi o responsável pela origem de muitas cidades brasileiras, mas atualmente, possui papel fundamental no desenvolvimento econômico nacional (KAPPEL, 2005; FALCÃO; CORREIA, 2012).

Estas instituições brasileiras sofreram grandes mudanças ao longo dos anos, tornando-se mais competitivas em relação ao mercado internacional e apresentando uma significativa melhora na dinâmica de embarque e desembarque de cargas, aumentando assim, o fluxo de mercadorias (SOUZA; GRANATO, 2017).

Empreendimentos portuários importantes, como o Porto de Santos (São Paulo), Porto de Suape (Pernambuco), Porto de Paranaguá (Paraná), Complexo Portuário do Itaqui (Maranhão), mostram cada vez mais desempenhos positivos em relação à movimentação de cargas (ANTAQ, 2020). Mesmo em meio a pandemia da covid-19, houve um crescimento de 4,2% em 2020 em relação a 2019, totalizando uma movimentação de 1,151 bilhão de toneladas de mercadorias em 2020 (ANTAQ, 2021). Dentre as cargas com maior movimentação no setor portuário brasileiro estão o minério de ferro, petróleo e derivados, cujo o embarque e desembarque não foram afetados pela pandemia da covid-19 (ANTAQ, 2021).

Porém, o desenvolvimento de regiões portuárias gera um alerta sobre as possíveis contaminações, pois com a alta demanda de produtos, há um crescimento na geração de resíduos que são lançados diariamente nos corpos hídricos em que estas atividades estão inseridas (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003; BINI; WAHSHA, 2014). Diante desse cenário, os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), elaborados pelos Estados membros da Organização das Nações Unidas (ONU), destacam a importância de conciliar o crescimento econômico com a proteção ambiental (THE GLOBAL GOALS, 2024). O ODS 14 e o 15, por exemplo, enfatiza a necessidade de conservar e utilizar de forma sustentável os oceanos, mares, recursos marinhos e ecossistemas terrestres. Assim, torna-se imprescindível o monitoramento dessas áreas com potencial de causar danos a curto e longo prazo, bem como danos irreversíveis aos organismos presentes nessas áreas. Portanto, o biomonitoramento, metodologia que utiliza organismos nativos, surge como uma ferramenta crucial para avaliar a saúde ambiental.

Pesquisas com a biota realizadas nas proximidades das regiões portuárias brasileiras já demonstram impactos negativos no meio ambiente (ex.: PEREIRA et al., 2011; AZEVEDO-

LINHARES; FREIRE, 2015; LAVRADAS et al., 2016; SARDI et al., 2016; JESUS et al., 2020). Estes estudos demonstraram as respostas biológicas das espécies, quando estão expostas a xenobióticos, chamadas de biomarcadores.

Um biomarcador é definido como alterações a qualquer nível de organização biológica (molecular, celular, tecidual, fisiológico ou comportamental) que ocorrem em organismos expostos a estressores ambientais (FREIRE et al., 2008). É uma metodologia amplamente utilizada em estudos de monitoramento ambiental devido a facilidade e rapidez no diagnóstico do biomonitoramento de uma região, identificando os danos às espécies, e auxiliando os gestores nas tomadas de decisões para prevenir danos ecológicos severos (CAJARAVILLE et al., 2000; DELUNARDO et al., 2013). Biomarcadores histológicos e enzimáticos são geralmente os mais utilizados nos estudos de impactos ambientais. Em especial, enzimas de estresse oxidativo, como a catalase (CAT) e de biotransformação de fase II, como a glutathione S-transferase (GST), que foram escolhidas devido a sua vasta utilização e publicação em artigos científicos.

Dentre os órgãos mais utilizados para a análise de biomarcadores, temos as brânquias, os rins e o fígado (para os vertebrados) e hepatopâncreas (para os invertebrados) (BERNET et al., 1999; PEREIRA NAVARRO LINS et al., 2010). A escolha destes órgãos, deve-se principalmente ao contato direto do órgão com a mistura complexa de contaminantes na água (brânquias) e por apresentarem funções relacionadas à biotransformação, desintoxicação e excreção de substâncias no organismo (fígado, hepatopâncreas e rins) (BRESEGHELO et al., 2004; DE OLIVEIRA et al., 2019). Estes órgãos geralmente são extraídos de espécies biomonitoras, e por definição, são “organismos (ou partes de organismos ou comunidades de organismos) que contêm informações sobre os aspectos quantitativos da qualidade do meio ambiente” (MARKERT; BREURE; ZECHMEISTER, 2003), e portanto, são consideradas mais adequadas para utilizar no biomonitoramento. Um exemplo de espécie biomonitora é o caranguejo *Ucides cordatus*, importante economicamente para as populações ribeirinhas e ecologicamente para a ciclagem de nutrientes. Além disso, é um crustáceo que vem demonstrando resultados satisfatórios em estudos de biomonitoramento de regiões impactadas (DE JESUS et al., 2021), tornando-se um valioso biomonitor e assim, escolhida como espécie-chave para esse estudo.

Esta metodologia de biomonitoramento pode ser utilizada em uma diversidade de organismos (ZUCCHI et al., 2004), e, por trazer informações valiosas, devem ser depositadas em um repositório para demonstrar resultados de efeito crônico nos organismos. Há vários bancos de dados conhecidos, inclusive com acesso através de softwares (aplicativos) com a

finalidade de coletar e armazenar dados relevantes, sendo algumas embasadas na ontologia (SILVA, 2015).

De forma geral, na bioinformática, a ontologia é utilizada como uma técnica que auxilia na compilação e organização do conhecimento (ALMEIDA, 2014), e segundo Terra et al. (2017), “as ontologias são consideradas um meio para facilitar a reutilização e o compartilhamento de conhecimento em aplicativos e grupos de pessoas”, além de tornar explícitas hipóteses sobre o domínio e separar conhecimento de um domínio do conhecimento operacional (GRUBER, 1993).

A ontologia, quando voltada para o campo da Ciências Biológicas e da Biotecnologia, é denominada como bio-ontologia. No cenário da Biotecnologia e Bioinformática, a bio-ontologia se destaca no fornecimento de informações importantes a bancos de dados internacionais, como a Gene Ontology, que atua no depósito de informações acessíveis relacionadas a descrições estruturais e funcionais de genes e suas aplicações (CARVALHO NETA, 2018).

No contexto ambiental, estudos que utilizam este método no monitoramento são ainda restritos (CARVALHO NETA, 2018), visto que há poucos dados publicados. Assim, a bio-ontologia, através da organização de dados, pode enriquecer o monitoramento. Desta forma, a inclusão de informações sobre monitoramento de regiões portuárias brasileiras em um aplicativo de banco de dados, apoiada por uma ontologia, pode facilitar em uma melhor percepção do grau de perturbação dos ecossistemas locais, gerar resultados mais compreensíveis e auxiliar os gestores em relação as causas ambientais, já que as informações, uma vez depositadas em banco de dados, ficam disponíveis para futuras análises e relação de dados.

Diante as informações e problemas relatados, ocorreu o seguinte questionamento: “Que abordagem tecnológica podemos utilizar para avaliar o efeito crônico em espécies nativas provenientes de ambientes portuários e gerar dados mais compreensíveis?”. Desta forma, a hipótese aqui apresentada é que “Impactos de regiões portuárias do Maranhão provocam alterações biológicas detectáveis em *Ucides cordatus*, fornecendo informações para implementação de uma bio-ontologia e valores para construção de um banco de dados através de um aplicativo (software), para monitoramento de impactos e gestão ambiental”. Os resultados, se a hipótese for confirmada, fornecerão informações importantes para gestores ambientais, permitindo uma compreensão mais precisa dos efeitos das atividades portuárias sobre os ecossistemas locais e facilitando o desenvolvimento de estratégias de monitoramento e mitigação de impactos mais eficazes.

Assim, faz-se necessário, estudos relacionados com novas metodologias para o monitoramento de regiões potencialmente poluidoras com técnicas que envolvem os organismos nativos (ex.: *U. cordatus*, espécie representativa de manguezal), bem como diagnósticos sobre a qualidade dos ambientes aquáticos próximas à estas regiões, utilizando um aplicativo como ferramenta no monitoramento ambiental. E por fim, este trabalho baseia-se também nos ODS 14 e 15, buscando entender os impactos ambientais e apoiar a criação de políticas e práticas mais sustentáveis nos ecossistemas marinho e terrestre.

Assim, neste documento de tese abordamos os seguintes aspectos: 1) uma revisão dos principais temas relacionados (ontologia, biomarcadores, espécies biomonitoras e monitoramento ambiental); 2) os resultados de biomarcadores em brânquias e hepatopâncreas da espécie nativa *U. cordatus*; 3) uma bio-ontologia baseada em biomarcadores em *U. cordatus* para o monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão; 4) apresentação de um aplicativo (software) como finalidade depositar e recuperar dados de monitoramento, gerar gráficos e fornecer alertas e notificações aos usuários, trazendo informações eficientes para contribuir diretamente para a preservação ambiental e para a otimização de políticas de gestão ambiental.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Utilizar biomarcadores em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) como base para o desenvolvimento de uma bio-ontologia e um aplicativo, para monitorar impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão.

1.1.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um aplicativo integrado a uma bio-ontologia para armazenamento de informações relacionadas ao monitoramento ambiental, baseado em biomarcadores na espécie *U. cordatus*;
- Quantificar respostas biológicas em nível bioquímico através de enzimas de estresse oxidativo catalase (CAT) e de biotransformação de fase II glutathione S-transferase (GST) em *U. cordatus*;
- Analisar biomarcadores histológicos em brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus*;

- Correlacionar dados de biomarcadores e informações sobre metais nos tecidos de *U. cordatus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bio-ontologias e suas aplicações

O termo “Ontologia” tem sua origem na Filosofia, mais precisamente no campo da Metafísica, com a palavra proveniente do grego *ontos*: Ser; e *logos*: conhecimento, estudo, assim, define-se como o “estudo da natureza do ser e as relações entre as coisas que existem” (CHAUI, 2000; EMMENEGGER et al., 2017). No entanto, o histórico da palavra também envolve o filósofo Aristóteles, que em seus estudos sobre a existência e a essência, começou a categorizar o “ser” ou “entidades” para “organização da realidade” (GUARINO, 1998), ou seja, examina as propriedades dos seres e como essas entidades podem ser categorizadas e relacionadas. A partir desse pressuposto, outros filósofos começaram a elaborar algumas versões que representavam esquematicamente o conhecimento de forma hierárquica, como é conhecido atualmente.

Enquanto que no conceito filosófico a ontologia é o estudo do ser e de tudo que o envolve utilizando o método da organização das entidades do universo, na área de Ciências da Computação e Ciência da Informação pode ser definida como 1) “uma especificação formal e explicitada de uma conceituação” (GRUBER, 1993); 2) “Uma teoria lógica responsável pelo significado pretendido de um vocabulário formal, ou seja, seu compromisso ontológico com uma conceitualização particular do mundo” (GUARINO, 1998); 3) “consiste em um conjunto de conceitos dentro de um domínio incluindo a relação entre os conceitos que são considerados como uma representação formal do conhecimento em ciência da computação” (MAN, 2013). Deste modo, utiliza conceitos e relações para descrever a estrutura e o significado dos dados, tendo como objetivo facilitar a interoperabilidade entre sistemas, promover o compartilhamento de conhecimento, bem como fornecer uma base para a análise e inferência de dados (MORAIS; AMBRÓSIO, 2007; LARSEN et al., 2017). Em linhas gerais, a conceitualização nesta área está voltada para a representação, compartilhamento e reutilização de conhecimento (conceitos) em um determinado domínio. A estrutura da ontologia portanto, ocorre da seguinte forma: em um determinado domínio de conhecimento, haverá a descrição dos conceitos ou o conjunto deles, sendo estes estruturados hierarquicamente, dispostos em classes e subclasses, que por sua vez fazem relações entre si e são moldadas pelas restrições e propriedade dos dados (RODRÍGUEZ-BARQUÍN; MOREIRO-GONZÁLEZ; PINTO, 2006). Por exemplo: em uma ontologia sobre biologia, haverá classes como Animal, Planta e outros organismos. Essas classes serão organizadas hierarquicamente em superclasses e subclasses. Sendo assim, a classe (ou superclasse) Animal, terá como subclasse Ave, Mamífero, etc. Em relação aos atributos (ou

propriedades), são as características que descrevem as classes, assim, podemos dizer que a classe Mamífero pode ter propriedade Homeotermia, Pelos, etc. Quanto às relações, demonstram a conexão entre as classes ou instâncias. Assim podemos conectar a classe Mamíferos com a classe Glândulas Mamárias através da relação “Possuem”.

Nessa perspectiva, as vantagens da ontologia estão além de possibilitar o entendimento ao compartilhar ou reutilizar dados de um domínio de conhecimento: ajuda na criação ou no fornecimento de um vocabulário para representação do conhecimento, de forma que não haja ambiguidade; e fornecem uma descrição exata do conhecimento, através da descrição da semântica dos dados (POLI; HEALY; KAMEAS, 2010; RAUTA; FERNANDES, 2014).

A aplicação da ontologia transcende às Ciências da Computação e Ciência da Informação. Devido às suas vantagens é possível ver trabalhos no campo da Biologia e da Ciências da Saúde embasados nesse método. Ao trazer a ontologia para o foco biológico, agrega-se o prefixo “bio” à palavra, tornando-se Bio-ontologia. Portanto, a bio-ontologia é uma ontologia que representa o conhecimento biológico, no qual descreve conceitos biológicos e suas inter-relações de forma estruturada, facilitando a organização, integração e análise de dados, assim como a interoperabilidade entre diferentes bancos de dados e sistemas.

Os conceitos de uma bio-ontologia podem ser usados para vincular e consultar banco de dados (BARD; RHEE, 2004), pois permitem que informações de muitas bases de dados sejam vinculados. Isto ocorre porque estas coleções de conhecimento utilizam um vocabulário comum, o que é muito importante nessa área, visto que informações biológicas são geralmente distribuídas em muitos repositórios (SMITH et al., 2007; LIVINGSTON et al., 2015). Como exemplo, temos a Gene Ontology – GO, que é descrita como uma base de conhecimento que “fornece uma representação abrangente, estruturada e acessível por computador da função genética, para genes de qualquer organismo celular ou vírus” e “projetado para tornar o conhecimento especializado da função genética acessível para cientistas de bancada, bem como análises computacionais” (THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM et al., 2023). As ontologias GO produzem um vocabulário controlado que pode ser usado para manutenção dinâmica e interoperabilidade entre bancos de dados de genoma (ASHBURNER et al., 2000). Outros exemplos são Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) – um dicionário de entidades moleculares disponível gratuitamente, focado em compostos químicos pequenos (CHEMICAL ENTITIES OF BIOLOGICAL INTEREST (CHEBI), 2024) e a Protein Ontology – PRO que “fornece uma representação ontológica de entidades relacionadas a proteínas, definindo-as explicitamente e mostrando as relações entre elas” (PRO CONSORTIUM, 2024).

Em relação ao meio ambiente, as ontologias dão suporte ao monitoramento ambiental, a exemplo: Environmental Ontology (ENVO) – uma representação de conhecimento de entidades ambientais, sendo utilizada para descrever ecossistemas, planetas inteiros e outros corpos astronômicos, Semantic Sensor Network (SSN), dentre outros, podem atuar de forma preditiva à desastres ambientais, dar informações em tempo real sobre o ambiente monitorado, possibilitar acesso livre aos dados desse domínio de pesquisa e assim, beneficiar pesquisadores através do compartilhamento (TAQUES, 2018).

Como já citado, existem diferentes formas em que as bio-ontologias podem ser agregadas. Mas usualmente, são aplicadas na: 1) Integração de Dados – criando um vocabulário comum, mapeando Conceitos (possibilitando a fusão de informações e a resolução de ambiguidades) e interoperabilidade entre diferentes sistemas e bases de dados; 2) Análise e Interpretação de Dados; 3) Gerenciamento e reuso do conhecimento científico (LARSEN et al., 2017; MARTÍNEZ-ROMERO et al., 2017).

Isto posto, percebe-se que dados obtidos de pesquisa, independente da área, são melhores aproveitados quando os aliamos à inteligência artificial, trazendo uma melhor interpretação e avaliação do domínio de pesquisa. Portanto, em estudos de monitoramento de regiões potencialmente poluidoras, além de integrar a inteligência artificial é interessante também utilizar as respostas de espécies biomonitoras no monitoramento ambiental, demonstrando resultados mais claro sobre a qualidade do local impactado.

2.2 Espécies biomonitoras e respostas biológicas

Quando falamos em um monitoramento ambiental com resultados representativos do ambiente, é interessante que haja a inclusão de espécies nativas no estudo. Neste caso, passamos a fazer o “biomonitoramento” de um ambiente, com espécies bioindicadoras e/ou biomonitoras. Na literatura, é comum haver a confusão entre os termos, mas elas apresentam papéis diferentes no biomonitoramento:

“Um bioindicador é um organismo, uma parte de um organismo ou uma sociedade de organismos que fornece informações sobre a qualidade de seu ambiente (informação qualitativa) e um biomonitor é um organismo (parte de um organismo ou de uma sociedade de organismos) que quantifica a qualidade de seu ambiente (informação quantitativa).” (MARKERT, 2007).

Ou seja, o bioindicador está ligado à ausência ou presença no habitat, indicando boa ou má qualidade do ambiente; enquanto que o biomonitor é mais resistente às variações ambientais, entretanto, apresentam efeitos biológicos adversos no qual podemos quantificar (WEINSTEIN; DAVISON, 2003).

Para ser um bom biomonitor, o organismo deve apresentar algumas características, como: ser residente do ambiente, de fácil coleta e identificação, sedentário ou de pouca mobilidade e possuir um tamanho suficiente para a análise em seus tecidos (RAINBOW, 1995; VÁLEGA et al., 2008). Ultimamente organismos biomonitoras tem sido muito utilizado em programas de monitoramento, pois são capazes de registrar impactos de longo prazo (BONANNO; PAVONE, 2015) e portanto, melhores para utilização de biomarcadores (respostas biológicas). Os biomarcadores são alterações que ocorrem em um organismo após serem expostos a um agente poluente (SCHLENK, 1999). É uma metodologia muito estudada para avaliar a saúde dos organismos e relevante na detecção preventiva de efeitos adversos (ISHIKAWA et al., 2020), portanto deve-se escolher um bom biomonitor, para bons resultados.

Espécies de moluscos e crustáceos são espécies-chaves para avaliar o estresse de ambientes perturbados, enquadram-se como ótimas biomonitoras e por isso são frequentemente utilizadas em programas de biomonitoramento.

Os moluscos bivalves são espécies sentinelas filtradoras, de natureza sésil ou sedentária, e assim, bioacumulam compostos tóxicos em seus tecidos (DAILIANIS, 2010; CHANDURVELAN et al., 2013) e fornecem dados importantes sobre o seu habitat (JENA; VERLECAR; CHAINY, 2009). Um exemplo de molusco bivalve é o mexilhão *Mytilus galloprovincialis*, pois apresenta uma certa resistência à xenobióticos, dentre eles os metais pesados, que provocam uma série de respostas biológicas (JENA; VERLECAR; CHAINY, 2009).

Assim como os moluscos bivalves, os crustáceos decápodes bentônicos, ganham cada vez mais espaço no biomonitoramento, estabelecendo-se como bons biomonitoras (NG et al., 2007; RICCIARDI et al., 2010; DÍAZ-JARAMILLO et al., 2013). Caranguejos como o *U. cordatus*, apresentam estreita relação com o sedimento, logo está em contato direto com os contaminantes ali existentes. Como este organismo possui um órgão biotransformador de compostos (hepatopâncreas), fornece informações reais sobre os impactos de substâncias tóxicas no ambiente (FILLMANN et al., 2004; NUDI et al., 2007). Essas características o tornam uma espécie biomonitora de extrema importância.

As espécies quando classificadas como boas biomonitoras, devem ser utilizadas com moderação (para manter a conservação) nos estudos de biomonitoramento, pois são

consideradas ferramentas sensíveis que ajudam a avaliar a situação dos organismos e do seu habitat.

2.3 Biomonitoramento em regiões portuárias

Atividades industriais e portuárias elevam o crescimento econômico do país, porém apresentam grande potencial para introduzir contaminantes no meio ambiente, através de resíduos sólidos, efluentes, além da probabilidade de acidentes, como derramamento de petróleo (CHOPRA; MEINDL, 2011; SILVA; GOMES, 2012). Também podem introduzir espécies exóticas no ambiente, modificar a paisagem e consequentemente a dinâmica costeira e comprometer a qualidade dos ecossistemas (LOURENÇO; ASMUS, 2015). Por apresentar estas características negativas, são consideradas atividades potencialmente poluidoras.

Pela importância de seus impactos, a gestão portuária deve ser bem estruturada, incluindo metodologias de avaliação de impactos ambientais. Por esse motivo, em 1998, criou-se a Agenda Ambiental Portuária, desenvolvida pela Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (Cirm). Segundo a Agência Nacional de Transportes Aquaviários (ANTAQ), a agenda visa nas seguintes causas ambientais:

- I) Promover o controle ambiental da atividade portuária; II) Inserir a atividade portuária no âmbito do gerenciamento costeiro; III) Implantar unidades de gerenciamento ambiental nos portos; IV) Implementar setores de gerenciamento ambiental nas instalações portuárias fora da área dos portos organizados; V) Regulamentar os procedimentos da operação portuária adequando-os aos padrões existentes; VI) Capacitar recursos humanos para a gestão ambiental portuária (ANTAQ, 2020).

Há também pelo menos outros 30 documentos normativos que visam a proteção/preservação do meio ambiente, que abrangem as regiões com atividades portuárias, tais como as Resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Portarias da Secretaria Especial de Portos – SEP e do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA e Leis Federais, que datam desde o ano de 1981, com a Lei nº6.938 que “dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências”.

Entende-se por monitoramento ambiental portuário a contínua ou periódica aplicação de um conjunto de métodos que auxiliam na verificação do ambiente em relação à dinâmica das correntes e ondas, ao tempo necessário para a próxima dragagem, a estudos de prevenção de impactos (análises físico-químicas, biológicas e ecotoxicológicas) (DARBRA et al., 2009; ARTIOLA; BRUSSEAU, 2019), proporcionando segurança à navegação e ao ambiente. No entanto, quando se trata de biomonitoramento, encontramos apenas protocolos para execução em campo e em laboratório.

O biomonitoramento consiste em técnicas que utilizam organismos, tendo como propósito avaliar o efeito dos xenobióticos nos organismos, através da mensuração dessas substâncias nocivas em tecidos e fluidos corporais (PATTERSON et al., 2014), sendo consideradas ferramentas sensíveis que ajudam a avaliar a situação dos organismos e do ambiente (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003) e um método adequado na busca de respostas confiáveis sobre o ecossistema impactado (LACROIX et al., 2015).

Pesquisas de biomonitoramento em regiões portuárias usam organismos bioindicadores e biomonitores de forma passiva, ativa ou em conjunto. O biomonitoramento passivo é aquele que utiliza os organismos residentes do ambiente para análise, enquanto que o ativo é uma alternativa quando não há espécies nativas e consiste em transplantar organismos (geralmente sésseis), em gaiolas para o ambiente impactado (CASTREC et al., 2023).

Para avaliar os efeitos da poluição dos portos nos ecossistemas aquáticos através do biomonitoramento, são utilizadas análises da concentração de metais pesados, compostos orgânicos e inorgânicos nos tecidos dos organismos expostos, bem como são verificadas as alterações biológicas, ou seja, os biomarcadores (BARBARIN et al., 2023; CASTREC et al., 2023).

Em artigos sobre biomonitoramento de regiões portuárias utilizando biomarcadores, é possível ver trabalhos que utilizam biomarcadores bioquímicos (alterações na atividade de enzimas antioxidantes e de biotransformação, peroxidação lipídica, metalotioneínas), genotóxicos (ensaio cometa e teste de micronúcleos) e histológicos (alterações teciduais em brânquias, fígado e rim) (HE et al., 2011; ASKER et al., 2015; TOUAHRI et al., 2016; BREITWIESER et al., 2017). Independentemente do tipo de biomarcador, os resultados são satisfatórios e fornecem um alerta precoce dos efeitos adversos, possibilitando uma tomada de decisões antes que ocorram desastres ambientais a nível populacional ou de ecossistema (LACROIX et al., 2015).

2.4 Abordagens metodológicas para ambientes portuários de São Luís utilizando biomarcadores

Na região industrial e portuária de São Luís (Maranhão) está localizado um dos maiores complexos portuários em movimentação de carga da América Latina, onde estão inseridos o Terminal Marítimo de Ponta da Madeira, Porto do Itaqui e Porto da Alumar/ALCOA (AMARAL; ALFREDIN, 2010), que só no ano de 2020, movimentou o equivalente a 231 milhões de toneladas de diversos produtos, como minério de ferro, derivados de petróleo, fertilizantes e soja (ANTAQ, 2021). Como destaque, temos o Terminal Marítimo da Ponta da Madeira que obteve a maior movimentação em 2020, com 191 milhões de toneladas de minério de ferro – cerca de 16,6% de toda carga movimentada no Brasil (ANTAQ, 2021). E como todo empreendimento, há a possibilidade de aumentar a probabilidade de ocorrer poluição de águas costeiras, degradação de manguezais e acidentes ambientais (AMARAL; ALFREDIN, 2010), demonstrando importância do monitoramento dessas regiões.

Apesar da região industrial e portuária de São Luís (Maranhão) ter sua importância econômica, há pesquisas que demonstraram a perturbação nesses ambientes estuarinos do complexo portuário (CARVALHO NETA et al., 2016). Encontramos apenas estudos com biomarcadores histológicos e enzimáticos em organismos provenientes da região portuária de São Luís.

Com o objetivo de avaliar o ambiente portuário, alguns pesquisadores utilizaram biomarcadores em espécies que são encontradas no complexo estuarino de São Marcos: *Sciades herzbergii* (peixe), *Bagre bagre* (peixe) e *U. cordatus* (crustáceo).

Na espécie *Sciades herzbergii* foram utilizados os biomarcadores histológicos em estudos de Da Silva Castro et al. (2019) nos rins, Castro et al. (2018) e Pinheiro-Sousa, Almeida e Carvalho-Neta, (2013) nas brânquias e Viana et al. (2021) e Soares et al. (2020) nas brânquias e no fígado. Como resultados, apresentaram significativas alterações no tecido, das quais se destacaram: estreitamento lamelar, levantamento epitelial, fusão lamelar, dilatação dos sinusóides, congestão vascular, centro de melanomacrófagos e oclusão da luz tubular. Em ensaios enzimáticos, Carvalho-Neta et al. (2016), Carvalho-Neta e Abreu-Silva (2013), Carvalho-Neta, Torres e Abreu-Silva (2012) e Carvalho-Neta e Abreu-Silva, (2010) utilizaram o fígado e verificaram alterações nas atividades das enzimas catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST). Já com a utilização das duas metodologias, foi possível verificar repostas biológicas a diferentes níveis de organização biológica nos estudos de Pinheiro-Sousa et al. (2021), Carvalho Neta et al. (2014) e Carvalho-Neta, Torres e Abreu-Silva (2012) nas brânquias e fígado desta espécie de bagre.

Apenas dois registros foram encontrados para a espécie *Bagre bagre*, que foi estudada em conjunto com *S. herzbergii* por Sousa, Almeida e Carvalho-Neta (2013) e Carvalho Neta et al. (2014b). O *B. bagre* apesar de ter apresentado dados satisfatórios, é uma espécie migrante-marinha e, portanto, não apresenta características para ser uma boa biomonitora.

Para a espécie biomonitora *U. cordatus* foram utilizados os biomarcadores histológicos nas brânquias e hepatopâncreas no estudo de Batista de Jesus et al. (2020), que verificou distúrbios nas células da pilastra, deformação do canal marginal, lúmen anormal e necrose – lesões de impacto parcial e total no funcionamento do órgão. Nos estudos De Jesus et al. (2021), Jesus et al. (2020), Carvalho Neta et al. (2019) e De Oliveira et al. (2019), os tecidos (brânquias e hepatopâncreas) foram analisados em dois tipos de biomarcadores (alterações histológicas e enzimáticas), mostrando o estresse dos animais na região portuária, já que houve alterações nas atividades enzimáticas de CAT e GST e a presença de histopatologias moderadas e graves.

Todos os estudos apresentados classificaram a região portuária como impactada, com base nas respostas biológicas alteradas e análises complementares sobre a físico-química do estuário, com dados que comprovam a presença de metais pesados na água, sedimento e poeira foliar em espécies de mangue (CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012; SILVA; FRANÇA; MOREIRA, 2016; DE OLIVEIRA et al., 2019).

Embora haja um bom quantitativo de informações sobre biomonitoramento da região portuária de São Luís, nenhuma delas está disponível em um repositório, e como trata-se de uma região de alto impacto ambiental, torna-se necessário a criação de um aplicativo que faça um compilado de dados aliado a uma bio-ontologia, visto que pode melhor demonstrar a situação dos ecossistemas ao longo dos anos. Apesar de existir outros trabalhos na região utilizando a espécie *U. cordatus* como biomonitora, é imprescindível dar continuidade ao monitoramento na região, a fim de contribuir no monitoramento e prevenir impactos. Assim, os conhecimentos e dados de biomonitoramento de regiões portuárias utilizando biomarcadores podem ser disseminados e ficar disponíveis para reutilização e aplicação em diferentes contextos de biomonitoramento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

A baía de São Marcos (complexo estuarino de São Marcos) é uma região estuarina localizada na porção ocidental da costa da ilha de São Luís, onde deságuam os rios Mearim e Pindaré (FEITOSA, 1983; SILVA et al., 2023). É um importante local de pesca, onde ainda ocorre a captura de recurso pesqueiro para subsistência de famílias ribeirinhas (RIBEIRO; CASTRO, 2017).

A região é caracterizada por apresentar pouca variabilidade térmica ao longo do ano - de 30,3 a 32,5°C para temperaturas máximas e 23,4 a 25°C para temperaturas mínimas (INMET 2021) e, por isso, as quatro estações do ano não são bem definidas, sendo observadas apenas duas: a chuvosa, de janeiro a junho e a seca, de julho a dezembro (PINHEIRO, 2015; INMET, 2021).

Esta baía abriga o Complexo Portuário de São Luís, um dos maiores em movimentação de carga da América Latina, onde estão localizados o Terminal Marítimo de Ponta da Madeira (privado) e Porto da Alumar/ALCOA (privado) e o Porto do Itaqui – porto público de maior profundidade do Brasil (AMARAL; ALFREDIN, 2010; PORTO DO ITAQUI, 2020). Destes portos, os principais produtos para importação e exportação são o minério de ferro, manganês, soja, alumínio e derivados de petróleo (ANTAQ, 2021).

A região portuária de São Luís é margeada por manguezais e segundo Muniz et al. (2016), a vegetação local é jovem e está se recuperando da perturbação local. Desta forma, foram escolhidos um ponto nos manguezais de influência portuária (Manguezal do Porto Grande – P1) e um ponto de longe das atividades industriais e portuárias (Manguezal do Zé da Mata, Raposa – P2), onde foram realizadas as coletas de amostras para o monitoramento de impactos no local (Fig. 1).

O ponto P1 (2°39'3.70"S; 44°21'20.40"W) está localizado entre dois portos na região industrial da capital São Luís, onde há um intenso fluxo de embarcações de pequeno e grande porte, em decorrência das atividades portuárias e pesqueiras (Fig 2A); o ponto P2 (2°24'55.85"S; 44° 4'56.55"W) está próximo de um importante porto pesqueiro e turístico da região (aproximadamente 1,5 km), sujeito à interferência humana (efluentes, resíduos sólidos e óleo de motor de embarcação, etc. – observados em campo), considerado neste estudo como um local de impacto moderado (Fig. 2B).

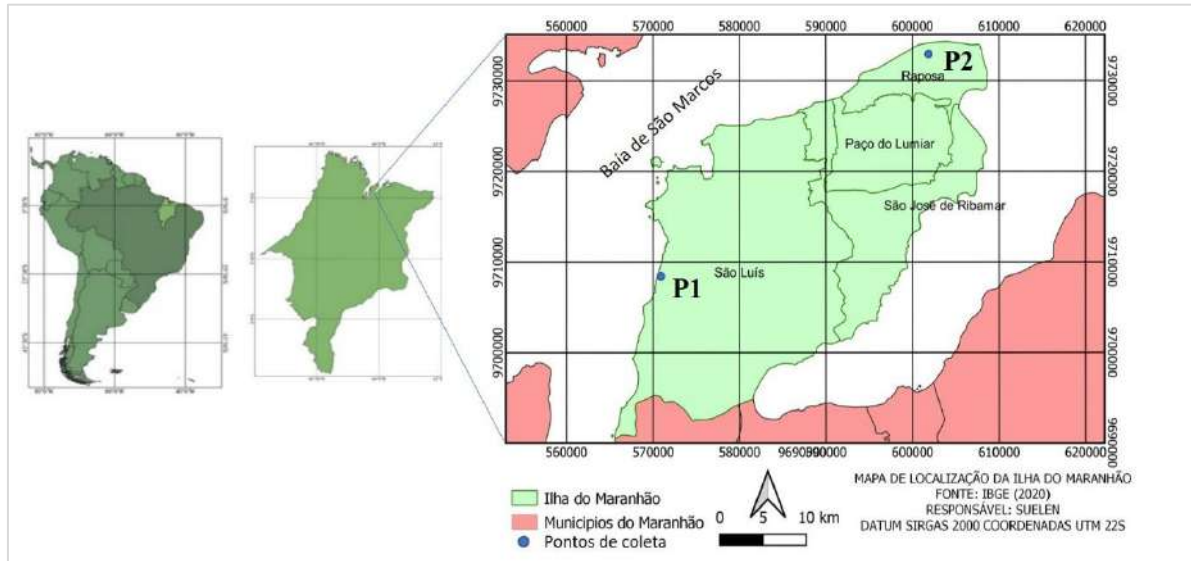


Figura 1. Mapa de Localização da Ilha de São Luís, demonstrando os pontos de coleta.

Fonte: Produzido pela autora, com base nos dados do IBGE.

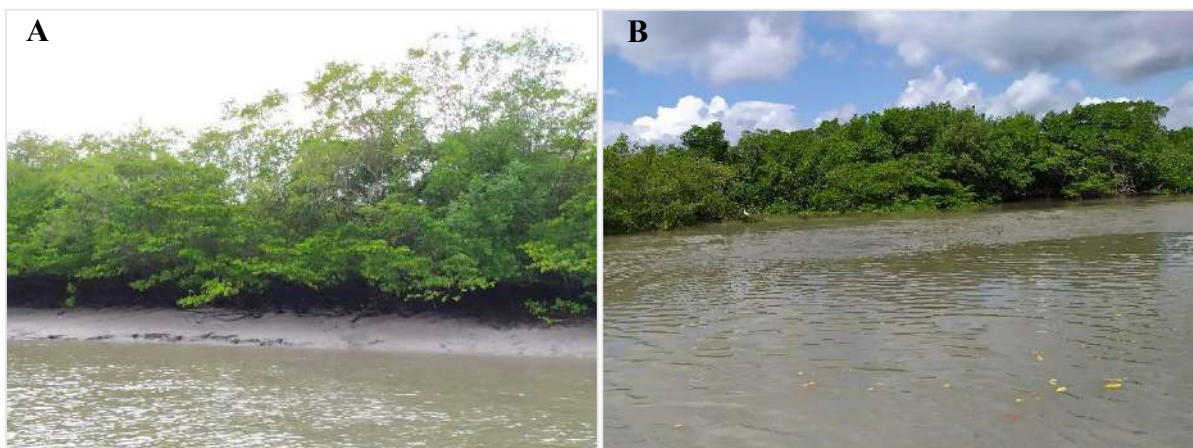


Figura 2. Manguezais de coleta de amostras biológicas e ambientais. A: Manguezal do Porto Grande (P1); B: Manguezal do Zé da Mata (P2).

Fonte: Autora

3.2 Táxon utilizado como biomonitor

O táxon *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) é um crustáceo decápode pertencente à família Ocypodidae, cujo nome popular é caranguejo-uçá (Fig. 3). É um animal semiterrestre, de hábito onívoro, encontrados excepcionalmente em manguezais de regiões tropicais e subtropicais. Sua ampla distribuição ocorre ao longo da costa americana: da Flórida (EUA) ao Brasil (do Amapá até Santa Catarina) (MELO, 1996).

A espécie é de grande importância econômica, representando uma fonte de renda para as populações ribeirinhas que sobrevivem da pesca (PINHEIRO et al., 2016). Também possui importância ecológica, pois participa do processo de ciclagem de nutrientes, e, durante a

construção das galerias, os caranguejos revolvem do solo, disponibilizando nutrientes (PINHEIRO et al., 2016). Apesar da sua importância, em 2016 foi classificado como “quase ameaçada de extinção”, de acordo com a avaliação do Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil (PINHEIRO et al., 2016), porém, após atualizações da lista, a espécie não está mais dentro desta categoria, estando fora de perigo.

Estudos de monitoramento (ex. CARVALHO NETA et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2019; DE JESUS et al., 2021) mostram que a espécie é uma boa biomonitora, sendo capaz de representar as condições ambientais do seu habitat. Assim, por conter as características acima citadas, ser de fácil captura e representativa de manguezal, esta espécie foi escolhida para as análises de biomonitoramento deste estudo.



Figura 3. Exemplar de *Ucides cordatus*.

Fonte: Autora

3.3 Amostragem

Um estudo *in situ* sobre biomonitoramento de regiões portuárias do Maranhão utilizando biomarcadores em *U. cordatus* foi conduzido na Baía de São Marcos (Maranhão). Os dados deste estudo estarão disponíveis no aplicativo desenvolvido (cujo está descrito no item 3.10 e 4.6 da tese).

3.3.1 Amostras biológicas

Amostras espécimes de caranguejo-uçá foram coletados trimestralmente em manguezais do Complexo Industrial Portuário de São Luís (manguezal do Porto Grande - P1) e em uma área sem atividades portuárias (Manguezal do Zé da mata - P2), durante os períodos

sazonais (chuvoso e estiagem) de 2021, através da técnica de braceamento (registro SISBIO nº76372-1). No total, foram capturados 151 caranguejos, sendo 77 capturados no ponto P1 (33 no período chuvoso e 44 no período de estiagem) e 74 no ponto P2 (30 no período chuvoso e 44 no período de estiagem). Para fins de padronização, somente machos em intermuda foram capturados, evitando quaisquer efeitos da fase de muda e sexo, assim como proposto por Pinheiro et al. (2012).

Amostras de brânquias, hepatopâncreas e tecido comestível (retirado do quelípodo) de *U. cordatus* foram analisadas para verificar a presença dos metais: alumínio, arsênio, cádmio, cobre, cromo, ferro, chumbo, manganês, níquel e zinco, por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). As amostras foram armazenadas em sacos plásticos, mantidos refrigerados e encaminhados a um laboratório especializado nesta análise. A referência dos métodos de análise está na tabela 1. Esta análise foi realizada apenas uma vez, devido à falta de recurso.

Tabela 1. Referência dos métodos utilizados para a análise de metais nos tecidos de *U. cordatus*, fornecidas pelo laboratório especializado.

Análise	Referência
Alumínio Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Arsênio Total	EPA – Método 3050 B de 1996 e EPA – Método 7062 de 1994
Cádmio Total	EPA 3050 B - SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Chumbo Total	EPA 3050 B - SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Cobre Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Cromo Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Ferro Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Manganês Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Níquel Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B
Zinco Total	EPA 3050 B – SMEWW 23ªEdição – Método –3130B

3.3.2 Amostras ambientais

Em campo, foram realizadas análise dos parâmetros abióticos da água, com auxílio de um multiparâmetro AKSO (modelo AK88). Os parâmetros mensurados foram: oxigênio dissolvido (mg/L), temperatura (°C), salinidade (ppm) e pH. Essas variáveis foram medidas em dois pontos para cada manguezal.

Amostras de sedimento de dentro das galerias dos caranguejos (aproximadamente a 30 cm de profundidade) e da água do estuário foram coletados para análise dos metais: alumínio, arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco, como é indicado nas Resoluções CONAMA N° 357 de 2005 e N° 454, de 2012. Os elementos fósforo e nitrogênio também foram analisados. As amostras de sedimento foram depositadas em sacos plásticos estéreis e as de água, em garrafas estéreis. Ambas amostras foram conservadas em caixa de isopor com gelo e levadas imediatamente a um laboratório especializados na análise. As amostras de água e sedimento foram analisadas de acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewaters e protocolos da US EPA (Tab. 2). As amostras de água e sedimento foram analisadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Optima 8300, Perkin Elmer). As amostras foram coletadas no período estiagem apenas uma vez, devido à falta de recurso.

Tabela 2. Referência dos métodos utilizados para a análise de metais e outras substâncias na água e sedimentos, fornecidas pelo laboratório especializado.

	Sedimento	Água
Ensaio	Referência	Referência
Alumínio	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 Al B 23ª edição
Arsênio	SMEWW 3030 E 23ª edição	SMEWW 3030 E 23ª edição
Cádmio	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 Cd 23ª edição
Chumbo	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 Pb 23ª edição
Cobre	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 Cu 23ª edição
Cromo	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 Cr B 23ª edição
Fósforo	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 4500 P C 23ª edição

Manganês	-	SMEWW 3500 Mn 23ª edição
Mercúrio	USEPA 6010 C	USEPA 6010 C
Níquel	SMEWW 3030E 23ª edição	USEPA 6010 C
Nitrogênio Total	SMEWW 4500-N C 23ª edição	SMEWW 4500-N C 23ª edição
Zinco	SMEWW 3030E 23ª edição	SMEWW 3500 B 23ª edição

3.4 Análise Biométrica

De todos os caranguejos capturados dos manguezais de estudo, foram registrados os dados biométricos, tais como: peso total (PT) em gramas, mensurado em uma balança de precisão; largura do cefalotórax ou carapaça (LC) e comprimento cefalotórax (CC) em centímetros, mensurados com auxílio de um paquímetro digital. As medidas biométricas referentes a largura e comprimento do cefalotórax são mensuradas de acordo com a Figura 4. Ressaltamos que o primeiro dado biométrico registrado é o peso, em seguida são extraídos os tecidos dos caranguejos, para evitar degradação do tecido e interpretação incorreta dos biomarcadores. Após a extração, enfileiramos enumeramos os exemplares para seguir com as outras medidas biométricas (Fig. 5).

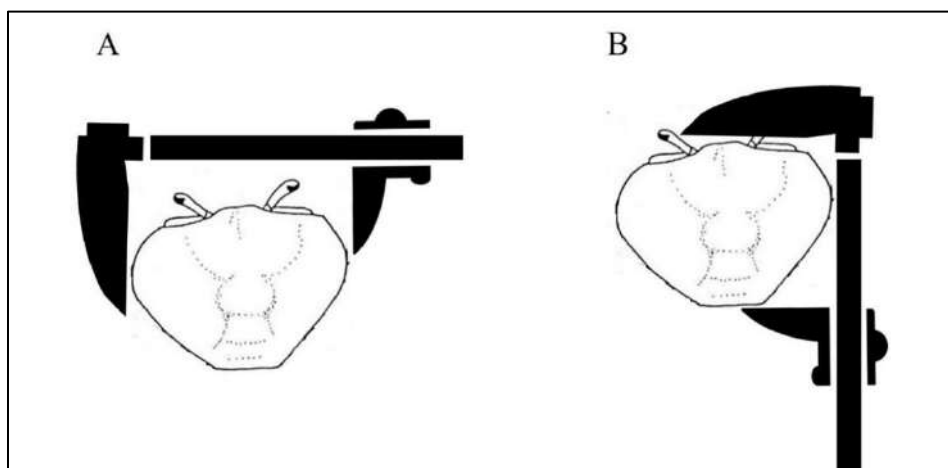


Figura 4. Vista dorsal da espécie *U. cordatus* demonstrando a forma correta para mensurar a largura (A) e comprimento (B) do cefalotórax.

Fonte: Adaptado de Pinheiro e Fiscarelli (2001).



Figura 5. Exemplares de *U. cordatus* enfileirados, aguardando a finalização da análise biométrica.
Fonte: Autora

3.5 Obtenção de amostras de brânquias e hepatopâncreas

De cada organismo capturado, foram extraídas as brânquias e o hepatopâncreas com auxílio de tesouras e pinças, para análises de biomarcadores histológicos e bioquímicos.

Após a extração dos órgãos, parte das amostras de brânquias e hepatopâncreas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para posterior análise da atividade de enzimas e a outra, foi fixada em Solução de Davidson durante 24 – 48 horas. Em seguida, as amostras fixadas foram lavadas e mantidas em álcool 70% até o processamento histológico.

3.6 Análises bioquímicas

Amostras de brânquias ($n = 40$) e hepatopâncreas ($n = 40$) foram homogeneizadas em solução tampão contendo Tris-HCl 50mM e KCl 0.15M, pH 7.4, em uma proporção de 1:4. Uma alíquota do preparado foi retirada e depositada em um tubo de ensaio contendo a solução tampão, para fazer a centrifugação (Fig. 6). O sobrenadante foi utilizado para estimar as atividades de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo (catalase) e à biotransformação de xenobióticos (Glutathione S-transferase). Estas enzimas foram escolhidas pela sua ampla utilização nas pesquisas de impacto ambiental e facilidade em conseguir os reagentes.

Para a análise da atividade da catalase (CAT), o sobrenadante foi adicionado ao de meio de reação em uma cubeta, de acordo com Tagliari et al. (2004) e Ventura et al. (2002). A leitura ocorreu em espectrofotômetro a 240 nm, por 2 min. A atividade da enzima foi avaliada através da taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A unidade utilizada para expressar a atividade da CAT foi $nmol\ min^{-1}\ mg^{-1}\ proteína$.

A atividade da GST foi quantificada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 340nm, por 2 minutos, a 25° C, conforme Keen, Habig e Jakoby (1976) e modificado por

Camargo e Martinez (2006). Foram utilizados a glutathiona reduzida (GSH) e o 1-chloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB) como substrato, adicionados a uma alíquota da amostra em tampão fosfato de potássio (0,1M), pH 7,0. O coeficiente de extinção utilizado foi $9,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ e a unidade utilizada para expressar a atividade da GST foi $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

A concentração de proteína foi analisada utilizando o reagente Biureto e a absorbância foi lida em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 545 nm.



Figura 6. Etapas do procedimento bioquímico.
Fonte: Autora.

3.7 Análise histológica

Para análise histológica, os órgãos brônquias ($n = 40$) e hepatopâncreas ($n = 40$) foram submetidos à técnica histológica padrão: desidratação em série crescente de álcoois, diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Os cortes transversais de $5\mu\text{m}$ de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) (LUNA, 1968). Para cada animal, foram analisados dois cortes para cada órgão. As alterações histológicas foram identificadas de acordo com autores Rebelo et al., (2000), Welsh, King e Maccarthy (2013), Maharajan et al., (2015), Negro (2015) e Negro e Collins (2017).

A contabilização da porcentagem do órgão afetado foi realizada de acordo com Rebelo et al. (2000) e a gravidade das lesões foi analisada de acordo com o trabalho de Bernet et al. (1999) adaptado por Jerome et al. (2017).

A porcentagem do órgão afetado foi realizada da seguinte forma:

$$\frac{N_{Le}}{N_{Org}} \times 100$$

Sendo N_{Le} o número total da lesão encontrada e N_{Org} a quantidade de lamelas (brânquias) ou túbulos (hepatopâncreas) analisados.

As lesões foram classificadas de acordo com o padrão de reação: circulatório, inflamatório, neoplásico, progressivo e regressivo (BERNET et al., 1999). Um índice de dano de órgão (I_{org}) adaptado para caranguejos também foi calculado (JEROME et al., 2017). O índice utilizado pode ser calculado pela fórmula:

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a \cdot w)$$

Onde “org” é o órgão; rp é o padrão de reação; “a” caracteriza a intensidade da alteração (0 = ausente, 1-2 = ocorrência mínima, 3-4 = ocorrência moderada; 5-6 = ocorrência grave); “w” é o fator de importância, onde os valores tabulados por Bernet et al. (1999) para cada alteração varia de 1 a 3. Sendo 1: lesão facilmente reversível; 2: lesão moderada, podendo ser reversível caso o estressor seja neutralizado; 3: lesão irreversível (tab. 3).

Tabela 3. Fator de importância (w) das lesões em brânquias e hepatopâncreas de acordo Jerome et al. (2017) com base em Bernet et al. (1999), com pequenas adaptações.

Brânquias	w	Hepatopâncreas	w
Deformação do canal marginal	1	Lúmen anormal	1
Rompimento da cutícula	1	Camada epitelial danificada	1
Levantamento da cutícula	1	Delaminação do epitélio	1
Hiperplasia	2	Infiltração de hemócitos	2
Colapso lamelar	3	Vacuolização das células B	3
Necrose	3	Necrose	3
Distúrbios nas células da pilastra	3	Parasitos	-
Parasitos	-		

3.8 Análises estatísticas

Os dados foram testados quanto à normalidade, utilizando Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$) e posteriormente utilizados testes de comparação entre duas amostras independentes ($p < 0,05$): o teste T usado para os dados de metais e outros elementos químicos do sedimento e da água, entre as áreas; e o teste U (Mann-Whitney) foi utilizado para comparar alterações totais branquiais e hepatopâncreas entre regiões. O teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($p < 0,05$), foi utilizado para parâmetros abióticos da água, análise biométrica dos caranguejos e para comparação entre órgãos em relação aos biomarcadores bioquímicos.

($p < 0.05$). A análise multivariada (PCA) foi realizada com dados de CAT e GST e metais em brânquias e hepatopâncreas. Os gráficos e tabelas estão representados com valores máximos e mínimos, média com desvio padrão, medianas, 1º e 3º quartil e porcentagem.

3.9 Bio-ontologia

O processo de desenvolvimento de uma bio-ontologia requer várias etapas, que vão desde a determinação do seu escopo à escolha de conceitos, suas relações e restrições.

Para a construção da bio-ontologia de biomarcadores em *Ucides cordatus* para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão, seguimos uma metodologia criada por pesquisadores da Universidade de Stanford: Ontology Development 101 (NOY; MCGUINNESS, 2001). Os passos utilizados neste método foram:

- a) Determinar o domínio e o escopo da ontologia – “qual é o domínio que a ontologia cobrirá? Para que vamos usar a ontologia? Para quais tipos de perguntas as informações da ontologia devem fornecer respostas? Quem usará e manterá a ontologia?”
- b) Considerar reutilizar ontologias existentes – “para refinar e ampliar as fontes existentes para o nosso domínio e tarefa específicos.”
- c) Enumerar termos importantes na ontologia – “escrever uma lista de todos os termos sobre os quais gostaríamos de fazer declarações ou explicar a um usuário. Quais são os termos sobre os quais gostaríamos de falar? Quais propriedades esses termos têm? O que gostaríamos de dizer sobre esses termos?”
- d) Definir as classes e a hierarquia de classes – top-down (geral para o específico), bottom-up (específico para geral) e combinado (combinação das abordagens de cima para baixo e de baixo para cima)
- e) Definir as propriedades das classes (slots) – descrever a estrutura interna dos conceitos (por exemplo, numa ontologia de vinhos, as propriedades devem ser: cor, sabor, corpo, etc.)
- f) Definir as restrições das classes – “os slots podem ter diferentes facetas que descrevem o tipo de valor, os valores permitidos, o número de valores (cardinalidade) e outras características dos valores que o slot pode assumir.”
- g) Criar instâncias – “a última etapa é criar instâncias individuais de classes na hierarquia. Definir uma instância individual de uma classe requer (1) escolher uma classe, (2) criar uma instância individual dessa classe e (3) preencher os valores do slot.”

Para construção e manutenção das ontologias, utilizamos o editor de ontologias Protégé, um software de código aberto e gratuito (MUSEN, 2015). O Protégé foi desenvolvido na

linguagem Java pelo Centro de Pesquisa em Informática Biomédica de Stanford, da Faculdade de Medicina da Universidade de Stanford. Há um grande número de usuários (mais de 300 mil) que atualmente utilizam este software para desenvolver “soluções baseadas no conhecimento em áreas tão diversas como biomedicina, comércio eletrônico e modelagem organizacional” (STANFORD UNIVERSITY, 2020) e assim, atuar na construção de sistemas inteligentes.

A motivação para o desenvolvimento de uma bio-ontologia, dar-se pela possibilidade no compartilhamento de informações entre pessoas e entre agentes de software; auxiliar no reuso do conhecimento do domínio, permitindo introduzir padrões para interoperabilidade (capacidade de um sistema para se comunicar da forma mais transparente possível com outros sistemas), bem como ajudar na criação de um vocabulário para o domínio e melhor visibilidade para a formulação de hipóteses, viabilizando uma melhor análise do domínio de estudo (GRUBER, 1993).

3.9.1 Domínio e escopo

O domínio desta bio-ontologia abrange conceitos relacionados aos biomarcadores em caranguejo-uçá (*U. cordatus*) como um biomonitor da qualidade de ambientes portuários do Maranhão, bem como dados ambientais deste local. A bio-ontologia deverá dar respostas sobre o biomonitoramento da região portuária do Maranhão.

Buscamos outras ontologias em repositórios (BioPortal, GitHub) para reuso, no entanto, não encontramos ontologias similares.

Esta bio-ontologia está interligada a um aplicativo, no qual serão dispostos um volume de dados biológicos e ambientais da região portuária do Maranhão.

A manutenção da bio-ontologia será realizada pela autora, mas editável por terceiros com solicitação prévia para modificação em qualquer estrutura.

Esta bio-ontologia tem como objetivo fornecer uma representação abstrata dos conceitos ligados aos biomarcadores em caranguejo-uçá para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão.

3.9.2 Termos importantes

Estão inclusos os termos relacionados a biologia do caranguejo-uçá, biomarcadores, variáveis ambientais da região portuária do Maranhão: biomarcadores histológicos em brânquias e hepatopâncreas e atividades alteradas das enzimas Catalase (CAT) e Glutathione S-transferase (GST) em caranguejo-uçá.; biometria de espécimes de caranguejo-uçá; técnica de coleta utilizada para captura dos organismos; variáveis ambientais

3.9.3 Classes e hierarquia de classes

Escolhemos o arranjo top-down (geral para o específico) para a estruturação da bio-ontologia.

Principais Classes e subclasses:

- **Animal**

- Crustáceo
- Caranguejo
- *Ucides cordatus*

- **Avaliação ambiental da região portuária do Maranhão**

- Análise da água
- Análise do sedimento
- Ano
- Metais pesados
- Período sazonal
- Ponto de amostragem

Biomarcador

- Biomarcador histológico
- Biomarcador bioquímico

Sanidade ou saúde

- Sanidade ou saúde do Ecossistema
- Sanidade ou saúde do *Ucides cordatus*

As classes da bio-ontologia utilizadas referem-se à classificação biológica, às medidas biométricas e respostas biológicas do organismo, local de coleta e dados ambientais e de contaminantes

3.9.4 Propriedades

As propriedades dos objetos têm a função de interligar os conceitos (classes). Essas propriedades são fundamentais porque descrevem relações entre os conceitos. Cada uma conecta uma classe (Domain ou domínio) a outra (Range alcance). Nessa bio-ontologia, sete foram adicionadas:

- **e_um** (é um)
- **foi_capturado** (foi capturado)
- **pode_conter** (pode conter)
- **tem** (tem/têm)

- **um_tipo_de** (um tipo de).
- **afeta** (afeta)
- **influencia** (influencia)

Em relação à propriedade dos dados, foram colocados:

- **Alteração_valor**. Refere-se aos valores encontrados de alterações (biomarcadores) histológicas e bioquímicas;
- **Ano_valor**. Refere-se ao ano em que o organismo foi capturado;
- **Biometria_valor**. Refere-se aos valores dos dados biométricos.

3.9.5 Instâncias

Nesta seção listamos as instâncias (também chamada de indivíduos) da bio-ontologia, que representam exemplos específicos das classes relacionadas ao biomonitoramento utilizando o caranguejo *U. cordatus*. Para ficar mais claro, separamos as instâncias em grupos: lesões histológicas, biomarcadores bioquímicos, parâmetros abióticos, biometria, período sazonal, pontos de amostragem e método de captura.

a) Lesões Histológicas

Lesões nas brânquias: Colapso lamelar, Deformação do canal marginal, Necrose, Rompimento das células da pilastra, Rompimento da cutícula, Hiperplasia, Descolamento da cutícula e Parasitos.

Lesões no hepatopâncreas: Camada miopitelial danificada, Delaminação do epitélio, Infiltração de hemócitos, Vacuolização das células B e Lúmen anormal.

b) Biomarcadores Bioquímicos

Alteração da CAT: Refere-se à atividade da enzima catalase.

Alteração da GST: Refere-se à atividade da enzima GST, associada à biotransformação.

c) Parâmetros Abióticos

Oxigênio dissolvido, pH, Salinidade e Temperatura.

d) Biometria

Comprimento do cefalotórax, Largura do cefalotórax e Peso úmido.

e) Período Sazonal

Período chuvoso e Período Seco.

f) Pontos de Amostragem

Região Porto Grande e Região Raposa.

g) Método de Captura

Técnica de braceamento.

3.10 Aplicativo (software) para monitoramento ambiental: Crab Monitor

Para a criação do software ocorreram as seguintes etapas:

- a) Idealização do aplicativo: parte criativa no qual arquitetamos o aplicativo e seus objetivos. O aplicativo surgiu com a ideia de compartilhar e armazenar informações, e trazer uma abordagem mais eficaz no biomonitoramento para gestores ambientais. Nesta etapa também criamos o nome e uma lista de funcionalidades.
- b) Planejamento: Fizemos uma rápida pesquisa na plataforma de distribuição de aplicativos para smartphone (Android) para verificar concorrência, e observamos poucos registros de aplicativos de monitoramento.
- c) Desenvolvimento: Com as ideias e funcionalidades a postos, entramos em contato com uma desenvolvedora, que elaborou a interface do usuário utilizando linguagens de programação e demais configurações para deixar o aplicativo apto a cumprir seus objetivos. O código fonte foi criado e o aplicativo foi registrado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI (Anexo II).

4 RESULTADOS

Parte dos resultados exibidos a seguir, foram publicados na revista Gaia Scientia, em 2023, sendo o primeiro produto desta tese. O artigo compreende os resultados e discussão de análises ambientais, dados biométricos de *U. cordatus* e dados de biomarcadores histológicos em brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus*, e pode ser visualizado no Anexo I desta tese.

4.1 Parâmetros ambientais

As variáveis abióticas da água apresentaram condições esperadas para esta região estuarina, principalmente em termos de temperatura. No entanto, a salinidade apresentou diferença estatística entre os locais ($p < 0,05$), destacando-se a área P2, local mais próximo do Oceano Atlântico (Fig. 7). Contudo, estes dados corroboram com os registrados para a região de estudo (PINHEIRO-SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA, 2013; RIBEIRO et al., 2020) e estão em conformidade com a Resolução CONAMA n° 357/2005.

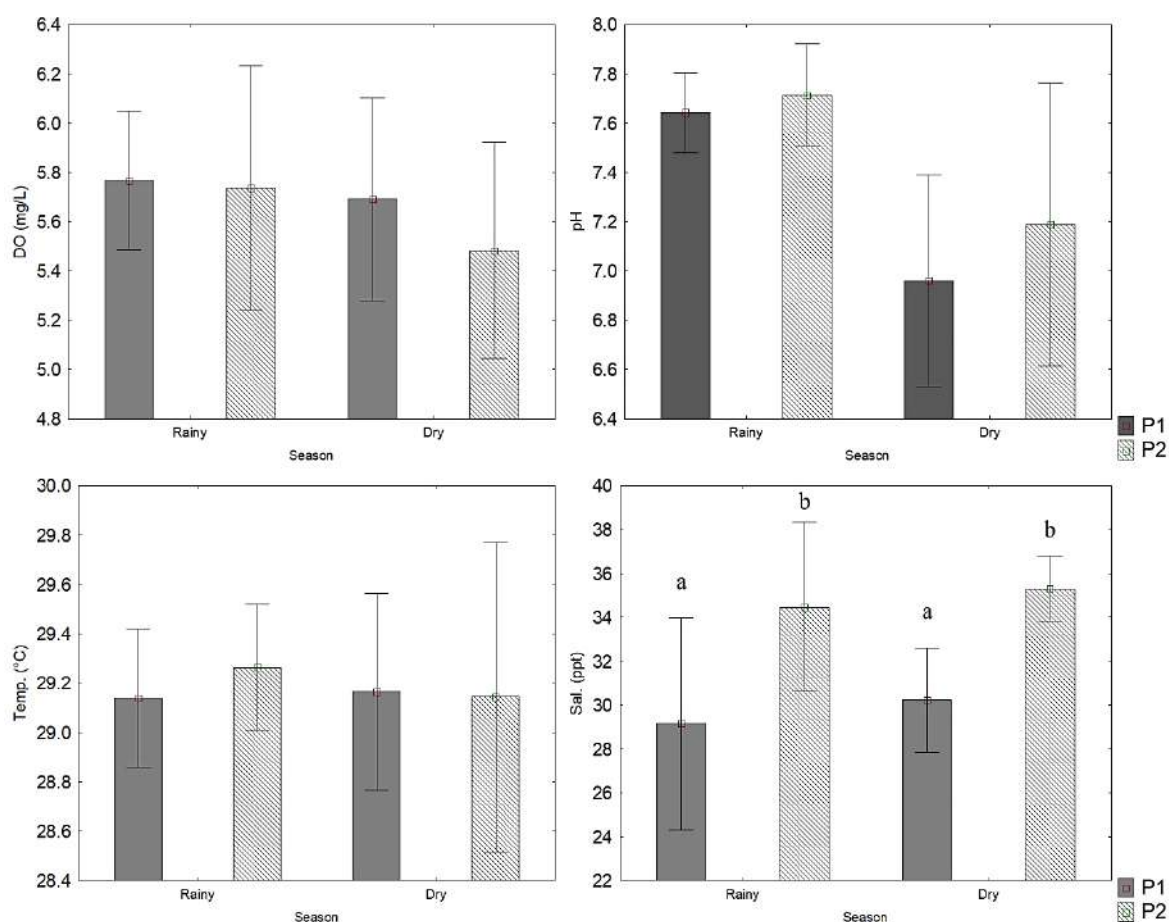


Figura 7. Média e desvio padrão para os dados de variável abiótica da água coletadas nos pontos amostrais durante os períodos chuvoso e seco. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

O resultado da análise de metais na água e no sedimento constatou a presença de todos os elementos estudados, com exceção do arsênio, cádmio e mercúrio, que não foram encontrados nas amostras ou estavam abaixo do limite de detecção do equipamento (Tab. 4). Alumínio, manganês e zinco na água e no sedimento apresentaram maiores valores ocorrendo na área P1, região de influência portuária.

Na água estuarina encontramos valores acima do permitido para manganês em P1 e P2 (limite: $0,1 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Mn}$). Em P1 também foram observados valores acima do permitido para fósforo e zinco na água (limite: $0,186 \text{ mg.L}^{-1} \text{ P}$ e $0,12 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Zn}$). Já nas amostras de água e sedimento o fósforo foi encontrado significativamente maior na região portuária (P1).

Tabela 4. Resultado de metais e outros elementos medidos em amostras de água e sedimento coletados em P1 e P2, em 2021.

	Água (mg/L)		Sedimento (mg/kg)	
	P1	P2	P1	P2
Al	$0.25 \pm 0.01^*$	< 0.1	838.86 ± 0.01	7.57 ± 0.01
As	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Cd	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.0001
Cr	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	25.5 ± 0.01	13.7 ± 0.01
Cu	0.2 ± 0.01	0.09 ± 0.01	7.8 ± 0.01	4.2 ± 0.01
Pb	< 0.01	< 0.01	4.4 ± 0.01	3.1 ± 0.01
Mn	$4.2 \pm 0.16^*$	$1.6 \pm 0.12^*$	-	-
Hg	< 0.0002	< 0.0002	< 0.0000002	< 0.0000002
Ni	< 0.005	< 0.005	12.9 ± 0.01	4.5 ± 0.01
N (Total)	< 0.10	< 0.10	45 ± 0.05	33 ± 0.01
P	$5.29 \pm 0.01^*$	0.06 ± 0.00	475.1 ± 0.01	194.5 ± 0.01
Zn	$0.16 \pm 0.01^*$	0.03 ± 0.01	27.4 ± 0.05	17.9 ± 0.01

*indica valores acima do recomendado pela legislação federal brasileira (CONAMA nº 357/2005 e 454/2012). Desvio padrão: 3 leituras do equipamento.

Para a análise de metais nos tecidos de *U. cordatus*, foi observado um resultado semelhante aos da matriz ambiental (Tab. 5). Em geral, os elementos nos tecidos foram concentrados na seguinte ordem: $\text{Fe} > \text{Al} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Ni} > \text{Cr} > \text{Pb}$ para o ponto P1 e $\text{Al} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Ni} > \text{Cr} > \text{Pb}$ para o ponto P2. As brânquias concentraram mais: ferro e alumínio. O hepatopâncreas concentrou mais: ferro, zinco e manganês. Quanto ao tecido comestível, a maior concentração foi de zinco.

Tabela 5. Resultados de metais encontrados em amostras de brânquias, hepatopâncreas e tecido comestível (músculo) de *U. cordatus* coletadas nos dois pontos de amostragem (P1 e P2).

Concentração mg.kg ⁻¹							
Elemento	Brânquias		Hepatopâncreas		Tecido comestível		LQ
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	
Al	634,04 ± 0,05*	511,35 ± 0,05	14,82 ± 0,01*	7,69 ± 0,01	7,94 ± 0,02	18,7 ± 0,03*	0,1
As	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1
Cd	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1
Cr	1,05 ± 0,01 ^b	0,9 ± 0,01	1,2 ± 0,01* ^b	0,31 ± 0,02 ^b	0,39 ± 0,01* ^b	0,34 ± 0,02 ^b	0,2
Cu	24,59 ± 0,02*	16,88 ± 0,02	9,75 ± 0,02*	3,14 ± 0,02	10,06 ± 0,01*	4,42 ± 0,01	0,2
Fe	945,82 ± 0,01*	424,05 ± 0,03	91,15 ± 0,01*	77,76 ± 0,03	11,18 ± 0,02	19,01 ± 0,01*	0,05
Mn	8,39 ± 0,02*	1,41 ± 0,01	17,43 ± 0,03*	2,18 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,57 ± 0,01*	0,05
Ni	1,03 ± 0,01*	0,48 ± 0,00	3,6 ± 0,01*	2,16 ± 0,01	0,35 ± 0,01*	0,26 ± 0,01	0,1
Pb	1,16 ± 0,02* ^{a, b, c}	0,19 ± 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1
Zn	12,1 ± 0,02*	10,63 ± 0,02	21,83 ± 0,02*	11 ± 0,02	46,52 ± 0,01 ^b	48,94 ± 0,01* ^b	0,01

a: Acima dos limites máximos recomendados pela ANVISA Nº 42/2013.

b: Acima dos limites máximos recomendados pela FAO (1984 e 2012).

c: Acima dos limites máximos recomendados pela (EU) 2023/915.

LQ: limite de quantificação.

Desvio padrão: 3 leituras do equipamento

4.2 Biometria da espécie

Todas as medidas biométricas dos caranguejos (PT, LC e CC) diferiram estatisticamente entre as áreas durante a estação chuvosa, mostrando os caranguejos P1 com maiores medidas e pesos ($p < 0,05$). No entanto, os dados da estação seca não mostraram diferença significativa em nenhuma variável biométrica (Tab. 6). Com a análise dos parâmetros biométricos, poderemos verificar se há diferença entre as variáveis de medida de caranguejos em diferentes áreas e relacioná-las a impactos ambientais, impactos da pesca, bem como variáveis ambientais e a disponibilidade de alimento para seu desenvolvimento.

Tabela 6. Medianas dos dados biométricos de *U. cordatus* coletados durante o período chuvoso e seco, em P1 e P2.

	Estação chuvosa ¹		Estação seca ²	
	P1	P2	P1	P2
PT(g)	135.3*	118.0	131.0	132
Q1-Q3	118.7 – 156.7	91.7 - 140.5	110.0 – 153.0	116.0 – 149.0
LC (cm)	6.8*	6.0	6.6	6.7
Q1-Q3	6.0 – 7.0	5.0 - 7.0	6.4 - 7.1	6.1 - 7.0
CC (cm)	4.7*	4.06	4.8	4.9
Q1-Q3	4.0 – 5.0	4.03 – 4.09	4.6 – 5.0	4.6 – 5.2

P1 = Manguezal do Porto Grande; P2 = Manguezal do Zé da Mata; PT – peso total úmido; LC – largura da carapaça; CC – comprimento da carapaça; *Indica diferença significativa entre os locais ($p < 0,05$). Q1: primeiro quartil; Q3: terceiro quartil. ¹P1: n = 33; P2: n = 30. ² P1: n = 44; P2: n = 44.

4.3 Biomarcadores enzimáticos

Verificamos que a atividade enzimática da catalase nas brânquias (Fig. 8A) apresentou diferença estatística significativa entre as áreas e períodos sazonais ($p < 0,05$). O mesmo não foi observado para o hepatopâncreas (Fig. 8B).

Para a atividade enzimática da GST nas brânquias (Fig. 8C), houve diferença estatística entre os períodos sazonais ($p < 0,05$). Houve diferença significativa para a atividade enzimática da GST no hepatopâncreas durante a estação seca (Fig. 8D).

A análise de componentes principais de 312 resultados para metais em tecidos (brânquias e hepatopâncreas) e atividade enzimática (CAT e GST) mostrou que o componente 1 (PC1) explicou 58,01% da variância e o componente 2 (PC2), 31,05% (Fig. 9). Podemos observar que existe uma forte correlação positiva entre a atividade de CAT nas brânquias de caranguejos de P1 e metais (especialmente Al, Fe e Cu) e também correlação entre a atividade da GST nas brânquias de caranguejos de P2 com metais, na PC1. Isto sugere um aumento na atividade, especialmente da CAT, em resposta à maior concentração destes metais.

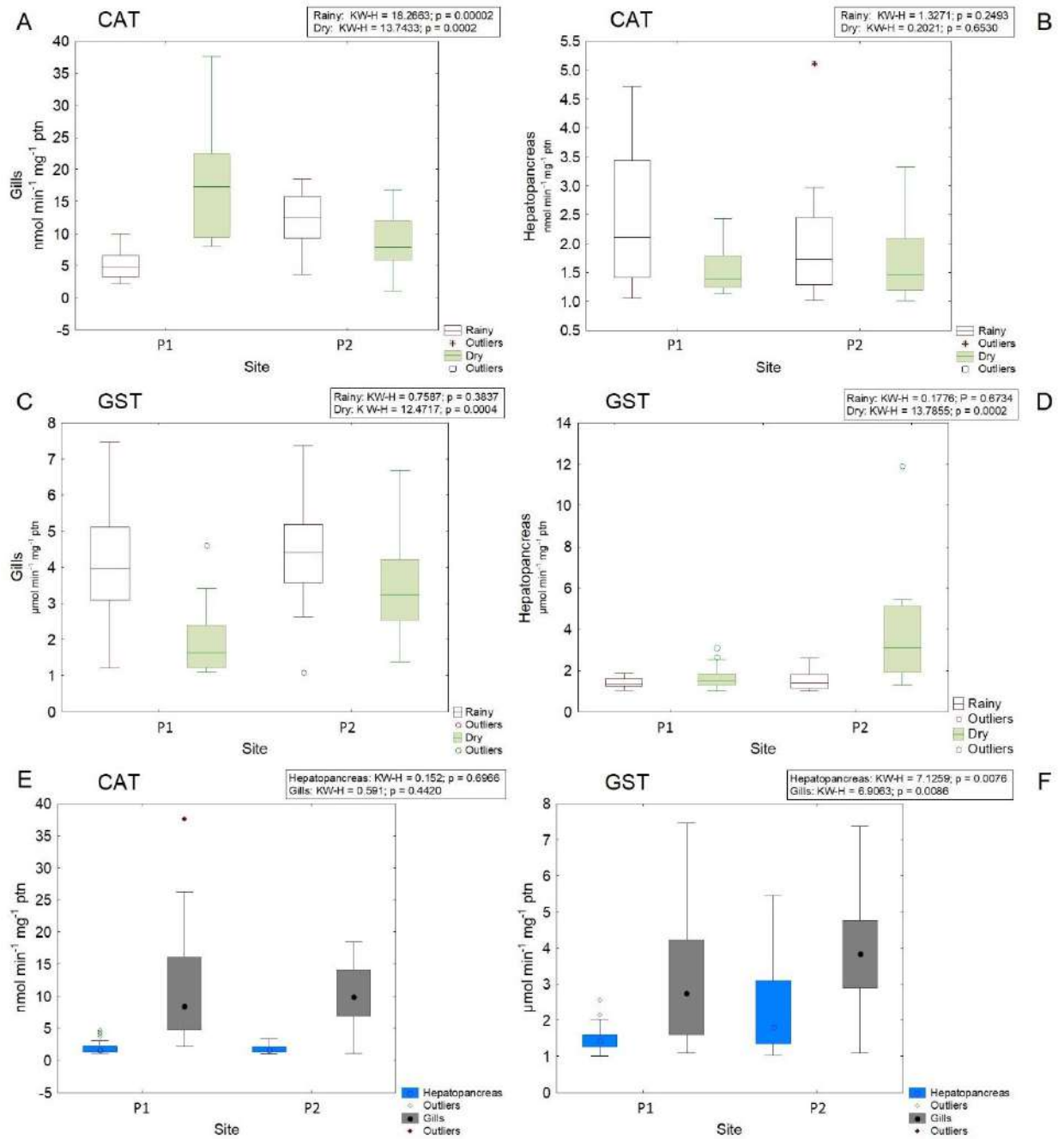


Figura 8. Atividade das enzimas CAT e GST nas brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus* durante o ano de 2021. A, B, C, D apresentam dados de acordo com a sazonalidade, testados via Kruskal-Wallis, com teste post-hoc de Dunn. E e F apresentam dados de acordo com os órgãos de caranguejo em cada site, testados via Kruskal-Wallis, com o Teste Post-Hoc de Dunn. Mediana; Box: 25%-75%; Whisker: Non-Outlier Range.

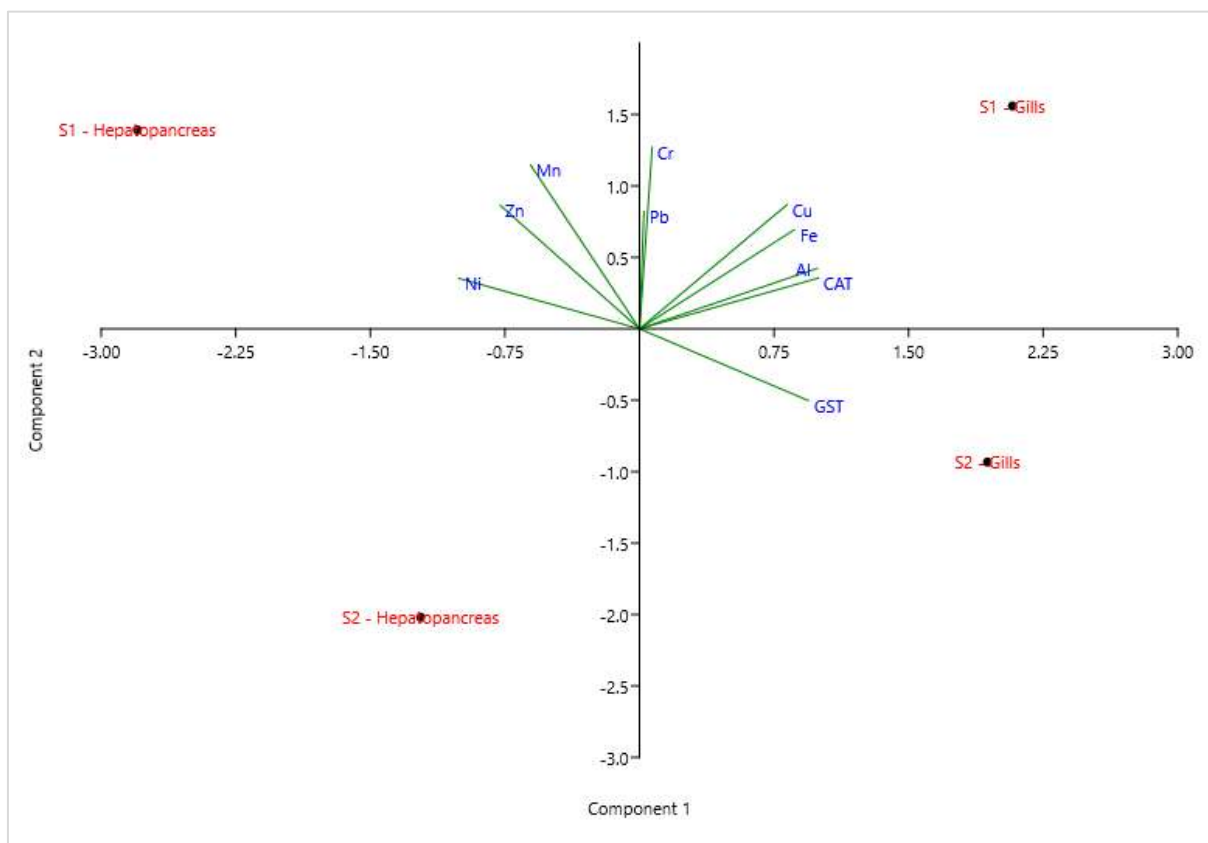


Figura 9. Análise multivariada de metais e biomarcadores enzimáticos em brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus* capturados em P1 e P2.

4.4 Biomarcadores histológicos

Brânquias de caranguejo-uçá analisados neste trabalho mostraram-se com aspectos macroscópicos normais, como vistos na literatura (ex. REBELO et al. 2000; NEGRO, 2015). No entanto, as lamelas primárias e secundárias apresentaram alterações. Não foram encontradas brânquias e hepatopâncreas saudáveis (ou seja, livres de alterações) para ambas áreas, indicando que a espécie está sob algum tipo de impacto (Fig. 10).

No total, foram visualizadas 3.584 lesões branquiais, sendo 2.120 para P1 e 1.464 para P2 (Fig. 11). As alterações encontradas em maior frequência foram distúrbios nas células da pilastra, deformação no canal marginal e lamelas colapsadas, sendo estas as lesões que mais afetaram o funcionamento do órgão (Tab. 8). A lesão irreversível necrose, apareceu em menor proporção. Quanto à análise do hepatopâncreas, todas as amostras exibiram danos, apresentando um total de 987 lesões (679 para P1 e 308 para P2). As lesões que mais estavam presentes nas lâminas histológicas foram lúmen anormal e vacuolização das células B e, consequentemente as que mais afetaram o funcionamento do hepatopâncreas (Tab. 8).

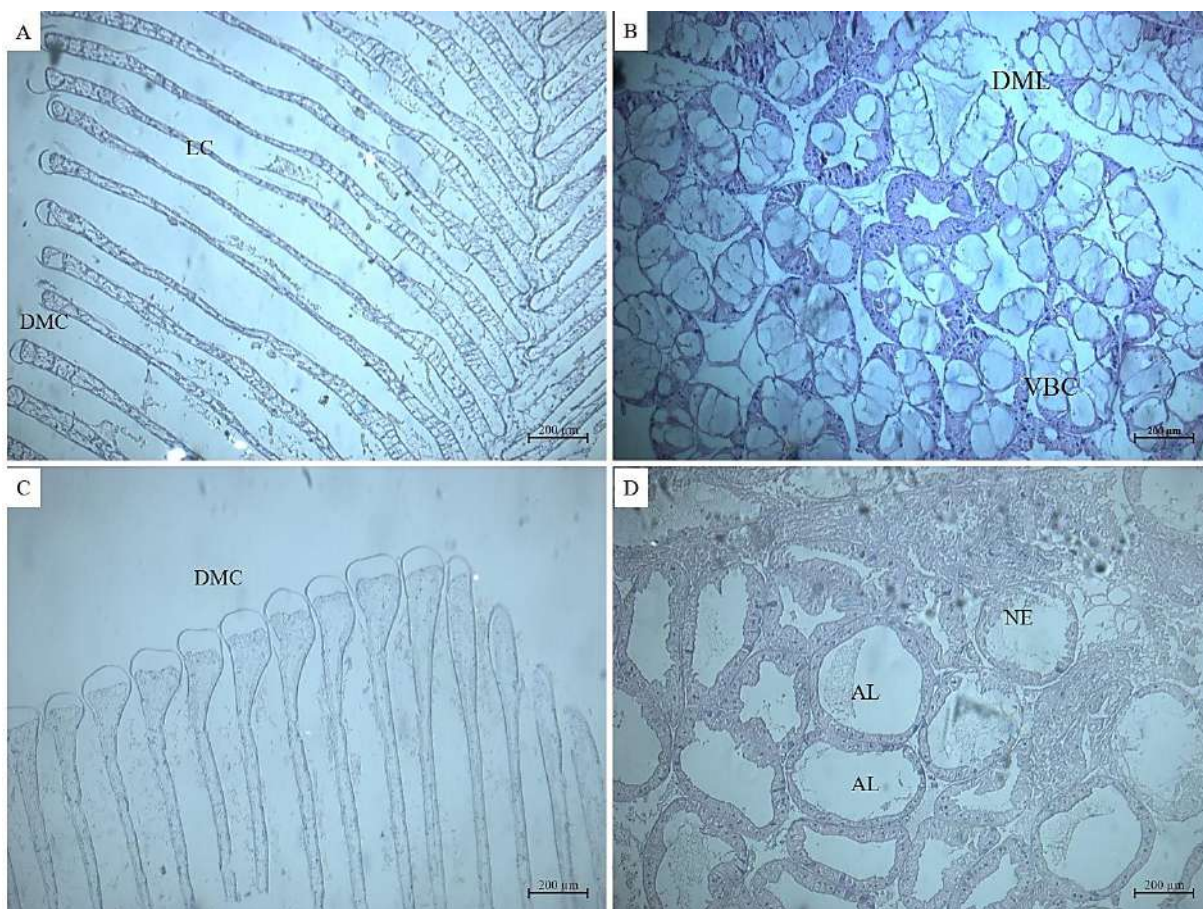


Figura 10. Alterações histológicas encontradas nas brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus*, coletados na baía de São Marcos. 10-A e 10-B: P2; 10-C e 10-D: P1. AL: lúmen anormal; CL: lamela colapsada; DMC: deformação do canal marginal; DML: camada mioepitelial danificada; NE: necrose; VBC: células B vacuolizadas. HE. 5X.

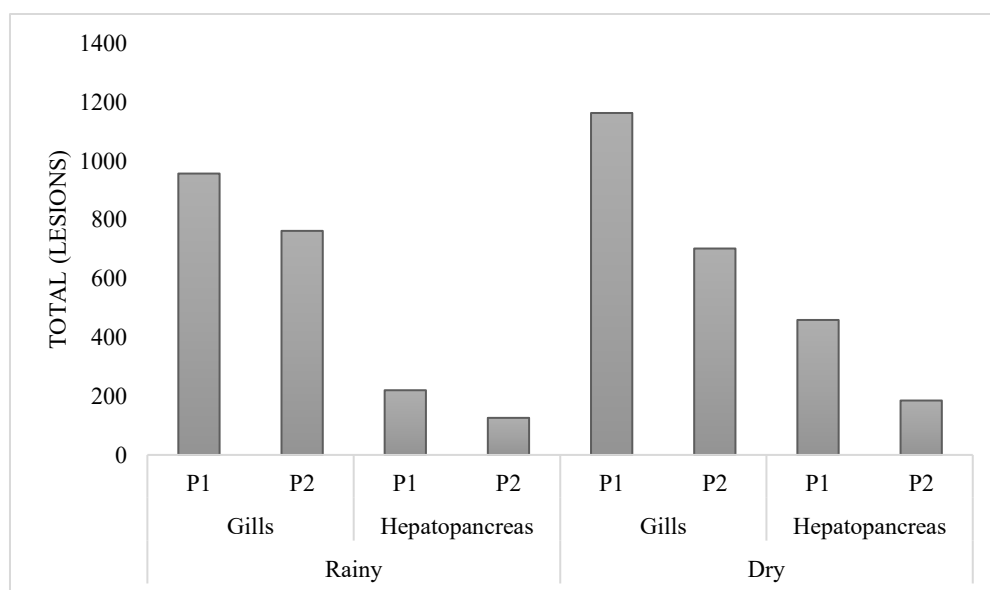


Figura 11. Soma total das lesões em brânquias e hepatopâncreas de *U. cordatus* coletados durante os períodos sazonais de 2021, nos dois sites de coleta.

Tabela 7. Porcentagem de danos às brânquias e ao hepatopâncreas de *U. cordatus* causada por lesões, durante 2021, nos dois pontos amostrais.

Lesões (%)								
Brânquias								
Site	DMC¹	DC¹	CL³	HP²	PCD³	PA	CD¹	NE³
P1	21.10	0.54	12.70	0.37	22.79	0.31	0.65	1.39
P2	13.22	0.23	5.35	0.00	22.62	0.09	0.52	0.29
Hepatopâncreas								
Site	AL¹	VBC³	HI²	DEL¹	ED¹	PA	NE³	
P1	44.57	14.66	1.10	3.69	2.79	0.20	0.70	
P2	25.82	10.75	2.39	0.60	1.19	0.60	0.15	

DMC: Deformação do canal marginal; DC: cutícula descolada; CL: lamelas colapsadas; HP: hiperplasia; DCP: distúrbios das células pilastras; PA: parasitas; CD: rompimento da cutícula; NE: Necrose. AL: lúmen anormal; VBC: células B vacuolizadas; HI: infiltração de hemócitos; DEL: camada epitelial danificada; ED: delaminação do epitélio 1: lesão reversível; 2: lesão moderada; 3: lesão irreversível. N = 80.

As alterações branquiais mais recorrentes estão incluídas no padrão regressivo de reação (processos que resultam na redução ou perda funcional de um órgão) e são classificadas como irreversíveis; as demais alterações foram classificadas como facilmente reversíveis, com o fim da exposição. A presença de parasitos também foi registrada nos caranguejos dos dois locais de coleta. No hepatopâncreas, as lesões foram classificadas no padrão de reação inflamatória (processos pertencentes a vários padrões de reação) com lesão moderada (infiltração de hemócitos) e regressiva com lesão reversível (lúmen anormal, camada mioepitelial danificada e delaminação do epitélio) e irreversível (necrose e B vacuolizado). Assim como nas brânquias, a maior proporção de lesões no hepatopâncreas foi encontrada nos caranguejos do site P1 (Fig. 10).

O índice de órgãos não apresentou diferenças estatisticamente significativas para as brânquias. Para o hepatopâncreas, apenas as lesões encontradas na estação chuvosa apresentaram diferença estatística entre as áreas ($p < 0,05$) (fig. 8). Estima-se que essa diferença de I_h durante a estação chuvosa se deva ao fato de um maior volume de xenobióticos ser lixiviado para o estuário nessa estação.

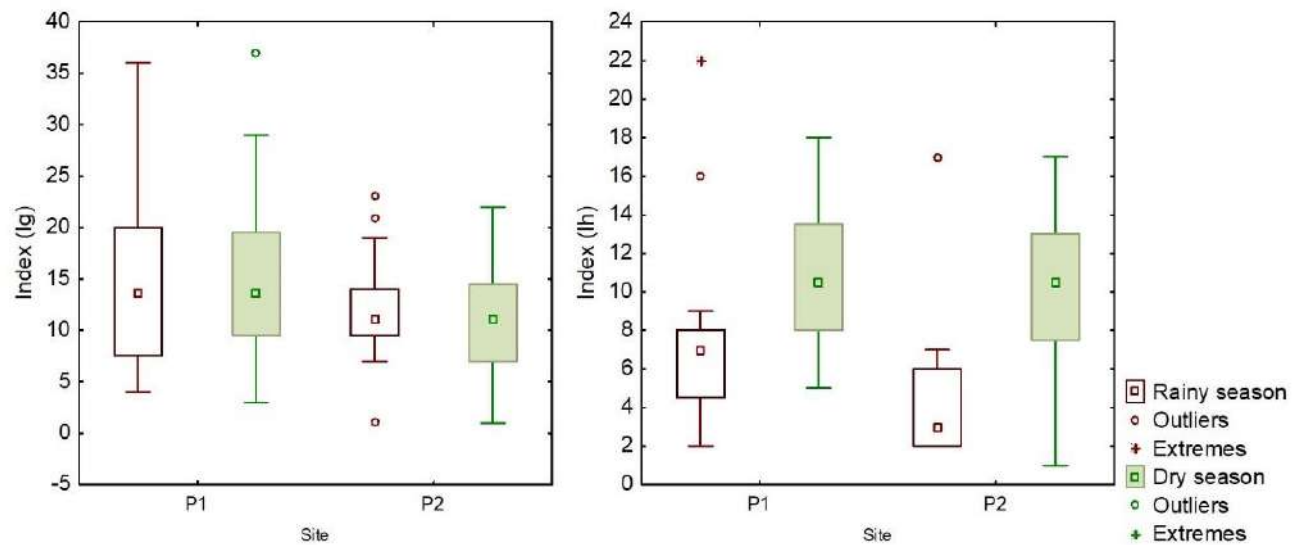


Figura 12. Valores de índice para brânquias (Ig) e hepatopâncreas (Ih) de *U. cordatus* em cada área.

4.5 Bio-ontologia de biomarcadores em *Ucides cordatus* para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão

Criamos a estrutura de uma Bio-ontologia de biomarcadores em *U. cordatus* de acordo com o guia Ontology Development 101, criado por pesquisadores da Stanford University (NOY; MCGUINNESS, 2001). A seguir vamos discutir sobre a estrutura da ontologia.

As classes da bio-ontologia utilizadas referem-se à classificação biológica, às medidas biométricas e respostas biológicas do organismo, local de coleta e dados ambientais e de contaminantes (Fig 13).

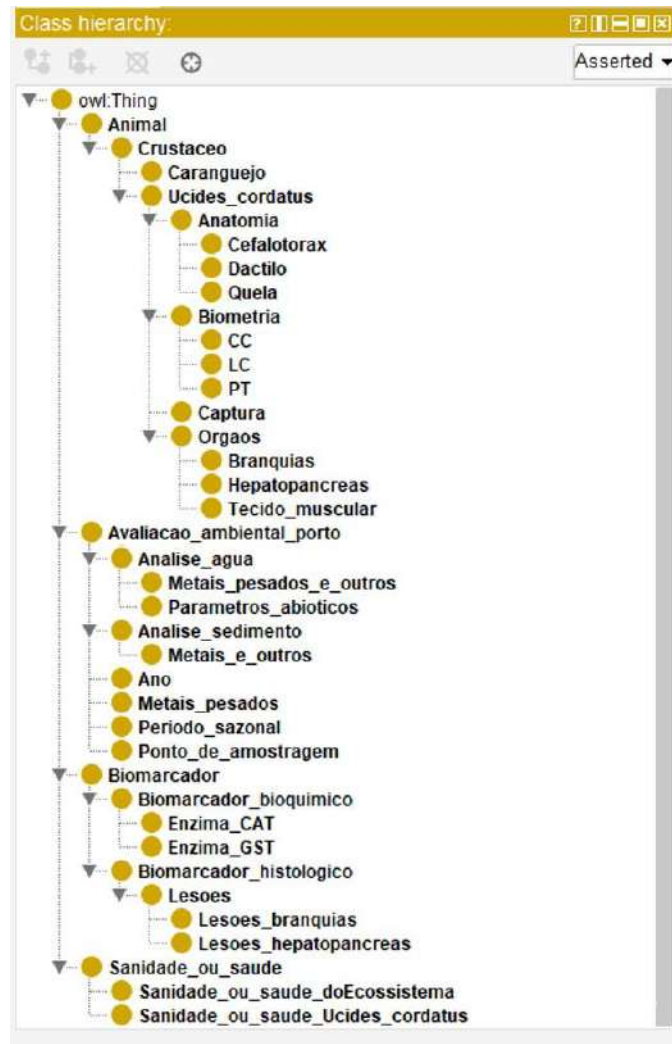


Figura 13. Interface do programa Protégé mostrando as classes e subclasses da bio-ontologia de monitoramento de regiões portuárias.

Como abordado anteriormente, foram escolhidas algumas propriedades de objetos para interligar as classes.

A propriedade `é um` possui como domínio a classe `Ucides cordatus` e o alcance as classes `Animal`, `Caranguejo`, `Crustaceo` (categorias às quais o caranguejo pertence). Portanto, esta propriedade expressa que `Ucides cordatus` "é um" tipo de animal, mais especificamente um caranguejo e um crustáceo.

A propriedade `foi capturado` relaciona o caranguejo-uçá aos dados sobre sua captura. Possui também domínio a classe `Ucides_cordatus` e o alcance `Ano`, `Captura`, `Periodo_sazonal`, `Ponto_de_amostragem`. Assim, a propriedade mostra onde e quando o caranguejo foi capturado (ano, ponto de coleta e sazonalidade).

A próxima propriedade que vamos descrever e interpretar é `pode conter`. Possui como domínio a classe `Orgaos` (órgãos do caranguejo, como hepatopâncreas e brânquias) e alcance as classes `Biomarcador` e `Metais_pesados`. A propriedade indica que órgãos do caranguejo

podem conter biomarcadores (como atividade de enzimas alteradas e/ou lesões histológicas) ou metais pesados, sugerindo a possibilidade de contaminação ou estresse ambiental.

Já a propriedade tem associa o caranguejo-uçá às suas características físicas. Tem como domínio *Ucides_cordatus* e como alcance, Anatomia, Biometria, Orgaos, indicando que essa espécie de caranguejo possui certas estruturas anatômicas e órgãos, além de características que podem ser medidas (biometria).

Para conectar os conceitos de biomarcadores, adicionamos a propriedade um tipo de, no qual estabelece uma relação entre categorias específicas de biomarcadores. O domínio é a classe Biomarcador e o alcance, as classes Bioquimico, Histologico (tipos de biomarcadores). Logo, os biomarcadores bioquímicos e histológicos são tipos de biomarcadores. Podemos interpretar também que há análises a diferentes níveis de organização biológica (ex.: enzimas como biomarcadores bioquímicos e alterações teciduais como biomarcadores histológicos).

A sexta propriedade é afeta, com domínio a classe Metais_pesados e alcance as classes Orgaos, Sanidade_ou_saude_Ucides_cordatus e Sanidade_ou_saude_doEcosistema. Esta propriedade indica que os metais podem afetar órgãos, a saúde de *Ucides cordatus* e a saúde do ecossistema. Essa propriedade ajuda a estabelecer uma relação direta entre os metais e os elementos afetados, ajudando nas interpretações sobre análises de impacto ambiental.

E por fim, a propriedade influencia. Essa propriedade mostra que o período sazonal (época de chuva ou de estiagem) influencia parâmetros abióticos. Tem como domínio a classe Periodo_sazonal e alcance a classe Parametros_abioticos.

Diante esta explicação, na Figura 14, podemos conectar os conceitos da seguinte forma: *Ucides cordatus* e_um (é um) Caranguejo, tem Biometria (Biometria), tem Anatomia, tem Orgaos (Órgãos), foi_capturado em um Ponto_de_amostragem, etc.

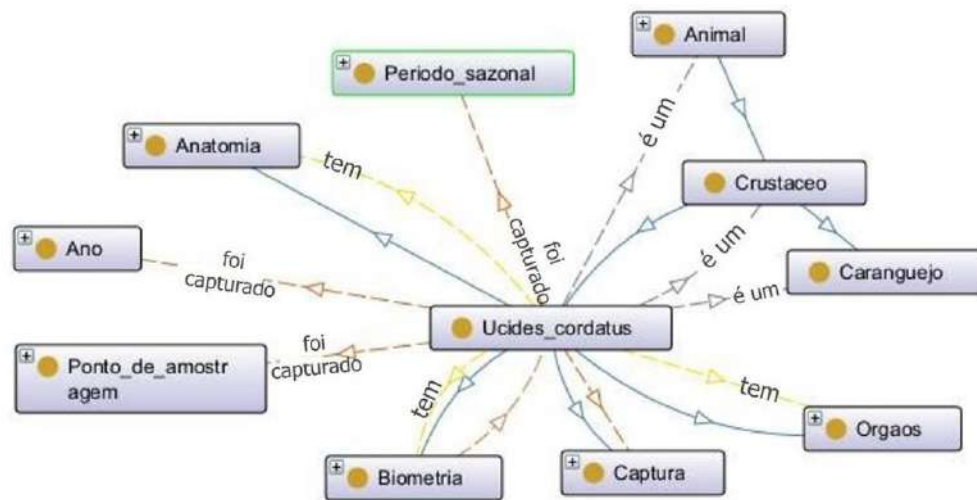


Figura 14. Propriedade dos objetos conectando os conceitos da bio-ontologia.

Em relação às instâncias, que são os exemplos específicos das classes (relatado e agrupado anteriormente no item 3.9.5), as figuras 15, 16, 17, 18 e 19, mostram os exemplos de instâncias das subclasses Captura, Biometria, Ponto de amostragem, Período sazonal, Parâmetros abióticos, Biomarcador bioquímico, Lesões branquiais e Lesões no hepatopâncreas, visualizadas através do OntoGraf do software Protégé.

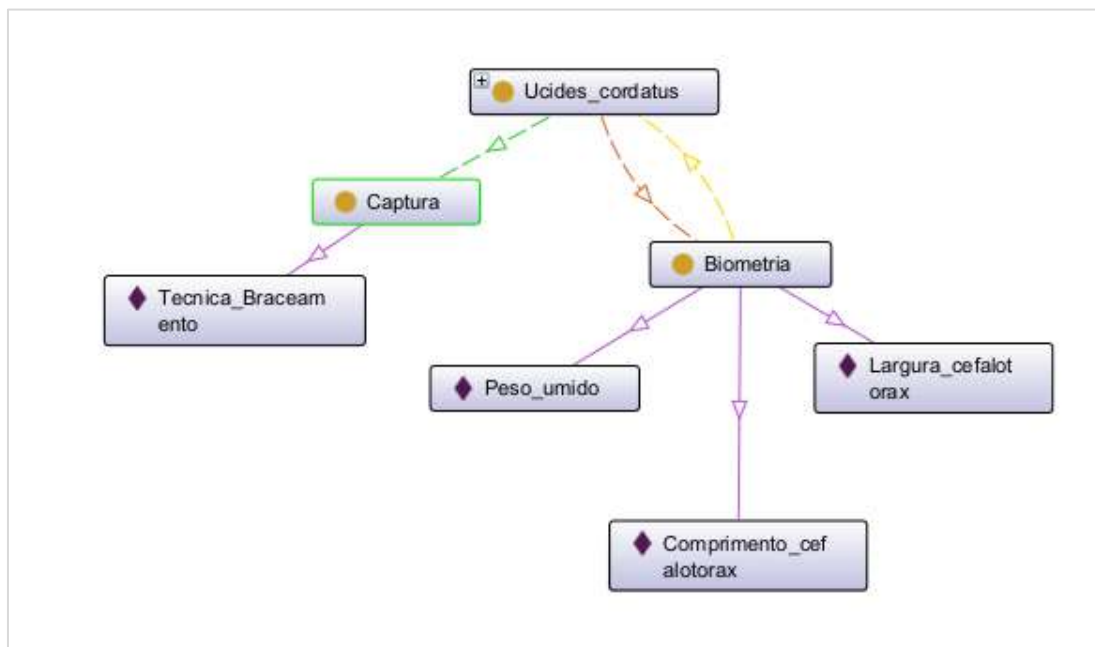


Figura 15. Instâncias das subclasses Captura e Biometria (losangos roxos).

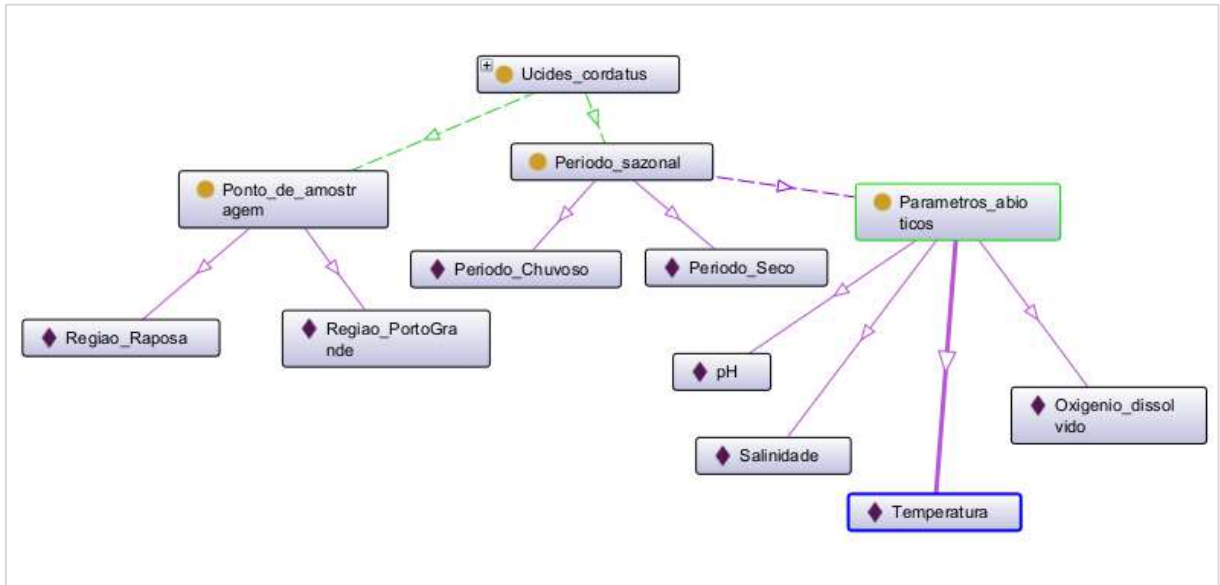


Figura 16. Instâncias das subclasses Ponto de amostragem, Período sazonal e Parâmetros abióticos.

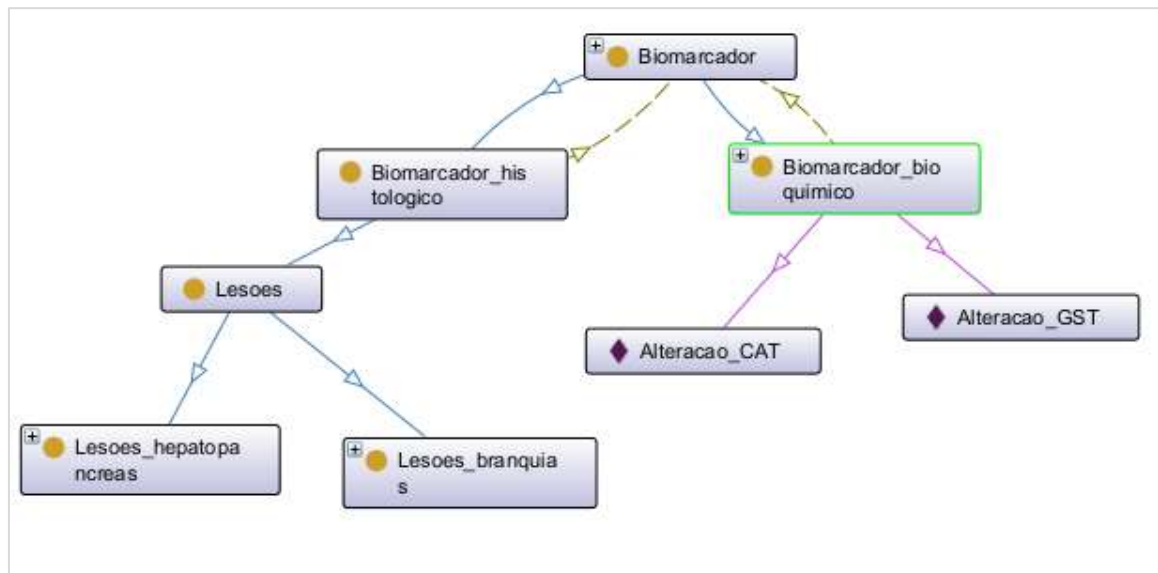


Figura 17. Instâncias da subclasse Biomarcador bioquímico.

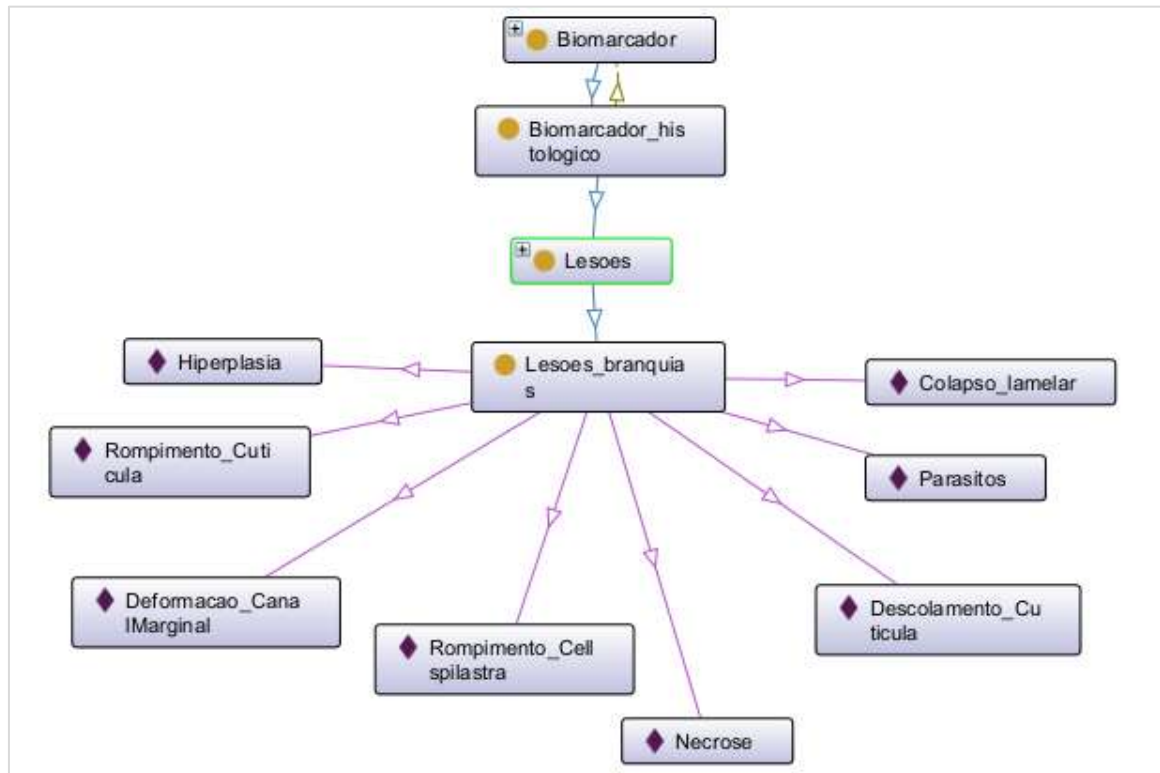


Figura 18. Detalhamento da estrutura da bio-ontologia, destacando a subclasse Lesões branquiais e suas instâncias (losangos roxos).

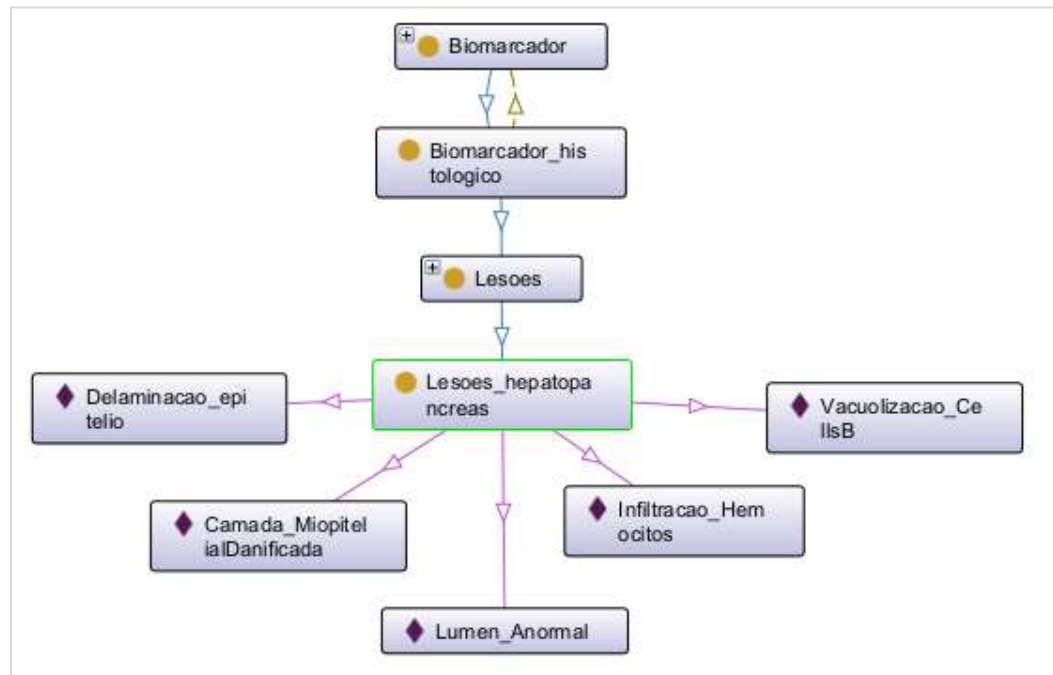


Figura 19. Detalhamento da estrutura da bio-ontologia, destacando as instâncias da subclasse Lesões no hepatopâncreas.

Nessa grande nuvem de informações, podemos visualizar a estrutura da bio-ontologia, onde temos setas de diversas cores, relacionando os indivíduos às classes, ligando os conceitos

através das propriedades dos objetos e conectando as classes e subclasses de forma hierárquica (Fig. 20).

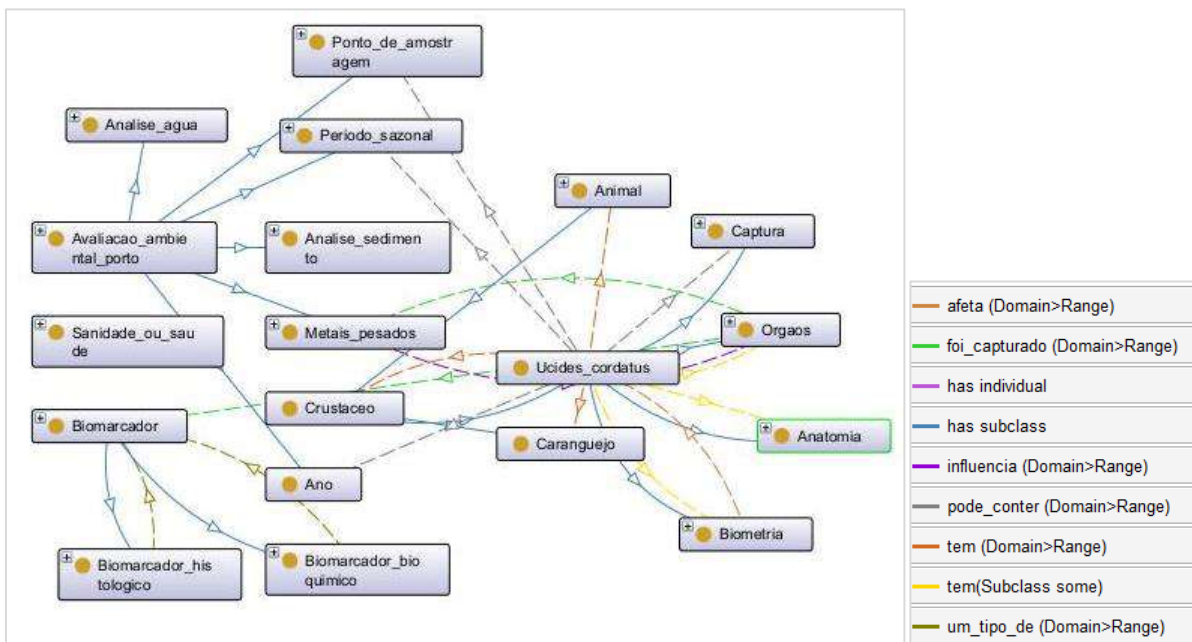


Figura 20. Estrutura da bio-ontologia de monitoramento de regiões portuárias, mostrando as classes e subclasses, e o tipo de relacionamentos de acordo com as cores das setas.

4.6 Crab Monitor

Para softwares voltados para o biomonitoramento, é preciso que haja um acervo de dados biológicos, ambientais e de localização dos pontos de monitoramento e que o sistema seja capaz de processar grandes volumes de dados e apresentar visualizações claras para os usuários, capacitando gestores e a população nas tomadas de decisão e melhor gerenciamento de políticas voltadas ao meio ambiente (POPESCU et al., 2024).

Assim, para melhor compartilhamento de informações, bem como visando numa abordagem mais eficaz no biomonitoramento para gestores ambientais, surgiu o software Crab Monitor (Fig. 21): um aplicativo para smartphone (já registrado no INPI), que terá publicação nas lojas de aplicativos, no qual os dados desta pesquisa estarão depositados e disponíveis.

O aplicativo desenvolvido conta com a seguinte estrutura e funcionalidade:

- Módulos de segurança, garantindo o registro seguro de usuários / pesquisadores;
- Registros dados biológicos, dados ambientais e localidades;
- Funções específicas que farão cálculos dos dados ambientais e biológicos, bem como resposta como base na gravidade da lesão histológica
- Integração com uma Bio-ontologia conceitual.



Figura 21. Ícone do aplicativo Crab Monitor.

O aplicativo tem como finalidade depositar e recuperar dados de monitoramento, gerar gráficos e fornecer alertas e notificações aos usuários quando certos níveis de biomarcadores e outras variáveis ultrapassarem limites predefinidos, atuando de forma preditiva, auxiliando a mitigação e manejo de áreas impactadas. A figura 22 mostra a interface do aplicativo.

O software Crab Monitor também considerará a usabilidade para os diferentes perfis de usuários, desde gestores ambientais a pesquisadores de campo, garantindo assim que a interface seja intuitiva e os dados sejam disponibilizados de maneira prática. Assim, o APP Crab Monitor pode trazer as soluções inovadoras e eficientes para contribuir diretamente para a preservação ambiental e para a otimização de políticas de gestão ambiental.

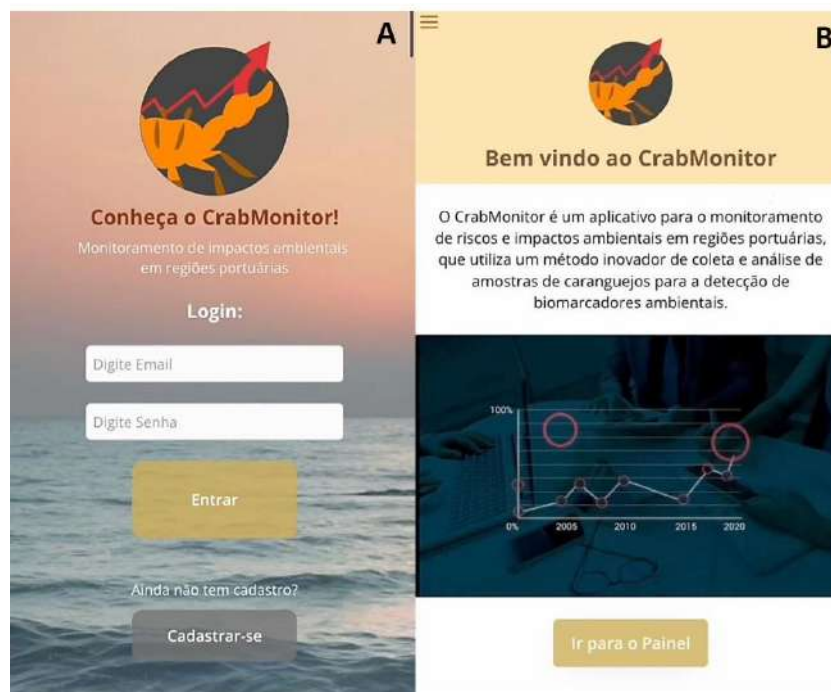


Figura 22. Interface do aplicativo Crab Monitor. A: tela de login e cadastro; B: tela inicial do aplicativo após o login.

5 DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros ambientais

Em relação aos parâmetros abióticos da água, a Resolução CONAMA n° 357/2005 não especifica a interação entre os parâmetros, apenas dá diretrizes de como um recurso aquático está “próprio para uso”. Assim, mesmo que os dados abióticos estejam dentro dos limites aceitáveis, não é possível afirmar que o ambiente pode ser considerado adequado para a vida estuarina, visto que há interação entre diferentes substâncias. Como exemplo, o pH pode contribuir para a precipitação e potencialização dos efeitos de metais-traço; o oxigênio dissolvido em baixas concentrações causa danos aos organismos aquáticos, como hipóxia; altas temperaturas interferem diretamente na disponibilidade de oxigênio na água; a alteração da salinidade, além de aumentar as taxas metabólicas, interfere negativamente no sistema imunológico dos animais aquáticos (ADELEKE et al., 2021; GARCÍA-RUEDA et al., 2021; WANG et al., 2018, 2022). Portanto, o ambiente é dinâmico e pode haver interação desses elementos com outras substâncias, resultando em uma mistura complexa, que podem gerar efeitos adversos nos organismos.

No que diz respeito à análise de metais na água, os valores de manganês encontramos acima do permitido em P1 e P2 (limite: 0,1 mg.L⁻¹ Mn), provavelmente se deve a um derramamento acidental do elemento na região de estudo. Esse metal é essencial para o metabolismo dos organismos e participa de diversas funções, inclusive atuar como cofator de enzimas antioxidantes e combater espécies reativas de oxigênio (ROS) (ZHANG et al., 2016; KUMAR et al., 2023); entretanto, é considerado um microcontaminante que, se ingerido em grandes quantidades, pode gerar efeitos negativos aos organismos (SUMMER; REICHELTER-BRUSHETT; HOWE, 2019; YANG et al., 2021). Dentre os efeitos adversos que podem ocorrer, mesmo que em pequena escala, são possíveis danos cerebrais e danos aos processos reprodutivos e de desenvolvimento, além de comprometer alguns órgãos como pulmão e fígado (ISIBOR et al., 2020).

Valores acima do permitido também foram encontrados para os elementos fósforo e zinco na água (limite: 0,186 mg.L⁻¹ P e 0,12 mg.L⁻¹ Zn). O zinco é um elemento essencial para humanos e animais e está ligado ao crescimento e ao metabolismo, porém apresenta toxicidade dependendo de sua concentração (KUMAR et al., 2020). Embora os efeitos no meio ambiente não sejam tão bem explorados (RAJKUMAR et al., 2022), em peixes expostos a altas concentrações, isso pode resultar na secreção de muco branquial, o que prejudica os processos respiratórios (MCRAE; GAW; GLOVER, 2016).

A maior concentração de fósforo encontrado em amostras de água e sedimento na região portuária (P1), é devido ao embarque e descarregamento diário de cargas de fertilizantes. O fósforo é um nutriente essencial aos seres vivos e está presente em diversas moléculas (ELSER, 2012). A entrada desse elemento nos estuários pode se dar por meio de fenômenos naturais ou por interferência antrópica (efluentes domiciliares, uso de fertilizantes no solo, etc.).

Resultados semelhantes para metais no sedimento foram encontrados em de Oliveira et al. (2019) em seu estudo realizado em pontos da região portuária de São Luís (MA), especialmente para os metais cobre, níquel, chumbo e zinco.

Em trabalhos de biomonitoramento em manguezais é fundamental analisar a qualidade do sedimento para saber se o substrato utilizado pelos organismos está contaminado. Como os sedimentos finos dos manguezais são potenciais reservatórios de substâncias, eles podem ser facilmente dissolvidos na água e toda a cadeia trófica pode ficar exposta a efeitos adversos (ARAÚJO et al., 2006).

Quanto aos dados de metais nos tecidos de *U. cordatus*, o alto valor de alumínio em P1 (em relação à P2) para as três matrizes, é provavelmente por este ser um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre, mas também pode ser oriundo das atividades do refino da bauxita em alumina (óxido de alumínio) e fabricação de lingotes de alumínio, produzida em grande escala no setor industrial local e exportadas pelo complexo portuário. Sabe-se que manguezais são capazes de reter contaminantes no ambiente, servindo de sumidouros (CHEN; WHITE, 2004). Dessa forma, acreditamos que este resultado é em função da concentração desse metal no ambiente por quase meio século de atividade industrial.

Pouco se sabe sobre os efeitos e a bioacumulação do alumínio na cadeia trófica neste ecossistema, mas a pesca é uma atividade de subsistência das comunidades ribeirinhas, podendo se tornar um problema de saúde pública no futuro. Alimentos e água, considerados as principais vias de absorção do alumínio, representam cerca de 4.000 a 9.000 µg por dia (YOKEL; HICKS; FLORENCE, 2008). No entanto, não encontramos quantidades máximas permitidas de alumínio para consumo de frutos do mar. Desta forma, recomendamos que sejam realizados novos estudos de bioacumulação para verificara concentração nos tecidos.

O ferro foi o metal encontrado em maior concentrações nos tecidos de *U. cordatus*. O ferro é um elemento essencial, pois participa de diversas funções no corpo humano: respiratória (atuando como transportador de oxigênio), função imunológica, transporte de elétrons, etc. (GANZ, 2019). O alto valor do ferro provavelmente tem relação com a atividade de um dos terminais do complexo portuário, que tem como principal atividade a exportação de milhões de toneladas de minério de ferro por ano. Recomenda-se também que haja a realização de estudos

mais aprofundados sobre a bioacumulação deste metal em organismos aquáticos de interesse comercial.

Valores que excederam o limite seguro para zinco foram encontrados em tecidos comestíveis nos locais P1 e P2. Resultado similar foi observado em de Jesus et al. (2021), no qual os pesquisadores indicam que esse elemento é essencial para crustáceos e pode estar relacionado à presença de proteínas ligadas aos metais, no entanto, quando em altas concentrações, pode ser altamente nocivo ao organismo.

Os metais cádmio, cromo, níquel e zinco corroboram com os valores achados em de Jesus et al. (2021), mostrando valores semelhantes desses elementos no tecido muscular de *U. cordatus* coletados na região portuária de São Luís (MA). No entanto, o mesmo não ocorreu para o metal cobre, que em nosso estudo apresentou-se com uma maior concentração no tecido comestível de caranguejos da região portuária. O cobre é um metal reativo encontrado naturalmente no ambiente, mas devido a impactos antrópicos (industrial, esgoto doméstico, etc.), tem sido encontrado cada vez mais em maiores concentrações, podendo causar alterações nas atividades das enzimas antioxidantes e danos no DNA (LATIF et al., 2022).

Os elementos analisados neste estudo estão em sua maioria de acordo com a legislação local vigente; entretanto, não existem valores locais de referência em relação à concentração de alumínio em sedimentos marinhos. Valores de metais alterados podem interferir na biometria dos organismos aquáticos, comprometendo especialmente peso e tamanho dos animais (PINHEIRO-SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA, 2013).

5.2 Biometria da espécie

Embora P1 seja historicamente o ponto mais afetado por impactos, os valores das medidas biométricas foram maiores no período chuvoso, o que demonstra que os indivíduos desta população são resistentes aos estresses da região portuária. Estudos anteriores (Tab. 7) mostraram que esses valores são normais para indivíduos do complexo estuarino de São Marcos, o que mostra que a população pode estar se adaptando (OLIVEIRA et al., 2022). Vale ressaltar que, ao comparar esses indivíduos com regiões menos afetadas (Tab. 7), o resultado são indivíduos bem menores (DE OLIVEIRA et al., 2019; JESUS et al., 2020).

Tabela 8. Registros de medidas biométricas de *U. cordatus* capturados na região portuária de São Luís - MA, e outras regiões de baixo impacto.

Autor	Área	Ano		Média ± DP	Mediana
Oliveira et al. (2022)	Região Portuária de São Luís (MA)	2016	Pt (g)	104,23 ± 23.75	102,50
			Lc (cm)	6,03 ± 0,87	6,25

			Cc (cm)	4,91 ± 0,64	4,80
Oliveira et al. (2022)	Região Pesqueira (Raposa - MA)	2016			
			Pt (g)	149,83 ± 30,41	144,00
			Lc (cm)	6,65 ± 0,83	6,80
			Cc (cm)	5,48 ± 0,83	5,25
Rocha e Lima (2020)	Região Portuária de São Luís (MA)	2015-2016			
		Estiagem	Pt (g)	87,57 ± 22,65	
			Lc (cm)	61,16 ± 5,32	
			Cc (cm)	46,38 ± 3,58	
		Chuvoso	Pt (g)	104,80 ± 25,92	
			Lc (cm)	63,80 ± 4,72	
			Cc (cm)	47,11 ± 4,26	
Rocha e Lima (2020)	Região Pesqueira (Raposa - MA)	2015-2016			
		Estiagem	Pt (g)	150,73 ± 36,43	
			Lc (cm)	66,46 ± 7,16	
			Cc (cm)	49,0 ± 5,41	
		Chuvoso	Pt (g)	150,88 ± 27,93	
			Lc (cm)	69,03 ± 5,19	
			Cc (cm)	52,92 ± 5,13	
Jesus et al. (2020)	Região Portuária de São Luís (MA)	2018			
		Chuvoso	Pt (g)	117,2±19,18; 115,9±22,69; 125,1±25,12	
			Lc (cm)	6,45±0,35; 6,45±0,41; 6,56±0,79	
			Cc (cm)	4,93±0,24; 5,03±0,48; 4,94±0,51	
		Estiagem	Pt (g)	125,8±10,34; 105,9±19,15; 126,7±34,33	
			Lc (cm)	6,56±0,26; 6,32±0,27; 6,56±0,5	
			Cc (cm)	5,01±0,17; 4,82±0,24; 4,95±0,28	
Jesus et al. (2020)	Ilha dos Caranguejos (MA)	2018			
		Chuvoso	Pt (g)	172,2±26,76	

	Lc (cm)	7,47±0,27
	Cc (cm)	5,53±0,39
Estiagem	Pt (g)	138,6±25,5
	Lc (cm)	6,73±0,28
	Cc (cm)	5,2±0,29

Por outro lado, as menores medidas obtidas para os exemplares de caranguejo em P2 podem estar associadas à pesca predatória deste recurso, visto que se trata de uma região onde uma das principais fontes de renda das comunidades é a pesca. Num ponto remoto e mais preservado desta região pesqueira, há registros de caranguejos com valores biométricos superiores aos apresentados neste estudo (ROCHA; LIMA, 2020). Além disso, Legat e Legat, (2009) observaram que no estado do Maranhão (Brasil) há registros de aumento do esforço na pesca, bem como de variáveis biométricas em menor número. Por se tratar de uma espécie de crescimento muito lento (PINHEIRO et al., 2016), serem capturados continuamente antes de seu período completo de maturação, prejudicando seu ciclo reprodutivo (DE LIMA; DA SILVA; BERNARD, 2018) e face aos registros já mencionados, pode estar ocorrendo a pesca excessiva nesta área.

Outro parâmetro a considerar é a presença de metais em amostras de sedimentos e águas estuarinas, o que permite o acúmulo dessas substâncias nos organismos. O processo de acúmulo de elementos nocivos pode causar sérios danos aos organismos na forma de desvio de energia do crescimento para a desintoxicação, alterações nas células e morte celular e, em casos mais graves, morte (COSTA et al., 2008). Portanto, todos esses impactos podem dificultar o desenvolvimento do *U. cordatus*, que provavelmente demonstrará respostas biológicas diante da contaminação ambiental. Em parte, isso pode explicar o tamanho e peso reduzidos dos caranguejos em P1 e P2, pois os organismos vivem na presença de substâncias nocivas, prejudicando sua taxa de crescimento.

5.3 Biomarcadores enzimáticos

Os valores apresentados para atividade da CAT nas brânquias e hepatopâncreas apresentaram-se maiores, de acordo com o estudo de biomarcadores em caranguejos de Jesus et al. (2020) e de Jesus et al. (2021). Já para a atividade enzimática da GST, resultados na literatura apontaram dados diferentes dos nossos achados. Em seu estudo, de Jesus et al. (2021) e Jesus et al. (2020) mostrou uma menor atividade da GST nas brânquias e maior atividade da GST no hepatopâncreas de *U. cordatus*, em relação aos nossos resultados.

Na comparação entre os órgãos, as brânquias apresentaram maior atividade enzimática de CAT e GST que o hepatopâncreas, contrastando os resultados exibidos em de Jesus et al. (2021) e Carvalho Neta et al. (2019). Esta informação afirma que a exposição desses organismos está aumentando ao longo dos anos, e a capacidade de desintoxicação no hepatopâncreas aparentemente está caindo. Com a baixa atividade enzimática da GST e CAT no hepatopâncreas, pode ocorrer futuramente a exaustão dos sistemas enzimáticos, ou seja, apresentar atividade nula e falhar no combate ao estresse oxidativo e na biotransformação de compostos. Portanto, a priori, esse resultado mostra o grau de exposição desses órgãos (aguda e crônica).

A presença de metais no ambiente pode causar dois efeitos distintos nos sistemas enzimáticos, ou seja, estimulação da produção de enzimas antioxidantes devido à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) ou inibição do sistema enzimático (FRÍAS-ESPERICUETA et al., 2022). Os metais Al, Mn e Zn, encontrados em maiores concentrações nas amostras analisadas, são considerados relativamente reativos e podem intensificar o processo de produção de EROs, que é promovido pelos xenobióticos (BECARIA; CAMPBELL; BONDY, 2002). Em particular, o metal Al também tem a capacidade de afetar a concentração de glutathione reduzida (GSH), que é importante no processo antioxidante e desintoxicação celular (AWASTHI et al., 1983; AHMED, 2014). Além disso, é importante destacar que as brânquias estão diretamente expostas aos xenobióticos e, conseqüentemente, pode-se encontrar maior atividade enzimática. Portanto, maiores valores de atividade nesse órgão para as duas enzimas se devem ao combate ao estresse oxidativo e à ação na biotransformação de xenobióticos.

Em contrapartida, os hepatopâncreas mostraram baixa atividade para as duas enzimas. Assumindo que metais pesados apresentam facilidade para se concentrar nos tecidos biológicos dos crustáceos (LIVINGSTONE, 2001; RAINBOW, 2018), sua toxicidade é um potencial inibidor para as enzimas, especialmente a GST. Uma vez que o organismo apresenta inibição dessa enzima, pode prejudicar o processo de desintoxicação de compostos endógenos (ELUMALAI; ANTUNES; GUILHERMINO, 2002), desencadeando respostas como o estresse oxidativo.

As atividades alteradas destas enzimas são biomarcadores sensíveis, isto porque em uma escala de organização biológica, são as primeiras a responderem às perturbações ambientais, o que as fazem ser amplamente utilizadas em estudos de biomonitoramento. A CAT é uma das mais importantes enzimas relacionadas ao processo antioxidante dos organismos, combatendo H_2O_2 na célula (JENA; VERLECAR; CHAINY, 2009); já GST é uma enzima de desintoxicação

de fase II, que reage a poluentes orgânicos e inorgânicos, fazendo sua biotransformação, conjugação e eliminação (CONTRERAS-VERGARA et al., 2004).

5.4 Biomarcadores histológicos

As lesões histológicas encontradas nesse estudo, são similares aos observados em Arockia Vasanthi et al. (2014), Ameer et al. (2015), Carvalho Neta et al. (2019), De Oliveira et al. (2019), Batista De Jesus et al. (2020) e De Jesus et al. (2021), onde organismos aquáticos de uma região sob influência portuária demonstraram alterações em maior proporção em relação a regiões controle, afirmando o grau de perturbação do local em que esses organismos estão inseridos. Quanto ao índice demonstrado neste trabalho, ele reflete o quão severamente o órgão é afetado pelas histopatologias. Dessa forma, os valores para os locais representam um alto grau de dano aos órgãos. Como consequência, temos grande probabilidade de perda total no funcionamento do órgão, comprometendo a saúde do organismo ou até mesmo levando à morte.

As brânquias são órgãos que estão em contato com o ambiente circundante, e assim, as primeiras a reagir aos xenobióticos presentes no ambiente, que por sua vez, provocam alterações no tecido (BRESEGHELO et al., 2004; DE OLIVEIRA et al., 2019). Portanto, o maior número de lesões registrado em caranguejos da região portuária demonstra que esses organismos estão sob constante perturbação no ambiente, através da contaminação resultante de atividades portuárias. Já o hepatopâncreas é um órgão que desempenha atividades relacionadas à digestão, absorção e à desintoxicação do organismo (MAHARAJAN et al., 2015), podendo apresentar alterações crônicas no tecido.

Os resultados mostram que a integridade dos órgãos (brânquias e hepatopâncreas) está sendo comprometida, visto que houve um grande número de alterações encontradas no tecido e, mais uma vez demonstra que a espécie está sob impactos. O volume de dados para a espécie *U. cordatus* validado em campo, pode ser usado para subsidiar a criação de um repositório para a melhor compreensão e monitoramento de impactos na região da Baía de São Marcos (Maranhão).

5.5 Bio-ontologia de biomarcadores em *Ucides cordatus* para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão

A bio-ontologia de biomarcadores em *U. cordatus* para monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão apresenta-se em um padrão hierárquico de organização, na qual as informações de um dado domínio são dispostas e configuradas de acordo com os elementos básicos que constituem uma ontologia: as classes (subclasses,

superclasses), as relações, instâncias e axiomas (CARVALHO NETA, 2018). As classes representam os conceitos e são organizadas em forma taxonômica; as relações representam as associações e as interações entre os conceitos do domínio; as instâncias representam os exemplos do conceitos, os dados; e os axiomas são utilizados para entradas de afirmativas verdadeiras, moldando restrições e regras para as instâncias (GRUBER, 1993; NOY; MCGUINNESS, 2001; KIRYAKOV, 2006).

Como supracitado, as ontologias, através da a organização de dados, podem enriquecer e dar suporte ao monitoramento ambiental. Wang et al. (2020) em seu trabalho, construiu uma ontologia de monitoramento da qualidade da água, no qual utilizaram sensores e observações semânticas para monitorar e identificar poluentes em sistemas de água doce. A ontologia deste trabalho conecta dados obtidos de sensores, facilitando a interpretação dos dados. Apesar de trazer resultados em tempo real pela utilização dos sensores, a abordagem de Wang et al. (2020), assim como a desta tese, utiliza a ontologia para melhorar a organização e análise de dados ambientais, mas apresentam um foco e especificidade diferentes.

Já no trabalho de Batzias e Siontorou (2007), os autores construíram uma bio-ontologia bioindicadora no qual foi criado um sistema de conhecimento que liga a exposição a poluentes ambientais às respostas dos organismos bioindicadores, como líquens e musgos. A ontologia aborda diferentes aspectos da interação entre poluentes e organismos e possui o objetivo de facilitar a monitoramento ambiental e a avaliação da qualidade do ecossistema. Fazendo um comparativo com a nossa bio-ontologia de biomarcadores em *U. cordatus*, ambas ontologias são estruturadas de maneira hierárquica, abordando diferentes características do impacto ambiental nos organismos (bioindicadores e biomonitores). Enquanto a ontologia de Batzias et al. (2007) aponta os efeitos bioquímicos de poluentes em líquens e musgos, a bio-ontologia do *U. cordatus* concentra-se em biomarcadores específicos, como enzimas de estresse oxidativo e biotransformação de fase II (GST) em *U. cordatus*, para avaliar o impacto de metais e outros contaminantes.

Nesse contexto de abordagens integradas, as ontologias são ferramentas propícias para a gestão do conhecimento adquirido sobre o monitoramento ambiental, ajudando na recuperação de informações e facilitando o entendimento dos impactos ambientais. Assim, é considerada uma abordagem inovadora que melhoram a coleta, organização de dados, sendo importante para melhoria de políticas públicas e proteção ambiental, proporcionando ações mais eficazes.

5.6 Crab Monitor

A criação e desenvolvimento de software voltado para monitoramento ambiental utilizando os dados já mencionados, proporciona um cenário de soluções tecnológicas para facilitar o gerenciamento e a análise de dados de forma mais eficiente e acessível.

Na Era da informação, o surgimento contínuo de novos softwares ocorre para atender uma infinidade de necessidades e para resolução de problemas de usuários, seja para uso individual ou coletivo (FERNANDES, 2003; MUSTAJOKI; MARTTUNEN, 2017). Por exemplo, um software em um ambiente empresarial, pode melhorar a produtividade, aperfeiçoar a gestão financeira, atender o cliente com mais eficiência e consequentemente, obter resultados satisfatórios para a corporação (FERNANDES, 2003).

O processo de desenvolvimento de software compreende várias etapas que vão desde o planejamento e criação até os testes e manutenção do produto, que ao final é entregue aos clientes como uma solução criativa, tecnológica e funcional. Com o advento da Internet das Coisas e a Inteligência Artificial, a criação de softwares voltadas para monitoramento ambiental tornaram-se meios mais promissores para avaliar o ambiente (BAINOMUGISHA et al., 2024).

Com base nas informações disponibilizadas nesta tese, temos algumas sugestões que ajudarão a consolidar o uso da bio-ontologia e do Crab Monitor:

- Ampliar o monitoramento para outras regiões portuárias;
- Cadastrar outras espécies biomonitoras;
- Integrar outros tipos de análise de biomarcadores;
- Adicionar modelos matemáticos de predição de impacto.

Quanto às perspectivas, esperamos que: 1) a bio-ontologia desenvolvida seja consolidada e reutilizada por outros pesquisadores; 2) o monitoramento seja continuado, adicionando mais dados de bioacumulação e de contaminantes; 3) o Crab Monitor se torne um software comercial na área de biomonitoramento, permitindo múltiplas aplicações para diferentes tipos de usuários, dentro do contexto ambiental e científico; 4) haja participação da sociedade, através de campanhas de educação ambiental e divulgação do aplicativo para incentivar população para registrar dados ambientais; e 5) os dados de biomarcadores sirvam para subsidiar ações regulatórias e políticas públicas.

Assim, o trabalho contribui para o campo do monitoramento ambiental, oferecendo ferramentas tecnológicas inovadoras e um sistema de bio-ontologia que facilita a gestão ambiental e a mitigação de impactos em áreas estuarinas. Esperamos que os dados desta

pesquisa ajudem gestores de órgãos ambientais para que possam desenvolver políticas que visem prevenir a degradação ambiental nesta região.

6 CONCLUSÕES

Nesta pesquisa, a partir dos resultados obtidos, conclui-se que:

- As enzimas de estresse oxidativo (CAT) e biotransformação (GST) foram quantificadas em *U. cordatus* da região portuária, confirmando respostas biológicas alteradas devido à presença de contaminantes, como os metais;
- A integridade das brânquias e do hepatopâncreas em *U. cordatus* analisados na região está comprometida, pois foi encontrado um grande número de alterações nos tecidos desses órgãos, com valores percentuais elevados;
- O uso de brânquias, hepatopâncreas e músculo de *U. cordatus* foi eficiente para mostrar resultados, portanto devem ser utilizados em estudos futuros. Sugerimos que outros órgãos sejam utilizados, como as gônadas, para avaliar efeito dos impactos no processo de desenvolvimento gonadal e reprodução desse animal;
- O hepatopâncreas mostrou-se o melhor órgão para evidenciar o histórico de contaminação da área estudada e as brânquias demonstraram resposta aguda, quando comparadas com outros estudos;
- A correlação de dados de biológicos e ambientais comprovou que há impacto ambiental na região portuária. Porém, os dados apontam que o impacto também ocorre na região pesqueira;
- A pesquisa confirma *U. cordatus* como uma excelente espécie de biomonitoramento e fornece dados de metais e biomarcadores em níveis moleculares e teciduais para apoiar pesquisas futuras e melhorias no monitoramento ambiental;
- A bio-ontologia modelada para organizar informações sobre monitoramento de impactos ambientais em regiões portuárias do Maranhão, com base em biomarcadores da espécie *U. cordatus* representa um avanço no campo da bioinformática aplicada à biologia ambiental, oferecendo um sistema acessível e eficiente para o monitoramento contínuo dos impactos em regiões portuárias;
- O aplicativo Crab Monitor foi desenvolvido, disponibilizando de maneira acessível os dados de monitoramento para gestores ambientais, auxiliando no monitoramento contínuo e preditivo, sendo considerada uma boa estratégia tecnológica para a análise de qualidade ambiental em ecossistemas costeiros;

- Este trabalho contribui com os ODS 14 e 15, porém muito ainda deve ser feito para a conservação e uso sustentável dos oceanos, mares, recursos marinhos e ecossistemas terrestres.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADELEKE, B.; ROBERTSON-ANDERSSON, D.; MOODLEY, G. Osmotic response of *Dotilla fenestrata* (sand bubbler crab) exposed to combined water acidity and varying metal (Cd and Pb). *Heliyon*, v. 7, n. 4, p. e06763, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844021008665>>. Acesso em: 21 jun. 2022.
- AGENCIA NACIONAL DE TRANSPORTES AQUAVIÁRIOS - ANTAQ. Agendas Ambientais. Disponível em: <<https://www.gov.br/antag/pt-br/assuntos/meio-ambiente/agendas-ambientais-1>>. Acesso em: 3 maio. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE TRANSPORTES AQUAVIÁRIOS – ANTAQ. Boletim Informativo Aquaviário - 2020 - 3º Trimestre. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://sophia.antag.gov.br/Terminal/acervo/detalhe/28197?guid=1655337542196&returnUrl=%2FTerminal%2Fresultado%2Flistar%3Fguid%3D1655337542196%26quantidadePaginas%3D1%26codigoRegistro%3D28197%2328197&i=5>>. Acesso em: 15 jun. 2022.
- AGENCIA NACIONAL DE TRANSPORTES AQUAVIÁRIOS - ANTAQ. Painel Estatístico Aquaviário 2.1.4. Disponível em: <<http://ea.antag.gov.br/QvAJAXZfc/opensoc.htm?document=painel%5Cantag-anuario-2014-v0.9.3.qvw&lang=pt-BR&host=QVS%40graneleiro&anonymous=true>>. Acesso em: 21 jun. 2022.
- AHMED, M. Synthesis and Structural Analysis of Copper (II) Glutathione Complexes via Cu-S Linkage. *World Applied Sciences Journal*, v. 29, n. 11, p. 1357–1362, 2014.
- ALMEIDA, M. B. Uma abordagem integrada sobre ontologias: Ciência da Informação, Ciência da Computação e Filosofia. *Perspectivas em Ciência da Informação*, v. 19, n. 3, p. 242–258, set. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-99362014000300013&lng=pt&tlng=pt>.
- AMARAL, R.; ALFREDIN, P. Modelação Hidrossedimentológica no Canal de Acesso do Complexo Portuário do Maranhão. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 15, n. 2, p. 5–14, 2010. Disponível em: <<http://www.abrh.org.br/SGCv3/index.php?PUB=1&ID=7&SUMARIO=93>>.
- AMEUR, W. Ben et al. 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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.050>>.
- ARAÚJO, R. P. A. et al. Application of toxicity identification evaluation to sediment in a highly contaminated water reservoir in southeastern Brazil. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 25, n. 2, p. 581–588, fev. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16519322/>>. Acesso em: 13 nov. 2022.
- AROCKIA VASANTHI, L. et al. The application of histo-cytopathological biomarkers in the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) to assess heavy metal toxicity in Pulicat Lake, Chennai. *Marine Pollution Bulletin*, v. 81, n. 1, p. 85–93, abr. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.02.016>>.
- ARTIOLA, J. F.; BRUSSEAU, M. L. The Role of Environmental Monitoring in Pollution Science. In: BRUSSEAU, M. L.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. (Ed.). *Environmental and Pollution Science*. 3. ed. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 149–162.

ASHBURNER, M. et al. Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics* 2000 25:1, v. 25, n. 1, p. 25–29, maio 2000. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ng0500_25>. Acesso em: 14 set. 2024.

ASKER, N. et al. A gene to organism approach-assessing the impact of environmental pollution in eelpout (*Zoarces viviparus*) females and larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 34, n. 7, p. 1511–1523, 2015.

AWASTHI, Y. C. et al. Detoxification of xenobiotics by glutathione S-transferases in erythrocytes: the transport of the conjugate of glutathione and 1-chloro-2,4-dinitrobenzene. *British Journal of Haematology*, v. 55, n. 3, p. 419–425, 1 nov. 1983. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2141.1983.tb02156.x>>. Acesso em: 4 nov. 2022.

AZEVEDO-LINHARES, M.; FREIRE, C. A. Evaluation of impacted Brazilian estuaries using the native oyster *Crassostrea rhizophorae*: Branchial carbonic anhydrase as a biomarker. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 122, p. 483–489, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.027>>.

BAINOMUGISHA, E. et al. AI-driven environmental sensor networks and digital platforms for urban air pollution monitoring and modelling. *Societal Impacts*, v. 3, p. 100044, 1 jun. 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2949697724000092>>. Acesso em: 5 set. 2024.

BARBARIN, M. et al. First quantitative biomonitoring study of two ports (marina, commerce) in French littoral area: Evaluation of metals released into the marine environment and resulting from galvanic anodes. *Science of The Total Environment*, v. 857, p. 159244, 20 jan. 2023.

BARD, J. B. L.; RHEE, S. Y. Ontologies in biology: design, applications and future challenges. *Nature Reviews Genetics* 2004 5:3, v. 5, n. 3, p. 213–222, mar. 2004. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrg1295>>. Acesso em: 3 maio. 2023.

BATISTA DE JESUS, W. et al. Biological responses in gills and hepatopancreas of *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) as indicative of environmental contamination in mangrove areas in Maranhão State, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 48, n. 2, p. 226–236, 6 maio 2020. Disponível em: <<http://lajar.ucv.cl/index.php/rlajar/article/view/vol48-issue2-fulltext-2374>>. Acesso em: 19 maio. 2023.

BATZIAS, F.; SIONTOROU, C. G. A novel system for environmental monitoring through a cooperative/synergistic scheme between bioindicators and biosensors. *Journal of Environmental Management*, v. 82, n. 2, p. 221–239, 1 jan. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479706000442>>. Acesso em: 16 set. 2024.

BECARIA, A.; CAMPBELL, A.; BONDY, S. Aluminum as a toxicant. *Toxicology and industrial health*, v. 18, n. 7, p. 309–320, 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15068131/>>. Acesso em: 4 nov. 2022.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, v. 22, n. 1, p. 25–34, 1999.

BINI, C.; WAHSHA, M. Potentially Harmful Elements and Human Health. In: BIN, C.; BECH, J. (Ed.). PHEs, Environment and Human Health. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. p. 401–463.

BONANNO, G.; PAVONE, P. Leaves of *Phragmites australis* as potential atmospheric biomonitors of Platinum Group Elements. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 114, p. 31–37, 1 abr. 2015.

BREITWIESER, M. et al. First data on three bivalve species exposed to an intra-harbour polymetallic contamination (La Rochelle, France). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 199, p. 28–37, set. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.02.006>>.

BRESEGHELO, L. et al. Efeitos do fluoreto de sódio no epitélio da brânquia do peixe Guarú (*Poecilia vivipara*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, n. 4, p. 274–280, ago. 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjvras/a/58JGJvwqSDS7jzD6DW6WdBC/?lang=pt>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, n. 2, p. 465–473, abr. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2003000200013&lng=pt&tlng=pt>.

CAJARAVILLE, M. P. et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: A practical approach. *Science of the Total Environment*, v. 247, n. 2–3, p. 295–311, 2000.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 21, n. 1, p. 61–69, jan. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1382668905001419>>.

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.; 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. *Lat. Am. J. Aquat.*, v. 41, n. 2, p. 217–225, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.cl/pdf/lajar/v41n2/art02.pdf>>.

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 and Biotechnology*, v. 166, n. 5, p. 1314–1327, 7 mar. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12010-011-9519-1>>.

CARVALHO NETA, R. N. F. et al. A Simple Mathematical Model Based on Biomarkers in Stress-Resistant Catfish Species, *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae), in São Marcos Bay, Brazil. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 174, n. 7, p. 2380–2391, 20 nov. 2014a. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-014-1087-8>>. Acesso em: 19 maio. 2023.

CARVALHO NETA, R. N. F. et al. A histopathological and biometric comparison between catfish (Pisces, Ariidae) from a harbor and a protected area, Brazil. *Aquatic Biosystems*, v. 10, n. 1, p. 12, 14 dez. 2014b. Disponível em: <<http://aquaticbiosystems.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12999-014-0012-5>>.

CARVALHO NETA, R. N. F. et al. In situ assessment of two catfish species (pisces, Ariidae) to evaluate pollution in a harbor. In: Anais...2016. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4968699>>.

CARVALHO NETA, R. N. F. BIOMARCADORES E INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL PARA MONITORAMENTO DE IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES PORTUÁRIAS. [s.l.] Editora CRV, 2018.

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* 2019 26:16, v. 26, n. 16, p. 15884–15893, 7 abr. 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-04849-0>>. Acesso em: 7 jun. 2022.

CASTREC, J. et al. Active and passive biomonitoring of trace elements, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls in small Mediterranean harbours. *Marine Pollution Bulletin*, v. 187, p. 114578, 1 fev. 2023.

CASTRO, J. S. et al. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 70, n. 2, p. 410–418, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/WkHSntvJ8Th8TsDWrzpkS8q/?lang=pt>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

CHANDURVELAN, R. et al. Waterborne cadmium impacts immunocytotoxic and cytogenotoxic endpoints in green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Aquatic Toxicology*, v. 142–143, p. 283–293, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.002>>.

CHAUI, M. Convite à Filosofia. 7. ed. São Paulo: Editora Ática, 2000.

CHEMICAL ENTITIES OF BIOLOGICAL INTEREST (ChEBI). About ChEBI. Disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/aboutChebiForward.do>>. Acesso em: 16 set. 2024.

CHEN, G.; WHITE, P. A. The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 567, n. 2–3, p. 151–225, nov. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383574204000626>>.

CHOPRA, S.; MEINDL, P. Gerenciamento da cadeia de suprimentos: estratégia, planejamento e operação. 4. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2011.

CONTRERAS-VERGARA, C. A. et al. A mu-class glutathioneS-transferase from the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular cloning and active-site structural modeling. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, v. 18, n. 5, p. 245–252, nov. 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jbt.20033>>.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/qn/a/X6sRQb5cdDnHxgPJvZR33PN/?format=html&lang=pt>>. Acesso em: 6 set. 2022.

D.B.P.SOUSA; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 65, n. 2, p. 369–376, abr. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-

09352013000200011&lng=pt&tlng=pt>.

DA SILVA CASTRO, J. et al. Histological Changes in the Kidney of *Sciades Herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) for Environmental Monitoring of a Neotropical Estuarine Area (São Marcos Bay, Northeastern Brazil). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 103, n. 2, p. 246–254, 15 ago. 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-019-02633-x>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

DAILIANIS, S. Environmental impact of anthropogenic activities: the use of mussels as a reliable tool for monitoring marine pollution. In: MCGEVIN, L. E. (Ed.). *Mussels: Anatomy, Habitat and Environmental Impact*. [s.l.] Nova Science Publishers, 2010. p. 1–30.

DARBRA, R. M. et al. Survey on environmental monitoring requirements of European ports. *Journal of Environmental Management*, v. 90, n. 3, p. 1396–1403, 1 mar. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479708002430>>. Acesso em: 3 maio. 2023.

DE JESUS, W. B. et al. Biomarkers and occurrences of heavy metals in sediment and the bioaccumulation of metals in crabs (*Ucides cordatus*) in impacted mangroves on the Amazon coast, Brazil. *Chemosphere*, v. 271, p. 129444, 1 maio 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653520336420>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

DE LIMA, C. D. M.; DA SILVA, H. R. C.; BERNARD, E. EFETIVIDADE DO DEFESO DO CARANGUEJO-UÇÁ (*Ucides cordatus* L.): ANÁLISE DE PERCEPÇÃO DE CONSUMIDORES E VENDEDORES. *Ambiente & Sociedade*, v. 21, p. 463, 8 out. 2018. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/asoc/a/gLNwMLkHRq66MHxBLCSFGdD/?lang=pt>>. Acesso em: 22 ago. 2022.

DE OLIVEIRA, S. R. S. et al. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 102, n. 6, p. 802–810, 1 jun. 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-019-02594-1>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

DELUNARDO, F. A. C. et al. Genotoxic and morphological damage in *Hippocampus reidi* exposed to crude oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 87, p. 1–9, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.029>>.

DÍAZ-JARAMILLO, M. et al. Biochemical responses and physiological status in the crab *Hemigrapsus crenulatus* (Crustacea, Varunidae) from high anthropogenically-impacted estuary (Lenga, south-central Chile). *Marine Environmental Research*, v. 83, p. 73–81, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.10.012>>.

ELSER, J. J. Phosphorus: a limiting nutrient for humanity? *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, n. 6, p. 833–838, 1 dez. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958166912000481>>. Acesso em: 20 out. 2023.

ELUMALAI, M.; ANTUNES, C.; GUILHERMINO, L. Effects of Single Metals and their Mixtures on Selected Enzymes of *Carcinus maenas*. *Water, Air, and Soil Pollution* 2002 141:1, v. 141, n. 1, p. 273–280, nov. 2002. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1021352212089>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

EMMENEGGER, R. et al. Ontology and integrative research on Global Environmental Change: towards a critical GEC science. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 29, p. 131–137, 1 dez. 2017.

FALCÃO, V. A.; CORREIA, A. R. Eficiência portuária: análise das principais metodologias para o caso dos portos brasileiros. *Journal of Transport Literature*, v. 6, n. 4, p. 133–146, 2012. Disponível em: <www.transport-literature.org>. Acesso em: 18 maio. 2023.

FEITOSA, A. C. O Maranhão primitivo: uma tentativa de reconstrução. São Luís: Editora Augusta, 1983.

FERNANDES, J. H. C. Qual a prática do desenvolvimento de software? *Ciências e Cultura*, v. 55, n. 2, 2003. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252003000200021&script=sci_arttext>. Acesso em: 5 set. 2024.

FILLMANN, G. et al. Urinary PAH Metabolites as Biomarkers of Exposure in Aquatic Environments. *Environmental Science and Technology*, v. 38, n. 9, p. 2649–2656, 2004.

FREIRE, M. M. et al. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. *Oecologia Brasiliensis*, v. 12, n. 03, p. 347–354, out. 2008. Disponível em: <<http://www.oecologiaaustralis.org/ojs/index.php/oa/article/view/111/37>>.

FRÍAS-ESPERICUETA, M. G. et al. Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. *Aquatic Toxicology*, v. 242, p. 106024, 1 jan. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X21002848>>. Acesso em: 27 abr. 2023.

GANZ, T. Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 133, p. 69–74, 1 mar. 2019.

GARCÍA-RUEDA, A. et al. The thermal tolerance of a tropical population of blue crab (*Callinectes sapidus*) modulates aerobic metabolism during hypoxia. *Journal of Thermal Biology*, v. 102, p. 103078, 1 dez. 2021.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. *Química Nova*, v. 26, n. 5, p. 708–716, 2003.

GRUBER, T. R. A translation approach to portable ontology specifications. *Knowledge Acquisition*, v. 5, n. 2, p. 199–220, 1 jun. 1993.

GUARINO, N. Formal Ontology in Information Systems. In: *Proceedings of FOIS'98, Amsterdam*. Anais... Amsterdam: IOS Press, 1998. Disponível em: <<http://www.csc.liv.ac.uk/~pepijn/legont.html>>. Acesso em: 2 maio. 2023.

HE, X. et al. Assessment of typical pollutants in waterborne by combining active biomonitoring and integrated biomarkers response. *Chemosphere*, v. 84, n. 10, p. 1422–1431, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.054>>.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Normais Climatológicas do Brasil (1991-2020). Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/normais>>. Acesso em: 21 jun. 2022.

ISHIKAWA, M. M. et al. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. Embrapa Meio Ambiente, , 2020 . (Nota técnica).

ISIBOR, P. O. et al. Principal Components and Hierarchical Cluster Analyses of Trace Metals and Total Hydrocarbons in Gills, Intestines and Muscles of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 5180, 20 mar. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-62024-9>>. Acesso em: 19 out. 2023.

JENA, K. B.; VERLECAR, X. N.; CHAINY, G. B. N. Application of oxidative stress indices

in natural populations of *Perna viridis* as biomarker of environmental pollution. *Marine Pollution Bulletin*, v. 58, n. 1, p. 107–113, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.018>>.

JEROME, F. C. et al. Metal uptake, oxidative stress and histopathological alterations in gills and hepatopancreas of *Callinectes amnicola* exposed to industrial effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 139, n. November 2016, p. 179–193, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.032>>.

JESUS, W. B. et al. Biomarcadores enzimáticos e histológicos em brânquias de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucidae) 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, 14 ago. 2020. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/abmvz/a/v5VQkXyN5MtnLKDLv3q3BDt/?lang=pt>>. Acesso em: 9 set. 2022.

KAPPEL, R. F. Portos brasileiros novo desafio para a sociedade. CGEE, III Conferência Nacional de C,T&I, p. 1–12, 2005.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for several activities of the glutathione-S-transferase. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 251, n. 20, p. 6183–6188, 1976.

KIRYAKOV, A. Ontologies for Knowledge Management. In: *Semantic Web Technologies: Trends and Research in Ontology-based Systems*. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2006. p. 115–138.

KUMAR, N. et al. Synergistic effect of zinc nanoparticles and temperature on acute toxicity with response to biochemical markers and histopathological attributes in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 229, p. 108678, 1 mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045619303941>>. Acesso em: 20 out. 2023.

KUMAR, N. et al. Health risk assessment and metal contamination in fish, water and soil sediments in the East Kolkata Wetlands, India, Ramsar site. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 1546, 27 jan. 2023. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-023-28801-y>>. Acesso em: 19 out. 2023.

LACROIX, C. et al. Active and passive biomonitoring suggest metabolic adaptation in blue mussels (*Mytilus* spp.) chronically exposed to a moderate contamination in Brest harbor (France). *Aquatic Toxicology*, v. 162, p. 126–137, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.03.008>>.

LARSEN, K. R. et al. Behavior change interventions: the potential of ontologies for advancing science and practice. *Journal of behavioral medicine*, v. 40, n. 1, p. 6–22, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27481101/>>. Acesso em: 16 set. 2024.

LATIF, F. et al. Studies on bioaccumulation patterns, biochemical and genotoxic effects of copper on freshwater fish, *Catla catla*: an in vivo analysis. *Brazilian Journal of Biology*, v. 84, p. e256905, 2 fev. 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjb/a/R4Qz5TkrqVwwQP9VVNdCpZw/?lang=en>>. Acesso em: 26 dez. 2024.

LAVRADAS, R. T. et al. Differential metallothionein, reduced glutathione and metal levels in *Perna perna* mussels in two environmentally impacted tropical bays in southeastern Brazil.

Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 129, p. 75–84, jul. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.011>>.

LEGAT, J. F. A.; LEGAT, A. P. Metodologia Para O Transporte De Caranguejo Vivo Com Baixos Índices De Desperdícios. Boletim Técnico-Científico do Cepene, v. 17, n. 1, p. 115–121, 2009.

LIVINGSTON, K. M. et al. KaBOB: ontology-based semantic integration of biomedical databases. BMC Bioinformatics, v. 16, n. 1, 23 abr. 2015. Disponível em: <pmc/articles/PMC4448321/>. Acesso em: 16 set. 2024.

LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated Reactive Oxygen Species Production and Oxidative Damage in Aquatic Organisms. Marine Pollution Bulletin, v. 42, n. 8, p. 656–666, 1 ago. 2001.

LOURENÇO, V. A.; ASMUS, L. M. Gestão Ambiental Portuária: fragilidades, desafios e potencialidades no porto do Rio Grande, RS, Brasil *. Revista de Gestão Costeira Integrada / Journal of Integrated Coastal Zone Management, v. 15, n. 2, p. 223–235, 2015. Disponível em: <http://www.aprh.pt/rgci/pdf/rgci-498_Lourenço.pdf%7C>. Acesso em: 3 maio. 2023.

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3. ed. ed. New York: McGraw-Hill, 1968.

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. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090989615000466>>.

MAN, D. ONTOLOGIES IN COMPUTER SCIENCE. Didactica Mathematica, v. 31, n. 1, p. 43–46, 2013.

MARKERT, B. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, v. 21, n. SUPPL. 1, p. 77–82, 11 dez. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0946672X07001113>>. Acesso em: 6 maio. 2023.

MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: Trace Metals and other Contaminants in the Environment. [s.l.] Elsevier, 2003. 6p. 3–39.

MARTÍNEZ-ROMERO, M. et al. NCBO Ontology Recommender 2.0: an enhanced approach for biomedical ontology recommendation. Journal of Biomedical Semantics, v. 8, n. 1, 7 jun. 2017. Disponível em: <pmc/articles/PMC5463318/>. Acesso em: 16 set. 2024.

MCRAE, N. K.; GAW, S.; GLOVER, C. N. Mechanisms of zinc toxicity in the galaxiid fish, Galaxias maculatus. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 179, p. 184–190, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045615001416>>. Acesso em: 20 out. 2023.

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

MORAIS, E. A. M.; AMBRÓSIO, A. P. L. Ontologias: conceitos, usos, tipos, metodologias, ferramentas e linguagens. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.inf.ufg.br>. Acesso em: 15 set. 2024.

MUSEN, M. A. The protégé project: A Look Back and a Look Forward. *AI Matters*, v. 1, n. 4, p. 4–12, 16 jun. 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4883684/>. Acesso em: 19 maio. 2023.

MUSTAJOKI, J.; MARTTUNEN, M. Comparison of multi-criteria decision analytical software for supporting environmental planning processes. *Environmental Modelling & Software*, v. 93, p. 78–91, 1 jul. 2017.

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. November 2016, p. 116–122, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.030>.

NG, J. S. S. et al. *Harpiosquilla harpax* (Crustacea, Stomatopoda) as a biomonitor of trace metal contamination in benthic sediments in Hong Kong waters. *Marine Pollution Bulletin*, v. 54, n. 9, p. 1523–1529, 2007.

NOY, N. F.; MCGUINNESS, D. L. *Ontology Development 101: A Guide to Creating Your First Ontology*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.unspsc.org>. Acesso em: 19 maio. 2023.

NUDI, A. H. et al. Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. *Environment International*, v. 33, n. 3, p. 315–327, 2007.

OLIVEIRA, S. R. S. de et al. Diferenças biométricas entre populações de *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda) em diferentes anos e provenientes de dois locais de interesse econômico do estado do Maranhão. In: PINHEIRO SOUSA, D. B.; CASTRO, J. DA S.; JESUS, W. B. DE (Ed.). *Monitoramento Ambiental: Metodologias E Estudos De Caso*. [s.l.] i-EDUCAM, 2022. p. 107–114.

PATTERSON, D. G. et al. Biomonitoring for POPs. In: O’SULLIVAN, G.; SANDAU, C. (Ed.). *Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants*. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 163–197.

PEREIRA, C. D. S. et al. Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 5, p. 1257–1264, 2011.

PEREIRA NAVARRO LINS, J. A. et al. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, v. 8, n. 4, p. 469, 15 out. 2010. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/cienciaanimal/article/view/11018>. Acesso em: 18 maio. 2023.

PINHEIRO-SOUSA, D. B. et al. Sediment contaminant levels and multibiomarker approach to assess the health of catfish *Sciades herzbergii* in a harbor from the northern Brazilian Amazon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 208, p. 111540, 15 jan. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651320313774>. Acesso em: 25 abr. 2022.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ALMEIDA, Z. da S. de; 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.

PINHEIRO, J. M. Dinâmica climática da ilha do maranhão. In: FARIAS FILHO, M. S.; CELERI, M. J. (Ed.). Geografia da Ilha do Maranhão. 1. ed. São Luís: EDUFMA, 2015. p. 29–37.

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, 1 jul. 2012.

PINHEIRO, M. A. A. et al. Avaliação dos caranguejos Gecarcinídeos (Decapoda: Gecarcinidae). In: PINHEIRO, M.; BOOS, H. (Ed.). Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016. p. 167–181.

PINHEIRO, M. A. A.; FISCARELLI, A. G. Manual de Apoio á Fiscalização - Caranguejo-Uçá. [s.l.: s.n.]

POLI, R.; HEALY, M.; KAMEAS, A. Theory and applications of ontology: Computer applications. [s.l.] Springer Netherlands, 2010.

POPESCU, S. M. et al. Artificial intelligence and IoT driven technologies for environmental pollution monitoring and management. *Frontiers in Environmental Science*, v. 12, p. 1336088, 20 fev. 2024.

PORTO DO ITAQUI. Porto do Itaquí se prepara para 2020. Disponível em: <<https://www.portodoitaqui.com/imprensa/noticia/porto-do-itaqui-se-prepara-para-2020>>. Acesso em: 15 jun. 2022.

PRO CONSORTIUM. Protein Ontology. Disponível em: <<https://proconsortium.org/>>. Acesso em: 16 set. 2024.

RAINBOW, P. S. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 31, n. 4–12, p. 183–192, 1 abr. 1995.

RAINBOW, P. S. Heavy Metal Levels in Marine Invertebrates. In: FURNESS, R. W.; RAINBOW, P. S. (Ed.). Heavy Metals in the Marine Environment. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2018. p. 67–79.

RAJKUMAR, K. S. et al. Bio-functionalized zinc oxide nanoparticles: Potential toxicity impact on freshwater fish *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, v. 290, p. 133220, 1 mar. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653521036948>>. Acesso em: 20 out. 2023.

RAUTA, R. L. P.; FERNANDES, A. M. R. Ferramenta computacional de apoio ao ensino/aprendizado de Farmacologia. In: XIX Congresso Internacional de Informática Educativa (TISE), Anais...2014.

REBELO, M. de F. et al. 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, n. 2, p. 157–164, fev. 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0742841399000936>>.

RIBEIRO, E. B. et al. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. *Marine*

Pollution Bulletin, v. 158, p. 111348, 1 set. 2020.

RIBEIRO, I.; CASTRO, A. C. L. de. PESCADORES ARTESANAIS E A EXPANSÃO PORTUÁRIA NA PRAIA DO BOQUEIRÃO, ILHA DE SÃO LUÍS-MA. *Revista de Políticas Públicas*, v. 20, n. 2, p. 863, 15 fev. 2017. Disponível em: <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/rppublica/article/view/6366>>. Acesso em: 7 jun. 2022.

RICCIARDI, F. et al. Biomarker responses and contamination levels in crabs (*Carcinus aestuarii*) from the Lagoon of Venice: An integrated approach in biomonitoring estuarine environments. *Water Research*, v. 44, n. 6, p. 1725–1736, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.11.042>>.

ROCHA, C. H. da S.; LIMA, T. B. Diferenças biométricas de *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (Crustacea; Brachyura; Ocypodidae) como indicativo de estresse ambiental. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v. 11, n. 2, p. 228–235, 27 fev. 2020. Disponível em: <<https://www.sustenere.co/index.php/rica/article/view/CBPC2179-6858.2020.002.0024>>. Acesso em: 9 set. 2022.

RODRÍGUEZ-BARQUÍN, A. B.; MOREIRO-GONZÁLEZ, J. A.; PINTO, A. L. Construção de uma ontologia para sistemas de informação empresarial para a área de Telecomunicações. *DataGramaZero - Revista de Ciência da Informação*, v. 7, n. 2, 2006. Disponível em: <http://www.dgz.org.br/abr06/Art_04.htm>. Acesso em: 2 maio. 2023.

SARDI, A. E. et al. Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, v. 113, n. 1–2, p. 496–508, dez. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.014>>.

SCHLENK, D. Necessity of Defining Biomarkers for Use in Ecological Risk Assessments. *Marine Pollution Bulletin*, v. 39, n. 1–12, p. 48–53, 1 jan. 1999.

SILVA, A. C.; FRANÇA, N. S.; MOREIRA, E. G. Teor metálico em um manguezal sob influência portuária, São Luís, MA. In: ALMEIDA, Z. S.; OLIVEIRA, V. M. (Ed.). *Avaliação Ambiental no Complexo Portuário do Itaqui*. São Luís: EDUEMA, 2016. p. 167–195.

SILVA, O. R. da; GOMES, M. de B. M. Impactos das atividades portuárias no sistema estuarino de Santos. *Revista Metropolitana de Sustentabilidade*, v. 2, n. 2, p. 18, 2012. Disponível em: <<http://isindexing.com/isi/papers/1416825983.pdf>>.

SILVA, M. H. L. et al. Determination of metals in estuarine fishes in a metropolitan region of the coastal zone of the Brazilian Amazon. *Marine Pollution Bulletin*, v. 186, p. 114477, 1 jan. 2023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36565580>>. Acesso em: 19 maio. 2023.

SMITH, B. et al. The OBO Foundry: coordinated evolution of ontologies to support biomedical data integration. *Nature biotechnology*, v. 25, n. 11, p. 1251, nov. 2007. Disponível em: <<http://pmc/articles/PMC2814061/>>. Acesso em: 15 set. 2024.

SOARES, S. H. C. et al. Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) para avaliação de impactos em ambientes estuarinos da Baía de São Marcos, Maranhão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 72, n. 4, p. 1403–1412, 14 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/F9WQgwt69Mf8Trq7X9bdqcr/?lang=pt>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

SOUZA, S. L. de; GRANATO, P. R. Histórico do sistema portuário brasileiro: um breve estudo

sobre os entraves ao comércio. Revista Perspectiva em Educação, Gestão & Tecnologia, v. 6, n. 11, 2017. Disponível em: <https://sif.fatecitapetininga.edu.br/perspectiva/pdf/11/artigo11_1.pdf>. Acesso em: 18 maio. 2023.

STANFORD UNIVERSITY. Protégé. Disponível em: <<https://protege.stanford.edu/>>. Acesso em: 19 maio. 2023.

SUMMER, K.; REICHEL-T-BRUSHETT, A.; HOWE, P. Toxicity of manganese to various life stages of selected marine cnidarian species. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 167, p. 83–94, 15 jan. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651318309904>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

TAGLIARI, K. C. et al. Mutagenicity of sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under the influence of tanneries. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 561, n. 1–2, p. 101–117, 2004.

TAQUES, R. M. Uma avaliação sobre diferentes padrões de modelagens para índices e indicadores de poluição do ar em ontologias. 2018. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018.

TERRA, M. G. et al. Modelagem de uma ontologia para construção de algoritmos. Revista do CCEI, v. 21, n. 36, p. 32–47, 2017.

THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM et al. The Gene Ontology knowledgebase in 2023. GENETICS, v. 224, n. 1, 4 maio 2023. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/genetics/iyad031>>. Acesso em: 14 set. 2024.

THE GLOBAL GOALS. *Overcoming the World's Challenges* - The Global Goals. Disponível em: <<https://www.globalgoals.org/>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

TOUAHRI, H. G. et al. Active biomonitoring of mussels *Mytilus galloprovincialis* with integrated use of micronucleus assay and physiological indices to assess harbor pollution. Marine Pollution Bulletin, v. 110, n. 1, p. 52–64, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.029>>.

VÁLEGA, M. et al. Mercury in salt marshes ecosystems: *Halimione portulacoides* as biomonitor. Chemosphere, v. 73, n. 8, p. 1224–1229, 1 nov. 2008.

VENTURA, E. C. et al. Biochemical indicators of contaminant exposure in spotted pigfish (*Orthopristis ruber*) caught at three bays of Rio de Janeiro coast. Marine Environmental Research, v. 54, n. 3–5, p. 775–779, 2002.

VIANA, T. M. A. et al. Biomarcadores histológicos em brânquias e fígados de *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) em uma área portuária e em uma de proteção ambiental – MA, Brasil / Histological biomarkers in *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) gills and livers in a port area and an environmental protection area - MA, Brazil. Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 4, p. 41047–41065, 20 abr. 2021. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/28618>>. Acesso em: 7 jun. 2022.

WANG, H. et al. A proteomics of gills approach to understanding salinity adaptation of *Scylla paramamosain*. Gene, v. 677, p. 119–131, 30 nov. 2018.

WANG, X. et al. An Observational Process Ontology-Based Modeling Approach for Water Quality Monitoring. Water 2020, Vol. 12, Page 715, v. 12, n. 3, p. 715, 5 mar. 2020. Disponível

em: <<https://www.mdpi.com/2073-4441/12/3/715/htm>>. Acesso em: 16 set. 2024.

WANG, X. et al. Effects of acute salinity stress on osmoregulation, antioxidant capacity and physiological metabolism of female Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture*, v. 552, p. 737989, 15 abr. 2022.

WEINSTEIN, L. H.; DAVISON, A. W. Native plant species suitable as bioindicators and biomonitors for airborne fluoride. *Environmental Pollution*, v. 125, n. 1, p. 3–11, 1 set. 2003.

WELSH, J. E.; KING, P. A.; MACCARTHY, E. Pathological and physiological effects of nicking on brown crab (*Cancer pagurus*) in the Irish crustacean fishery. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 112, n. 1, p. 49–56, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2012.08.006>>.

YANG, L. et al. An analysis of the heavy element distribution in edible tissues of the swimming crab (*Portunus trituberculatus*) from Shandong Province, China and its human consumption risk. *Marine Pollution Bulletin*, v. 169, p. 112473, 1 ago. 2021.

YOKEL, R. A.; HICKS, C. L.; FLORENCE, R. L. Aluminum bioavailability from basic sodium aluminum phosphate, an approved food additive emulsifying agent, incorporated in cheese. *Food and chemical toxicology*: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, v. 46, n. 6, p. 2261, jun. 2008. Disponível em: <<http://pmc/articles/PMC2449821/>>. Acesso em: 21 jan. 2024.

ZHANG, H. et al. Dietary manganese requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson, 1846). *Aquaculture*, v. 450, p. 74–79, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848615300946>>. Acesso em: 19 out. 2023.

ZUCCHI, T. M. A. D. et al. Biomarcadores: Sentinelas Ambientais. In: BINSFELD, P. C. (Ed.). *Biossegurança em Biotecnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. p. 171–181.

ANEXOS

ANEXO I



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
DIRETORIA DE PATENTES, PROGRAMAS DE COMPUTADOR E TOPOGRAFIAS DE CIRCUITOS

Certificado de Registro de Programa de Computador

Processo Nº: **BR512024003428-5**

O Instituto Nacional da Propriedade Industrial expede o presente certificado de registro de programa de computador, válido por 50 anos a partir de 1º de janeiro subsequente à data de 01/09/2024, em conformidade com o §2º, art. 2º da Lei 9.609, de 19 de Fevereiro de 1998.

Título: CrabMonitor

Data de publicação: 01/09/2024

Data de criação: 20/08/2024

Titular(es): UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA

Autor(es): RAIMUNDA NONATA FORTES CARVALHO NETA; LUCIANA FORTES FARIAS; SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

Linguagem: CSS; XHTML; JSON

Campo de aplicação: AD-01; BL-01; EL-01; EL-04; HD-01; HD-04; SD-01

Tipo de programa: AP-01

Algoritmo hash: SHA-512

Resumo digital hash:

0da5c662d8994b427d73edf3d7446b5180751e15bbdb9c3896b2eb863e0c13fdaa824753b3bee4dfe16798bac172ca82e456f8b2ebac477f162f0c2dd67b707c

Expedido em: 24/09/2024

Aprovado por:
Carlos Alexandre Fernandes Silva
Chefe da DIPTO

ANEXO II



<https://doi.org/10.22478/ufpb.1981-1268.2023v17n1.65979>

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

Suelen Rosana Sampaio de Oliveira^{1*} , Luciana Barros Oliveira² , Luan Jonatas da Silva Ferreira³ , Gerson dos Santos Protazio³ , Debora Martins Silva Santos⁴ , Lina Clara Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno⁴ , Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta⁴

1 Postgraduate Program in Biodiversidade e Biotecnologia (BIONORTE), Universidade Estadual do Maranhão, Predio da Pós-Graduação do CCBS, Cidade Universitária, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga, São Luís, MA, Brasil. 65080-805.

2 Postgraduate Program in Ecologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB), Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI – Caixa Postal 09 – São Luís/MA, Brasil.

3 Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Avenida Lourenço Vieira da Silva 1.000 – São Luís/MA, Brasil.

4 Departamento de Biologia, Universidade Estadual do Maranhão. Sá Viana, São Luís - MA, Brasil. 65085-582 .

*Author for correspondence: suelensdo@gmail.com

Received 28 February 2022.

Accepted 30 April 2023.

Published 02 May 2023.

Abstract - The present work aims to analyze biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to verify the stress levels of an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon. For this, males *U. cordatus* were captured in two areas (P1 = industrial harbor region and P2 = region close to a fishing pier) for further analysis of biometry, biomarkers and organ damage index (gills and hepatopancreas). In addition, water samples were collected for the investigation of trace metals. The results showed higher values of trace metals and histological lesions in P1, but it was observed that the organ damage was similar between the areas. Lesions classified as irreversible were found in large numbers in P1, compromising the functioning of the organ and the health of organisms residing in this region. Therefore, crabs are under impacts showing biological responses and probably bioaccumulating harmful substances, compromising the health of the species.

Keywords: Biomonitoring. Decapoda. Harbor region. Histopathology. Impacts. Trace metals.

Biomarcadores e estado de saúde do caranguejo *Ucides cordatus* para avaliar o impacto de contaminantes em uma região de mangue estuarino na Amazônia brasileira

Resumo - O presente trabalho tem como objetivo analisar biomarcadores e estado de saúde do caranguejo *Ucides cordatus* para verificar os níveis de estresse de uma região de mangue estuarino na Amazônia brasileira. Para isso, machos de *U. cordatus* foram capturados em duas áreas (P1 = região portuária industrial e P2 = região próxima a um porto de pesca) para posterior análise de biometria,

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

biomarcadores e índice de dano aos órgãos (brânquias e hepatopâncreas). Além disso, amostras de água foram coletadas para a investigação de metais-traço. Os resultados mostraram maiores valores de metais traço e lesões histológicas em P1, mas observou-se que o dano ao órgão foi semelhante entre as áreas. As lesões classificadas como irreversíveis foram encontradas em grande número em P1, comprometendo o funcionamento do órgão e a saúde dos organismos residentes nessa região. Portanto, os caranguejos estão sob impactos apresentando respostas biológicas e provavelmente bioacumulando substâncias nocivas, comprometendo a saúde da espécie.

Palavras-chave: Biomonitoramento. Decápodo. Histopatologia. Impactos. Metais-traço. Região Portuária.

Biomarcadores y estado de salud del cangrejo *Ucides cordatus* para evaluar el impacto de los contaminantes en una región de manglares estuarinos en la Amazonía brasileña

Resumen - El presente trabajo tiene como objetivo analizar los biomarcadores y el estado de salud del cangrejo *Ucides cordatus* para verificar los niveles de estrés de una región de manglares estuarinos en la Amazonía brasileña. Para ello, se capturaron machos de *U. cordatus* en dos zonas (P1 = región portuaria industrial y P2 = región cercana a un muelle pesquero) para su posterior análisis de biometría, biomarcadores e índice de daño de órganos. Además, se recolectaron muestras de agua para la investigación de trazas de metales. Los resultados mostraron valores más altos de metales traza y lesiones histológicas en P1, pero se observó que el daño orgánico fue similar entre las áreas. Lesiones clasificadas como irreversibles se encontraron en gran número en P1, comprometiendo el funcionamiento del órgano y la salud de los organismos que residen en esta región. Por lo tanto, los cangrejos están bajo impactos mostrando respuestas biológicas y probablemente bioacumulando sustancias nocivas, comprometiendo la salud de la especie.

Palabras clave: Biomonitorio. Decápodo. Histopatología. Impactos. Rastrea metales. Región portuaria.

Introduction

Mangroves are high-productivity ecosystems located between terrestrial and aquatic saline environments (Liu et al. 2018). They have great socioeconomic importance, directly linked to the human subsistence, besides a fundamental ecological role, since these ecosystems participate in the protection of coastal zones and provide shelter and resources for migratory and resident species, in addition to being carbon sinks (Walker et al. 2022).

Despite being an essential environment for many living beings, the global area of mangrove forests has been significantly reduced, mainly by deforestation, with an estimated loss of one third of the original area during the 20th century, and about 1,540.22 km² area lost between 2000 and 2017 (Polidoro et al. 2014; Jakovac et al. 2020).

In the mangroves of the Brazilian Amazon, the main sources of deforestation and contamination are aquaculture, domestic effluents and activities in the industrial and port sectors (Ferreira and Lacerda

2016; Monteiro et al. 2016; Bernardino et al. 2021; Pinheiro-Sousa et al. 2021). On the northern coastal of Brazil there is an important port complex, which includes the Ponta da Madeira terminal, the Port of Itaqui and the Alumar terminal. In 2021, this complex handled approximately 228 million tons of various products, such as iron ore, oil derivatives, fertilizers and soy (ANTAQ 2021; González-Gorbeña et al. 2015), positively impacting the economy.

On the other hand, the growth of enterprises in this region has increased the occurrence of coastal water pollution, mangrove degradation and environmental accidents (Amaral and Alfredin 2010; EMAP 2022). And, as mangroves have a great capacity to retain contaminants in the sediment, resulting from anthropogenic activities drained into tidal and river waters (Gopalakrishnan et al. 2020), there is a risk for the entire food chain. In this same region, heavy metals available in the sediment have already been found, especially Al, Fe, Mg, Zn, Cu and Pb (Pinheiro-Sousa et al. 2021), and thus available to the biota such harmful elements.

Investigating the situation of the species that inhabit the mangrove through monitoring is important to diagnose the quality of the environment and the health of organisms. Monitoring becomes more effective when using native organisms, as they allow a realistic scenario of impacts to the environment. In particular, the crab species *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda; Linnaeus, 1763) (Common name: caranguejo-uçá) is widely distributed in the mangrove ecosystem and has ecological importance, as it participates in the biogeochemical cycle, in the bioturbation of mangrove soil, etc. (Nordhaus et al. 2006; Pülmanns et al. 2014) and economic, since the traditional community survives by collecting and selling this animal. In addition to these characteristics, it is considered a key species in monitoring studies and considered an excellent biomonitor species (dos Santos et al. 2019).

An easy method to assess environmental stress in organisms is through biomarkers, which provide us with fast and effective responses at different levels of biological organization. In addition, they subsidize information about the risk to the health of organisms and the prevention of impacts. Histopathological biomarkers, for example, demonstrate the damage caused to biological tissues by exposure to contaminants (such as heavy metals) which, depending on the substance and the time of exposure, cause irreversible damage. Thus, in this study we aimed to investigate the health status of the crab *Ucides cordatus* from harbor regions through analysis of biomarkers and environmental analyses, to verify the stress levels in the estuarine environment of the Brazilian Amazon.

Material and Methods

Study area

The study area comprises São Marcos Bay (Maranhão, Brazil) – an estuarine region belonging to the Brazilian Amazon, which houses part of the largest continuous band of mangroves under legal protection in the world (ICMBio 2018). It is considered an important fishing site, where fishing resources are still captured for the subsistence of riverside families (Ribeiro and Castro 2017) and notably recognized for housing the São Luís Industrial and Port Complex, which was once considered one of the largest in cargo handling in Latin America (Amaral and Alfredin, 2010).

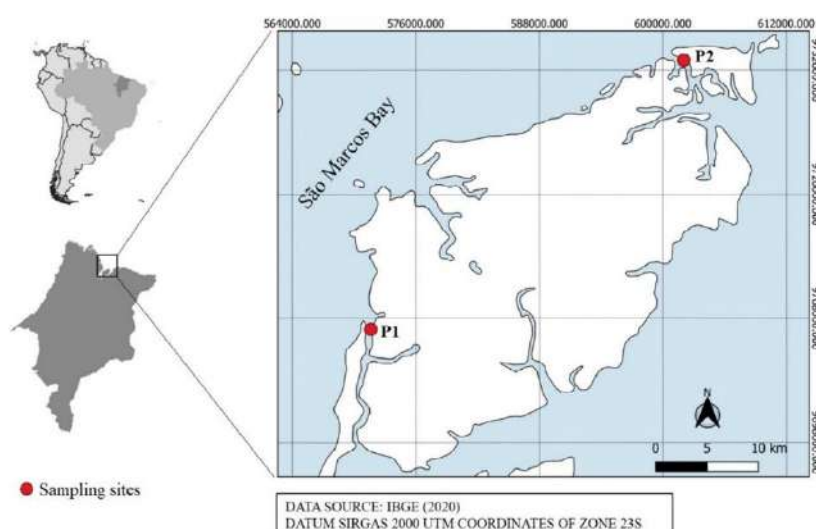
The region is characterized by having little thermal variability during the year - from 30.3 to 32.5°C for maximum temperatures and 23.4 to 25°C for minimum temperatures (INMET 2021) and therefore, the four seasons do not are well-defined, only two are observed: the rainy season, from January to June and the dry season, from July to December (INMET 2021; Pinheiro 2015).

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

Sampling locations

Two sites were selected along São Marcos Bay to collect biological and environmental samples: P1 and P2 (Figure 1). Site P1 ($2^{\circ}39'3.70''\text{S}$; $44^{\circ}21'20.40''\text{W}$) is located between two ports in the industrial region of the capital, where there is an intense flow of small and large vessels, as a result of port and fishing activities; site P2 ($2^{\circ}24'55.85''\text{S}$; $44^{\circ}4'56.55''\text{W}$) is close to an important fishing and tourism port in the region (approximately 1.5 km), subject to human interference (effluents, solid waste and oil from boat engine, etc.), considered in this study as a site of moderate impact.

Figure 1. Sampling sites along São Marcos Bay, northeast Brazil.



Sampling

Biological samples

In quarterly campaigns, 151 adult male specimens were captured from inside the burrows (SISBIO registration n°76372-1), randomly in the mangroves of the collection sites, during the rainy and dry seasons of 2021. The seasonal periods in the region are defined according to the series of historical meteorological data provided by the National Institute of Meteorology - INMET.

Environmental samples

During the ebb tide, samples of estuarine water were collected at 5-10 cm depth in sterilized bottles for analysis of important trace metals Aluminum, Cadmium, Lead, Copper, Chromium, Manganese, Mercury, Nickel and Zinc, analyzed according to the Standard Methods for the Examination of Water

and Wastewaters and the US EPA. The water samples were filtered, preserved in nitric acid and analyzed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES Optima 8300, Perkin Elmer).

At the time of water collection, the following physical-chemical parameters of the water along the estuary were measured: dissolved oxygen (mg/L), temperature (°C), salinity (ppm) and pH, using an AKSO multiparameter meter (model AK88).

The collection and recording of all environmental samples always took place in the morning, during the ebb tide.

Analysis

Species biometric parameters

Biometric data for each crab ($n = 151$) were recorded, taking the following variables: wet weight (WW) in grams, measured on a precision scale; cephalothorax width (CW) and cephalothorax length (CL) in centimeters, measured with the aid of a digital caliper. In this research, only male crabs in intermolt state were analyzed (de Oliveira et al. 2019).

Histology

Forty gills and forty hepatopancreas samples ($n = 80$) of *U. cordatus* were deposited in AFA fixative solution (Alcohol Formalin Acetic acid) for 48h and subsequently dehydrated in a graded series of ethanol, diaphanized in xylene and embedded in paraffin to form blocks; finally cut transversely to 5µm thickness and staining with Hematoxylin and Eosin (HE) (Luna 1968). Two slides of each organ were analyzed per crab.

A count of the total lesions in each organ was performed and later classified according to the reaction pattern: circulatory, inflammatory, neoplastic, progressive and regressive (Bernet et al. 1999). An organ damage index (I_{org}) adapted for crabs was also calculated (Jerome et al. 2017). The index used can be calculated using the formula:

$$I_{org} = \sum_{alt} (a \times w)$$

“a” characterizes the intensity of the alteration (0 = absent, 1-2 = minimal occurrence, 3-4 = moderate occurrence; 5-6 = severe occurrence); “w” is the importance factor, where the values tabulated by Bernet et al. (1999) for each change it ranges from 1 to 3 (1 = reversible changes; 2 = moderate changes, reversible if the stressor is neutralized and 3 = irreversible changes).

Statistical analysis

For each analysis, the results were tabulated and tested for data normality, using the Kolmogorov-Smirnov test, accepting $p > 0.05$ for normal data. The T test ($p < 0.05$) was used in two stages: to compare the abiotic water variables in relation to the seasons of the year, in each area; and to compare the concentration of trace metals in water between areas. The Mann-Whitney test was used in the other analyses (biometric data and organ damage indexes). The comparative chart of the abiotic variables was constructed based on the mean and standard deviation. The median, 1st and 3rd quartiles, minimum

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

and maximum values were used to build the table of biometric data of the species. The Statistica® Desktop program (StatSoft, version 10.0) was used in all analyses.

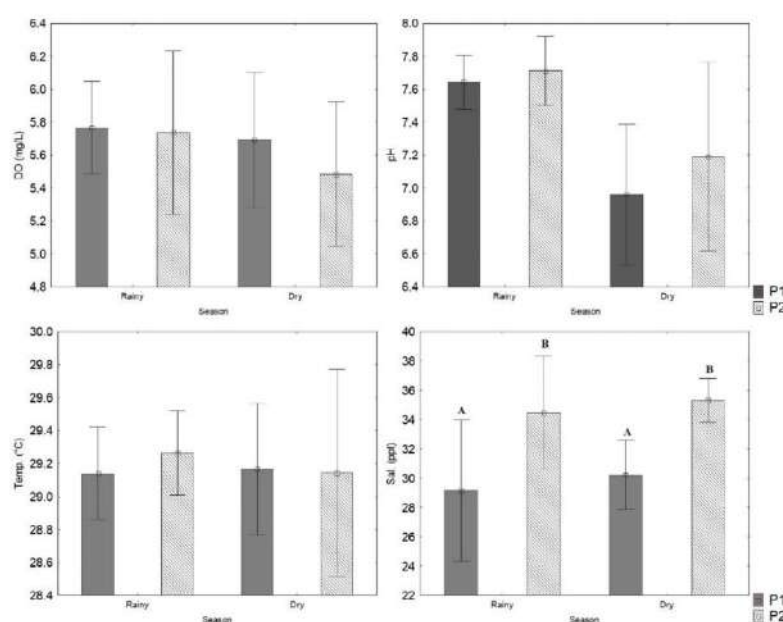
Results and Discussion

Environmental analyzes

Abiotic variables

Abiotic variables of water showed expected conditions for this estuarine region, mainly in terms of temperature, showing that there is little variation between locations; however, salinity showed a statistical difference between the sites ($p < 0.05$), highlighting the P2 area, the site closest to the Atlantic Ocean (Figure 2). These values presented are similar to research carried out in these regions (Sousa et al. 2013; Ribeiro et al. 2020) and are in accordance with acceptable local limits (CONAMA 2005).

Figure 2. Result of the T test for the abiotic water data collected during the rainy and dry seasons at the sampling sites, expressed as mean and standard deviation. Different letters indicate statistically significant difference.



The parameters already mentioned, when outside the appropriate limits, can be harmful to the biota: pH can contribute to the precipitation and potentiation of the effects of trace metals; dissolved oxygen in low concentrations causes damage to aquatic organisms, such as hypoxia; high temperatures directly interfere with the availability of oxygen in the water, mainly due to the increase in energy expenditure; the change in salinity, in addition to increasing metabolic rates, negatively interferes with the immune system of aquatic animals (Wang et al. 2018; Adeleke et al. 2021; García-Rueda et

al. 2021; Wang et al. 2022). However, as the values are within acceptable limits, the environment can be considered appropriate for estuarine life, in relation to these parameters.

Trace metal analysis

The result of the analysis showed the presence of trace metals in the water at all collection sites, with the highest values occurring in area P1, the industrial region (Table 1).

Table 1. Results of trace metal analysis in water at collection sites in São Marcos Bay, Brazil.

Water (mg L ⁻¹)	P1	P2	Reference Values ^b	LQ
Aluminum	0.25 ± 0.01	< 0.1	1.5 mg L ⁻¹ Al	0.1
Cadmium	< 0.001	< 0.001	0.04 mg L ⁻¹ Cd	0.001
Chrome	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01	1.1 mg L ⁻¹ Cr	0.01
Copper *	0.2 ± 0.01	0.09 ± 0.01	7.8 µg L ⁻¹ Cu	0.001
Lead	< 0.01	< 0.01	0.21 mg L ⁻¹ Pb	0.01
Manganese *	4.2 ± 0.16 ^b	1.6 ± 0.12 ^b	0.1 mg L ⁻¹ Mn	0.1
Mercury	< 0.0002	< 0.0002	1.8 µg L ⁻¹ Hg	0.0002
Nickel	< 0.005	< 0.005	74 µg L ⁻¹ Ni	0.005
Zinc *	0.16 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01	0.12 mg L ⁻¹ Zn	0.01

a Threshold of reference values by Brazilian legislation (CONAMA 2005). b Indicates values above the limits defined by current federal legislation (CONAMA 2005). * Indicates significant statistical difference ($p < 0.05$). LQ: Limit of quantification.

Metals such as copper, manganese, nickel and zinc are considered essential for plant and animal species, provided they are in low concentrations (Rocha et al. 1985; Summer et al. 2019; Yang et al. 2021). However, the concentration of zinc and manganese in the water is above the established value by current Brazilian legislation (limit: 0.12 mg.L⁻¹ Zn and 0.1 mg.L⁻¹ Mn), which can cause serious impacts on the aquatic biota and on humans (Belitz et al. 2009). Studies indicate that zinc toxicity can cause diseases such as anemia (linked to copper deficiency) and damage to the respiratory and gastrointestinal tracts (Hussain et al. 2022). Manganese is linked to good development and health in animals, but chronic exposure causes disturbances in energy metabolism, neurofunctional changes: impairment of neuromotor and cognitive functions, among others (Bevan et al. 2017; Mattison et al. 2017; Vásquez-Procopio et al. 2020). The other metals investigated in this research are within acceptable local limits (CONAMA 2005).

Biometric data

Crab measurements differed statistically between areas during the rainy season, showing P1 crabs with higher measurements and weights ($p < 0.05$). However, the data for the dry season did not show a

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

significant difference in any biometric variable (Table 2). Despite showing higher values in P1, these data are lower than those recorded for reference regions in de Oliveira et al. (2019), but consistent with the records for the harbor region of São Marcos Bay (de Oliveira et al. 2019; de Jesus et al. 2021), showing that organisms are historically smaller in this area.

Table 2. Medians of the biometric variables of *Ucides cordatus* sampled at the sites P1 and P2 during the rainy and dry season of 2021.

	Rainy season		Dry Season	
	P1	P2	P1	P2
WW(g)	135.3*	118.0	131.0	132
Q ₁ -Q ₃	118.7 – 156.7	91.7 – 140.5	110.0 – 153.0	116.0 – 149.0
CW (cm)	6.8*	6.0	6.6	6.7
Q ₁ -Q ₃	6.0 – 7.0	5.0 – 7.0	6.4 – 7.1	6.1 – 7.0
CL (cm)	4.7*	4.06	4.8	4.9
Q ₁ -Q ₃	4.0 – 5.0	4.03 – 4.09	4.6 – 5.0	4.6 – 5.2

WW: total weight; CW: cephalothorax width; CL: cephalothorax length, Q₁: first quartile; Q₃: third quartile. n = 151. * Indicates significant statistical difference (p < 0.05).

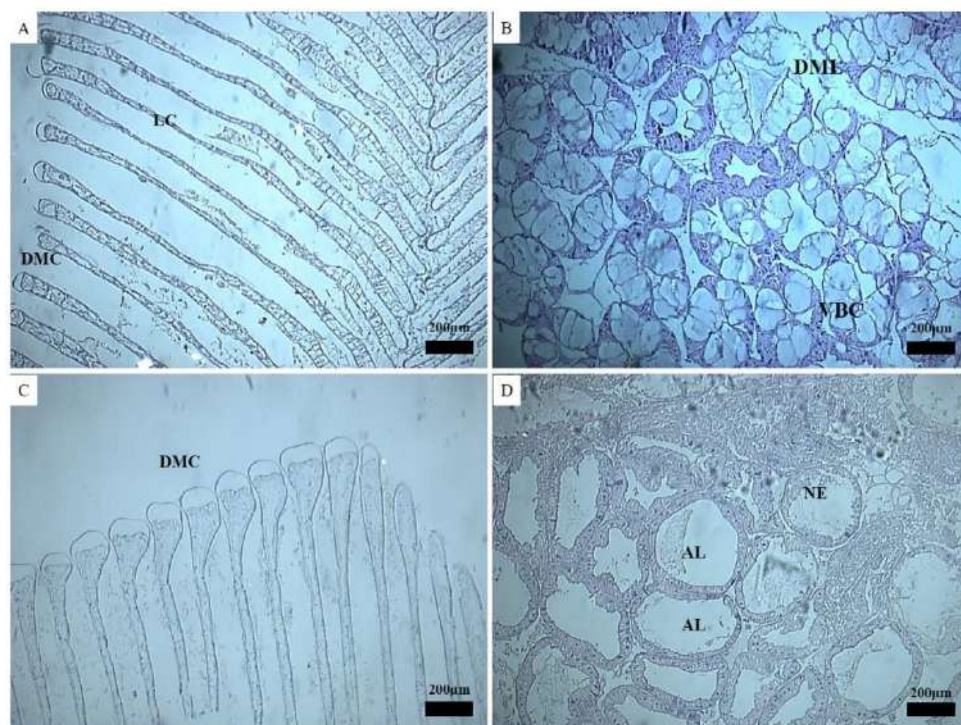
At site P1, an area under the influence of the port complex, the highest values for trace metals were recorded in the water above and within the permitted limits, so the animals are exposed to these and other substances in a complex mixture in the environment, bioaccumulating in their tissues and causing adverse effects. Thus, organisms increase their metabolic rates to defend the body from possible damage, and consequently the growth rate changes, becoming slower (Kavun and Podgurskaya 2009; Jinhui et al. 2019). In part, this may explain the reduced size and weight of the crabs in P1, as the organisms are living in the presence of harmful substances, impairing their growth rate. For site P2, far from the industrial and port sector, the biometric variables may be associated with anthropic impacts, with emphasis on predatory fishing of this resource, since it is a region where one of the main sources of income for communities is fishing. There are records of increased fishing effort, as well as biometric variables in smaller numbers in crabs from the northern coast of Brazil, showing that overfishing in the region has been occurring over the years (Legat and Legat 2009), with consequences for the species. It is worth mentioning that the growth of *U. cordatus* is slow and they are continuously harvested before their complete maturation period, impairing their reproductive cycle (de Lima et al. 2018). Thus, the species does not have enough time to recover the population number, especially in P2, which is a fishing region.

Histological biomarkers

The histological examination of the gills showed lesions in all crabs captured (Figure 3), but in greater proportion in P1. The most recurrent alterations are included in the regressive reaction pattern (processes that result in the reduction or functional loss of an organ) and are classified as irreversible

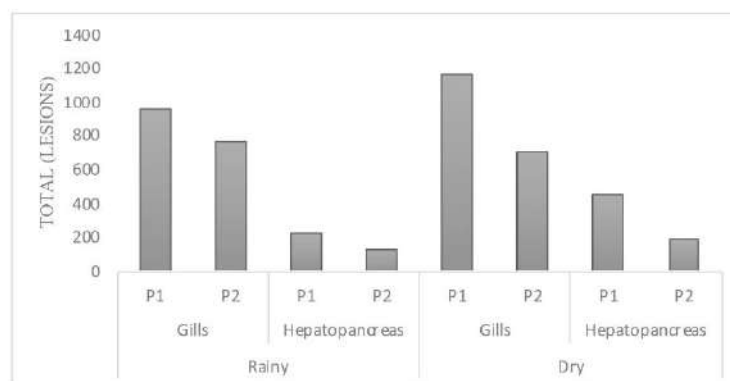
(disturbances in the pilaster cells, collapsed lamellae and necrosis); the other alterations were classified as easily reversible, with the end of the exposure (deformation of the marginal canal and detachment of the cuticle). The reaction pattern was presented in the order: regressive > progressive for P1 and P2. The presence of parasites was also recorded in the two collection sites. In the hepatopancreas, the lesions are classified in the pattern of inflammatory reaction (processes belonging to several reaction patterns, being difficult to attribute to a single reaction pattern) with moderate injury (hemocyte infiltration) and regressive with reversible (abnormal lumen, damaged myoepithelial layer and epithelium delamination) and irreversible (necrosis and B vacuolated). Two patterns of reactions were found in this tissue, in the order regressive > inflammatory, for both areas (P1 and P2). As with the gills, the highest proportion of lesions in the hepatopancreas was found for the crabs from the P1 site (Figure 4).

Figure 3. Histological alterations found in the gills and hepatopancreas of *Ucides cordatus*, collected in São Marcos Bay, BR. 3-A and 3-B: P2; 3-C and 3D: P1. AL: abnormal lumen; CL: collapsed lamellae; DMC: deformation of the marginal channel; DML: damaged myoepithelial layer; NE: necrosis; VBC: vacuolated B cells. HE. 5X.



Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

Figure 4. Frequency of lesions in *Ucides cordatus* collected during the 2021 seasonal periods at two collection sites.

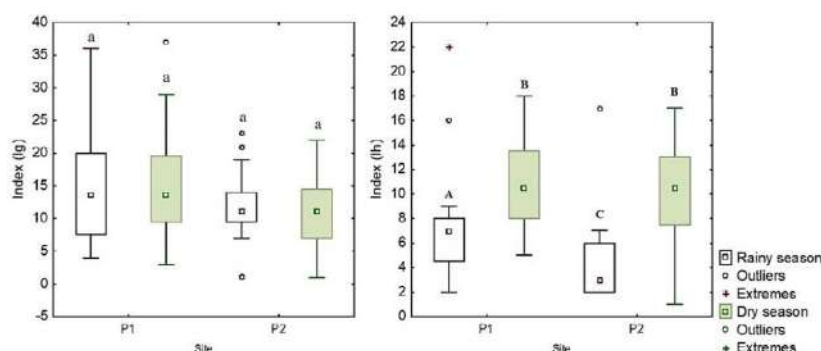


The organ index showed no statistically significant differences for the gills. For the hepatopancreas only the rainy season showed statistical difference between areas ($p < 0.05$) (Figure 5). It is estimated that this difference in I_o during the rainy season is because a greater volume of xenobiotics is leached into the estuary in this season. The index reflects how severely the organ is affected by the histopathologies. In this way, the values for the sites represent a high degree of organ damage, such as disturbance in the pilaster cells and necrosis, irreversible damage. As a consequence, we have a high probability of total loss in the functioning of the organ, compromising the health of the organism or even leading to death.

The gills are key organs for osmoregulation, respiration and ion exchange, and because it has a high permeability, it tends to incorporate harmful substances into its tissues (Rainbow 2018). The hepatopancreas (midgut gland) performs absorption, secretion and detoxification functions in crustaceans, minimizing the effects of contaminants (Corrêa et al. 2002; Kang et al. 2012). As in this study trace metals were found in the water, crabs can easily absorb these components passively, being potential bioaccumulators.

Certain metals are indisputably harmful to organisms and their effects are visible at different biological levels, which have already been discussed in many studies (Chiodi Boudet et al. 2015; Frías-Espéricueta et al. 2022). In general, the damage depends on the concentration, exposure time and its properties. Frequent exposure to zinc, for example, causes histological and molecular damage (Gestin et al. 2022), which may explain a higher number of lesions in the regressive reaction pattern in both organs. Manganese, which was found in high concentrations in water, is described as harmful to the immune system of crustaceans, and these organisms are highly sensitive to this metal (Dey et al. 2023). In the environment it is difficult to specify which contaminant causes major disturbances in organisms, however some studies that have documented the presence of one or more metals bring some type of tissue impairment. Examples include lamellar fusion and disorganization, abnormal tubules and lumen, necrosis and impairment of the epithelial layer (Chiodi Boudet et al. 2015; Maisano et al. 2017; Rezaei Tavabe et al. 2019). Therefore, we can link the highest histological values to environmental contamination, as well as other anthropic stressors for the organism.

Figure 5. Index values for the gills (Ig) and hepatopancreas (Ih) of *Ucides cordatus* in P1 and P2. Different letters indicate statistically significant difference.



Monitoring studies of estuaries impacted by human activities, employing aquatic invertebrates, found significant responses using histological biomarkers (Maisano et al. 2017; Carvalho Neta et al. 2019; Joshy et al. 2022). Thus, the high values of biomarkers found in crabs from impacted sites in São Marcos Bay confirm that it is an excellent methodology for assessing contamination in estuarine environments.

Conclusion

Changes in biometry and histological damage seen in the gills and hepatopancreas of *U. cordatus* show that these organisms are under anthropic impacts, regardless of the seasonal period. As metals are available in the environment, it is concluded that biological damage may be linked to the harmful effects of these substances, which are in a complex mixture and can trigger antagonistic, additive or synergistic effects.

The native species *U. cordatus* was able to confirm that the sites are impacted and with high levels of stress for the organism, especially the P1 site. Thus, this methodology added to environmental analyzes is efficient to evidence the environmental degradation of estuarine environments.

Author's contributions: SRSO: Writing – original draft, Investigation, Methodology, Data curation, Project administration, Funding acquisition; LBO, LJSE, GSP: Conceptualization, Methodology; DMSS: Writing – review & editing, Supervision, Funding acquisition; LCGAIM: Writing – review & editing, Data curation, Supervision, Funding acquisition; RNFCN: Writing – review & editing, Conceptualization, Data curation, Supervision, Funding acquisition.

Ethical approval and Research authorization: The research has authorization for the collection of *Ucides cordatus* issued by SISBIO (registration n°76372-1).

Data availability: The data is not available in databases or repositories.

Funding: This work was supported by the Foundation for Research Support and Scientific and Technological Development of Maranhão - FAPEMA, through a research grant.

Conflict of interest: The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

References

- Adeleke B, Robertson-Andersson D, Moodley G. 2021. Osmotic response of *Dotilla fenestrata* (sand bubbler crab) exposed to combined water acidity and varying metal (Cd and Pb). *Heliyon*. 7(4):e06763. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06763.
- Amaral R, Alfredin P. 2010. Modelação Hidrossedimentológica no Canal de Acesso do Complexo Portuário do Maranhão. *Revista Brasileira De Recursos Hidricos*. 15(2):5–14. doi:10.21168/rbrh.v15n2.p5-14.
- ANTAQ - Agência Nacional de Transportes Aquaviários. 2021. Painel Estatístico Aquaviário 2.1.4. Brasília - DF. <http://ea.antaq.gov.br/QvAJAXZfc/pendoc.htm?document=painel%5Cantag-anuário2014-v0.9.3.qvw&dang=pt-BR&host=QVS%40graneleiro&anonymous=true>.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. 4th ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-540-69934-7
- Bernardino AF, Nóbrega GN, Ferreira TO. 2021. Consequences of terminating mangrove's protection in Brazil. *Marine Policy*. 125:104389. doi:10.1016/j.marpol.2020.104389.
- Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*. 22(1):25–34. doi:10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x.
- Bevan R, Ashdown L, McGough D, Huici-Montagud A, Levy L. 2017. Setting evidence-based occupational exposure limits for manganese. *Neurotoxicology*. 58:238–248. doi:10.1016/j.NEURO.2016.08.005.
- Carvalho Neta RNE, Mota Andrade T de S de O, de Oliveira SRS, Torres Junior AR, da Silva Cardoso W, Santos DMS, dos Santos Batista W, de Sousa Serra IMR, Brito NM. 2019. 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*. 26(16):15884–15893. doi:10.1007/S11356-019-04849-0.
- Chiodi Boudet LN, Polizzi P, Romero MB, Robles A, Marcovecchio JE, Gerpe MS. 2015. Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium in white shrimp, *Palaemonetes argentinus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 113:231–240. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.11.019.
- CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. 2005. Resolução CONAMA no 357, de 17 de março de 2005. <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>.
- Corrêa JD, Farina M, Allodi S. 2002. Cytoarchitectural features of *Ucides cordatus* (Crustacea Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules. *Tissue and Cell*. 34(5):315–325. doi:10.1016/S0040816602000101.
- de Jesus WB, Mota Andrade T de S de O, Soares SH, Pinheiro-Sousa DB, de Oliveira SRS, Torres HS, Protazio G dos S, da Silva DS, Santos DMS, de Carvalho Neta AV, et al. 2021. Biomarkers and occurrences of heavy metals in sediment and the bioaccumulation of metals in crabs (*Ucides cordatus*) in impacted mangroves on the Amazon coast, Brazil. *Chemosphere*. 271:129444. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.129444.
- De Lima CDM, Da Silva HRC, Bernard E. 2018. Efetividade do defeso do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus* L.): análise de percepção de consumidores e vendedores. *Ambiente & Sociedade*. 21:463. doi:10.1590/1809-4422ASOC0046R3VU18L1AO.
- de Oliveira SRS, Batista W dos S, Sousa JBM, Noletto KS, Arouche Lima IM, Andrade TSOM, Cardoso W da S, Carvalho Neta RNE. 2019. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 102(6):802–810. doi:10.1007/s00128-019-02594-1.
- Dey S, Tripathy B, Kumar MS, Das AP. 2023. Ecotoxicological consequences of manganese mining pollutants and their biological remediation. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 5:55–61. doi:10.1016/j.eneco.2023.01.001.

- EMAP - Empresa Maranhense de Administração Portuária. 2022. Porto do Itaqui cresce 23% em 2021. <https://www.portodoitaqui.com/imprensa/noticia/porto-do-itaqui-cresce-23-em-2021>.
- Ferreira AC, Lacerda LD. 2016. Degradation and conservation of Brazilian mangroves, status and perspectives. *Ocean & Coastal Management*. 125:38–46. doi:10.1016/j.ocecoaman.2016.03.011.
- Frias-Espicueta MG, Bautista-Covarrubias JC, Osuna-Martínez CC, Delgado-Alvarez C, Bojórquez C, Aguilar-Juárez M, Roos-Muñoz S, Osuna-López I, Páez-Osuna F. 2022. Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. *Aquatic Toxicology*. 242:106024. doi:10.1016/j.aquatox.2021.106024.
- García-Rueda A, Tremblay N, Mascaró M, Díaz F, Paschke K, Caamal-Monsreal C, Rosas C. 2021. The thermal tolerance of a tropical population of blue crab (*Callinectes sapidus*) modulates aerobic metabolism during hypoxia. *Journal of Thermal Biology*. 102:103078. doi:10.1016/J.JTHERBIO.2021.103078.
- Gestin O, Lopes C, Delorme N, Garnero L, Geffard O, Lacoue-Labarthe T. 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. *Environmental Pollution*. 308:119625. doi:10.1016/j.envpol.2022.119625.
- González-Gorbeña E, Rosman PCC, Qassim RY. 2015. Assessment of the tidal current energy resource in São Marcos Bay, Brazil. *Journal of Ocean Engineering and Marine Energy*. 1(4):421–433. doi:10.1007/s40722-015-0031-5.
- Gopalakrishnan G, Wang S, Mo L, Zou J, Zhou Y. 2020. Distribution determination, risk assessment, and source identification of heavy metals in mangrove wetland sediments from Qiao Island, South China. *Regional Studies in Marine Science*. 33:100961. doi:10.1016/J.RSMA.2019.100961.
- Hussain S, Khan M, Sheikh TMM, Mumtaz MZ, Chohan TA, Shamim S, Liu Y. 2022. Zinc Essentiality, Toxicity, and Its Bacterial Bioremediation: A Comprehensive Insight. *Frontiers in Microbiology*. 0:1912. doi:10.3389/FMICB.2022.900740.
- ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2018. Atlas dos Manguezais do Brasil. Brasília. http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/manguezais/atlas_dos_manguezais_do_brasil.pdf.
- INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. 2021. Normais Climatológicas do Brasil (1991-2020). <https://portal.inmet.gov.br/normais>.
- Jakovac CC, Latawiec AE, Lacerda E, Leite Lucas I, Korys KA, Iribarrem A, Malaguti GA, Turner RK, Luisetti T, Baeta Neves Strassburg B. 2020. Costs and Carbon Benefits of Mangrove Conservation and Restoration: A Global Analysis. *Ecological Economics*. 176:106758. doi:10.1016/J.ECOLECON.2020.106758.
- Jerome FC, Hassan A, Omoniyi-Esan GO, Odujoko OO, Chukwuka AV. 2017. Metal uptake, oxidative stress and histopathological alterations in gills and hepatopancreas of *Callinectes amnicola* exposed to industrial effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 139:179–193. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.01.032.
- Jinhui S, Sudong X, Yan N, Xia P, Jiahao Q, Yongjian X. 2019. Effects of microplastics and attached heavy metals on growth, immunity, and heavy metal accumulation in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Marine Pollution Bulletin*. 149. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.110510.
- Joshay A, Sharma SRK, Mini KG, Gangadharan S, Pranav P. 2022. Histopathological evaluation of bivalves from the southwest coast of India as an indicator of environmental quality. *Aquatic Toxicology*. 243:106076. doi:10.1016/J.AQUATOX.2022.106076.
- Kang X, Mu S, Li W, Zhao N. 2012. Toxic Effects of Cadmium on Crabs and Shrimps. In: Acree B, editor. *Toxicity and Drug Testing*. p. 528. <http://www.intechopen.com/books/toxicity-and-drug-testing/toxic-effects-of-cadmium-on-crabs-and-shrimps>.
- Kavun VY, Podgurskaya O V. 2009. Adaptation strategy of bivalve *Modiolus modiolus* from upwelling regions of the Kuril Islands shelf (Sea of Okhotsk) to heavy metal effects. *Continental Shelf Research*. 29(13):1597–1604. doi:10.1016/J.CSR.2009.05.001.

Biomarkers and health status of the crab *Ucides cordatus* to assess the impact of contaminants in an estuarine mangrove region in the Brazilian Amazon

Legat JFA, Legat AP. 2009. Metodologia Para O Transporte De Caranguejo Vivo Com Baixos Índices De Desperdícios. Boletim Técnico-Científico do Cepene. 17(1):115–121.

Liu M, Zhang H, Lin G, Lin H, Tang D. 2018. Zonation and Directional Dynamics of Mangrove Forests Derived from Time-Series Satellite Imagery in Mai Po, Hong Kong. Sustainability. 10(6):1913. doi:10.3390/SU10061913.

Luna LG. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3. ed. New York: McGraw-Hill.

Maisano M, Cappello T, Natalotto A, Vitale V, Parrino V, Giannetto A, Oliva S, Mancini G, Cappello S, Mauceri A, et al. 2017. Effects of petrochemical contamination on caged marine mussels using a multi-biomarker approach: Histological changes, neurotoxicity and hypoxic stress. Marine Environmental Research. 128:114–123. doi:10.1016/J.MARENRES.2016.03.008.

Mattison DR, Milton B, Krewski D, Levy I, Dorman DC, Aggett PJ, Roels HA, Andersen ME, Karyakina NA, Shilnikova N, Ramoju S, McGough D. 2017. Severity scoring of manganese health effects for categorical regression. Neurotoxicology. 58:203–216. doi:10.1016/J.NEURO.2016.09.001.

Monteiro MC, Jiménez JA, Pereira LCC. 2016. Natural and human controls of water quality of an Amazon estuary (Caeté-PA, Brazil). Ocean & Coastal Management. 124:42–52. doi:10.1016/J.OCECOAMAN.2016.01.014.

Nordhaus I, Wolff M, Diele K. 2006. 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. 67(1–2):239–250. doi:10.1016/J.ECSS.2005.11.022.

de Oliveira SRS, Batista W dos S, Sousa JBM, Noleto KS, Arouche Lima IM, Andrade TSOM, Cardoso W da S, Carvalho Neta RNF. 2019. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 102(6):802–810. doi:10.1007/s00128-019-02594-1.

Pinheiro-Sousa DB, da Costa Soares SH, Torres HS, de Jesus WB, de Oliveira SRS, Bastos WR, de Oliveira Ribeiro CA, Carvalho-Neta RNF. 2021. Sediment contaminant levels and multibiomarker approach to assess the health of catfish *Sciades herzbergii* in a harbor from the northern Brazilian Amazon. Ecotoxicology and Environmental Safety. 208:111540. doi:10.1016/J.ECOENV.2020.111540.

Pinheiro JM. 2015. Dinâmica climática da ilha do maranhão. In: Farias Filho MS, Celeri MJ (Eds). Geografia da Ilha do Maranhão. 1st ed. São Luís: EDUFMA. p. 29–37. <https://docero.com.br/doc/ne818s1>.

Polidoro BA, Carpenter KE, Dahdouh-Guebas F, Ellison JC, Koedam NE, Yong JWH. 2014. Global patterns of mangrove extinction risk: implications for ecosystem services and biodiversity loss. In: Maslo B, Lockwood JL (Eds). Coastal Conservation. Cambridge University Press. p. 15–36.

Pülmanns N, Diele K, Mehlig U, Nordhaus I. 2014. Burrows of the Semi-Terrestrial Crab *Ucides cordatus* Enhance CO₂ Release in a North Brazilian Mangrove Forest. PLoS One. 9(10):e109532. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0109532.

Rainbow P. S. 2018. Heavy Metal Levels in Marine Invertebrates. In: Furness RW, Rainbow Philip S. (Eds). Heavy Metals in the Marine Environment. 1st ed. CRC Press. p. 67–79. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351073158-5/heavy-metal-levels-marine-invertebrates-rainbow>.

Rezaei Tavabe K, Pouryounes Abkenar B, Rafiee G, Frinsko M. 2019. Effects of chronic lead and cadmium exposure on the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) in laboratory conditions. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology. 221:21–28. doi:10.1016/j.cbpc.2019.03.009.

Ribeiro EB, Noleto KS, de Oliveira SRS, Batista de Jesus W, de Sousa Serra IMR, da Silva de Almeida Z, de Sousa de Oliveira Mota Andrade T, de Araújo Soares R, Antonio IG, Santos DMS, et al. 2020. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. Marine Pollution Bulletin. 158:111348. doi:10.1016/J.MARPOLBUL.2020.111348.

- Ribeiro I, Castro ACL de. 2017. Pescadores artesanais e a expansão portuária na praia do Boqueirão, Ilha de São Luís-MA. *Revista de Políticas Públicas*. 20(2):863. doi:10.18764/2178-2865.v20n2p863-884.
- Rocha AA, Pereira DN, De Padua HB. 1985. Fishing yield and chemical contamination of the water of the Billings Reservoir, S. Paulo (Brazil). *Revista de Saude Publica*. 19(5):401–410. doi:10.1590/s0034-89101985000500003.
- dos Santos CCM, da Costa JFM, dos Santos CRM, Amado LL. 2019. Influence of seasonality on the natural modulation of oxidative stress biomarkers in mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, Ucidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 227:146–153. doi:10.1016/j.cbpa.2018.10.001.
- Sousa DBP, Almeida ZS, Carvalho-Neta RNE. 2013. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 65(2):369–376. doi:10.1590/S0102-09352013000200011.
- Summer K, Reichelt-Brushett A, Howe P. 2019. Toxicity of manganese to various life stages of selected marine cnidarian species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 167:83–94. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.09.116.
- Vásquez-Procopio J, Osorio B, Cortés-Martínez L, Hernández-Hernández F, Medina-Contreras O, Riós-Castro E, Comjean A, Li F, Hu Y, Mohr S, et al. 2020. Intestinal response to dietary manganese depletion in *Drosophila*. *Metallomics*. 12(2):218–240. doi:10.1039/C9MT00218A.
- Walker JE, Ankersen T, Barchiesi S, Meyer CK, Altieri AH, Osborne TZ, Angelini C. 2022. Governance and the mangrove commons: Advancing the cross-scale, nested framework for the global conservation and wise use of mangroves. *Journal of Environmental Management*. 312:114823. doi:10.1016/j.jenvman.2022.114823.
- Wang H, Wei H, Tang L, Lu J, Mu C, Wang C. 2018. A proteomics of gills approach to understanding salinity adaptation of *Scylla paramamosain*. *Gene*. 677:119–131. doi:10.1016/j.gene.2018.07.059.
- Wang X, Yao Q, Zhang D ming, Lei X yu, Wang S, Wan J wu, Liu H jian, Chen Y ke, Zhao Y long, Wang G qin, et al. 2022. Effects of acute salinity stress on osmoregulation, antioxidant capacity and physiological metabolism of female Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture*. 552:737989. doi:10.1016/j.aquaculture.2022.737989.
- Yang L, Wang D, Xin C, Wang L, Ren X, Guo M, Liu Y. 2021. An analysis of the heavy element distribution in edible tissues of the swimming crab (*Portunus trituberculatus*) from Shandong Province, China and its human consumption risk. *Marine Pollution Bulletin*. 169:112473. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112473.



Esta obra está licenciada com uma *Licença Creative Commons Atribuição Não-Comercial 4.0 Internacional*.