

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS - CECEN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA - DBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS AQUÁTICOS E PESCA -
PPGRAP

SÂMEA HELOÁ DA COSTA SOARES

**BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii*
(PISCES, ARIIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE AMBIENTES ESTUARINOS DA
BAÍA DE SÃO MARCOS, MARANHÃO**

SÃO LUÍS - MA

2020



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**



Programa de Pós-Graduação - Mestrado
Recursos Aquáticos e Pesca

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS - CECEN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA - DBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS AQUÁTICOS E PESCA -
PPGRAP

SÂMEA HELOÁ DA COSTA SOARES

**BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii*
(PISCES, ARIIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE AMBIENTES ESTUARINOS DA
BAÍA DE SÃO MARCOS, MARANHÃO**

SÃO LUÍS - MA

2020

SÂMEA HELOÁ DA COSTA SOARES

**BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii*
(PISCES, ARIIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE AMBIENTES ESTUARINOS DA
BAÍA DE SÃO MARCOS, MARANHÃO**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP) da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, como requisito para obtenção do título de mestre em Recursos Aquáticos e Pesca.

Orientadora: Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta

SÃO LUÍS - MA

2020

Soares, Sâmea Heloá da Costa.

Biomarcadores bioquímicos e histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces Ariidae) para avaliação de ambientes estuarinos da baía de São Marcos, Maranhão / Sâmea Heloá da Costa Soares. – São Luís, MA, 2020.

... 106f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Recursos aquáticos e pesca, Universidade Estadual do Maranhão, 2020.

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

1.Complexo estuarino. 2.Biomonitoramento. 3.Peixes. 4.Respostas biológicas. I.Título

CDU: 639.2(812.1)

SÂMEA HELOÁ DA COSTA SOARES

**BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM *Sciades herzbergii*
(PISCES, ARIIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE AMBIENTES ESTUARINOS DA
BAÍA DE SÃO MARCOS, MARANHÃO**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP) da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, como requisito para obtenção do título de mestre em Recursos Aquáticos e Pesca.

Aprovada em 30/01/2020

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)



Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos

Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
1º Examinador



Profa. Dra. Lígia Almeida Pereira
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
2º Examinador



Dr. Dilson Silva
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)
3º Examinador

Dedico este trabalho a minha família e a todos que colaboraram para a realização desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos concedidas, pelos desafios superados, por mais uma conquista em minha vida. Obrigada Senhor!

A minha família, em especial as mulheres da minha vida: Maria Helena, Heloísa Helena, Márcia da Costa e a mais nova integrante Manuela Lago. Ao meu tio Dionísio Campos e esposo Gilvan Lago pelo amor, carinho e principalmente por todo apoio, esforço e incentivo aos estudos.

A minha querida orientadora Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta, pela confiança depositada durante o desenvolvimento da pesquisa. Muito obrigada pela orientação, ensinamentos, dedicação e pelas oportunidades. Serei eternamente grata.

Aos professores Débora Santos, Lígia Almeida e Dilson Silva pelas recomendações sobre a presente pesquisa, buscando o aperfeiçoamento do trabalho, Obrigada.

Aos meus queridos colegas de turma: Ana Luíza Caldas Diniz, Allef Paixão França, Ana Karolina Ribeiro Sousa, Caroline Lopes França, Jackellynne Fernanda Farias Fernandes, Jailza Freitas, Jordana Adorno Furtado, Natália Jovita Pereira, Polyana Bordinassi da Silva e Wanda dos Santos Batista. Com vocês compartilhei momentos de alegria, viagens, estudos e tudo mais que uma amizade pode proporcionar. Turma maravilhosa! PPGRAP 2018.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP) pelo ensino, dedicação e incentivo à pesquisa. Obrigada pela excelente contribuição em cada disciplina!

Aos servidores do PPGRAP, Hillana, pela disposição em nos ajudar. Muito obrigada.

A todos do Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia Aquática e Monitoramento de Ambientes Aquáticos (GPEMAq), pela ajuda nas atividades em campo, laboratoriais e demais auxílios que me ajudaram a crescer.

Ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq), pelo suporte acadêmico durante as pesquisas.

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

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

Muito obrigada a todos que estiveram ao meu lado durante essa etapa da minha vida, suas contribuições me incentivaram e ajudaram muito a crescer.

RESUMO

A biota aquática está exposta a inúmeras situações de estresse que chegam ao ambiente aquático através de diversas fontes poluidoras. Por conta disso, são necessários estudos que priorizem a atenção para o monitoramento de efeitos biológicos, ao invés do monitoramento de contaminantes. Neste trabalho objetivou-se avaliar biomarcadores bioquímicos e histológicos em peixes da espécie *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) para diagnóstico de impactos ambientais em duas áreas da Baía de São Marcos, Maranhão. As coletas dos peixes foram realizadas no Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande, considerada a área potencialmente contaminada e a Ilha dos Caranguejos, região de referência, em março e julho de 2018 e 2019. Em campo, foi retirada uma parte do tecido hepático de cada exemplar para a realização das análises das enzimas catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST), enquanto que a outra metade foi conservada em formalina a 10%, junto com os arcos branquiais direito para o procedimento histológico usual. Além disso, os parâmetros morfométricos (comprimento total, comprimento padrão, comprimento furcal e peso total) e abióticos foram mensurados. Os biomarcadores bioquímicos não demonstraram diferenças entre as áreas de coleta dos peixes. Entretanto, foi verificado que a atividade da CAT foi significativamente maior na estação seca, indicando que as diferenças sazonais podem interferir nas expressões das enzimas antioxidantes em decorrência das atividades metabólicas. Sendo assim, é provável que os resultados da CAT dos peixes observados neste estudo sejam em decorrência da influência de fatores ambientais, como, temperatura e salinidade. Os bagres coletados na região portuária apresentaram mais alterações histológicas em comparação com os da área de referência, principalmente no tecido branquial, onde as brânquias demonstraram ser o órgão mais afetado e que melhor demonstrou os diferentes graus de estresse entre as áreas de estudo. Por sua vez, as alterações hepáticas foram mais significativas quando analisadas entre os períodos sazonais, tendo o período chuvoso valores maiores. Durante a estação chuvosa, o nível de contaminação em corpos d'água pode aumentar devido ao escoamento de contaminantes, e como o fígado tem papel importante no armazenamento, desintoxicação e transformação de xenobióticos, torna-se alvo das substâncias tóxicas. Concluindo, apesar de inespecíficas, as alterações identificadas mostraram-se relevantes para a espécie estudada, em que os biomarcadores utilizados demonstraram ser eficientes para avaliar de forma mais abrangente os efeitos biológicos dos xenobióticos sobre os organismos investigados.

Palavras-chave: Complexo Estuarino, biomonitoramento, peixes, respostas biológicas.

ABSTRACT

Aquatic biota is exposed to countless stressful situations that reach the water environment aquatic various polluting sources. Because of this, studies are needed that prioritize attention to the monitoring of biological effects, rather than the monitoring of contaminants. This work aimed to evaluate biochemical and histological biomarkers in fish (*Sciades herzbergii*) for diagnosis of environmental impacts in two areas of São Marcos Bay, Maranhão. The fish were collected at the Porto Grande Industrial Fishing Terminal, considered to be the potentially contaminated area and Ilha dos Caranguejos, the reference region, in March and July 2018 and 2019. In the field, part of the liver tissue from each specimen for the analysis of the enzymes catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST), while the other half was preserved in 10% formalin, together with the right branchial arches for the usual histological procedure. In addition, the morphometric parameters (total length, standard length, furcal length and total weight) and abiotics were measured. Biochemical biomarkers did not show differences between the fish collection areas. However, it was found that CAT activity was significantly higher in the dry season, indicating that seasonal differences may interfere with the expression of antioxidant enzymes due to metabolic activities. Therefore, it is likely that the results of the CAT of the fish observed in this study are due to the influence of environmental factors, such as temperature and salinity. The catfishes collected in the port region indicated greater amounts of histological changes compared to those in the reference area, mainly in the branchial tissue, where the gills proved to be the most affected organ and that best demonstrated the different degrees of stress between the study areas. In turn, liver changes were more significant when analyzed between seasonal periods, with the rainy season having higher values. During the rainy season, the level of contamination in water bodies can increase due to the flow of contaminants, and as the liver plays a role in the storage, detoxification and transformation of xenobiotics, it ends up being the target of toxic substances. Therefore, in spite of being non-specific, the alterations identified proved to be relevant for the species studied, in which the biomarkers used proved to be efficient to more comprehensively assess the biological effects of xenobiotics on investigated organisms.

Keywords: Estuarine Complex, biomonitoring, fish, biological responses.

LISTA DE FIGURAS
(GERAL)

Figura 1. Exemplar de *S. herzbergii* (Bloch, 1794), bagre capturado na Baía de São Marcos –MA, mostrando as principais características taxonômicas que definem a espécie investigada. 24

Figura 2. Áreas de coleta na Baía de São Marcos, Maranhão. A) Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande; B) Ilha dos Caranguejos. 32

Figura 3. Pescadores artesanais na embarcação utilizada para a captura dos peixes; B) *Sciades herzbergii* capturados nas áreas de estudo. 34

Figura 4. Procedimentos realizados em laboratório para a análise bioquímica. A) pesagem do fígado de cada exemplar de *S. herzbergii*; B) homogeneização do material biológico; C) leitura em espectrofotômetro. 38

LISTA DE FIGURAS
(CAPÍTULO I)

Figura 1. Região de coleta dos espécimes de *Sciades herzbergii* na Baía de São Marcos, Maranhão, Brasil. Ilha dos Caranguejos (área de referência). Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (área potencialmente contaminada) 42

Figura 2. Fotomicrografias do segundo arco branquial direito de exemplares de *S. herzbergii* coletados em duas áreas da Baía de São Marcos, MA. A) Filamento branquial (ponta de seta) e lamelas secundárias (seta) normais, B) Hemorragia (ponta de seta) e congestão 46

Figura 3. Fotomicrografias da região intermediária do fígado de exemplares de *S. herzbergii* coletados em duas áreas da Baía de São Marcos, MA. A) Hepatócitos normais (seta); B) Dilatação dos sinusóides (seta); C) Congestão vascular (seta); D) Melanamacrófagos (Seta). Escala= 50 μ m. 47

LISTA DE FIGURAS
(CAPÍTULO II)

Fig.1. Localização das áreas amostradas na Baía de São Marcos A1 (baixo impacto e A2 (potencialmente contaminada)..... 64

Fig. 2. Fotomicrografias do segundo arco branquial direito de exemplares de *S. herzbergii* coletados em duas áreas estuarinas da Baía de São Marcos, MA. A) Lamelas secundárias normais; B) Aneurisma; C) Hiperplasia. Escala= 50µm 70

Fig. 3. Fotomicrografias da região intermediária do fígado de *S. herzbergii* coletados em duas áreas estuarinas da Baía de São Marcos, MA. A) Hepatócitos normais; B) Degeneração vacuolar; C) Dilatação dos sinusóides. Escala= 50µm. 71

LISTA DE TABELAS
(CAPÍTULO I)

Tabela 1. Índices histológicos branquiais e hepáticos de <i>Sciades herzbergii</i> coletados em duas regiões da Baía de São Marcos, São Luís – MA.....	45
Tabela 2. Dados morfométricos (média \pm desvio padrão) de <i>Sciades herzbergii</i> coletados no período chuvoso e de estiagem em dois pontos distintos da Baía de São Marcos, São Luís – MA	48
Tabela 3. Fases de desenvolvimento gonadal de <i>S. herzbergii</i> coletados na Baía de São Marcos, São Luís - MA (Brown-Peterson et al., 2011)	50
Tabela 4. Dados abióticos coletados no período chuvoso e de estiagem nos dois pontos de coleta da Baía de São Marcos, São Luís - MA	50

LISTA DE TABELAS

(CAPÍTULO II)

- Tabela 1.** Índices histológicos branquiais e hepáticos de *Sciades herzbergii* coletados em regiões estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil..... 67
- Tabela 2.** Prevalência de alterações histológicas nas brânquias de *Sciades herzbergii* coletados em áreas estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil. 69
- Tabela 3.** Prevalência de alterações histológicas no fígado de *Sciades herzbergii* capturados em áreas estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil..... 70
- Tabela 4.** Média, desvio padrão, máximo e mínimo dos valores da atividade da glutamina-S-transferase de A1 e A2 71
- Tabela 5.** Média, desvio padrão, máximo e mínimo dos valores da atividade da catalase da área de baixo impacto e potencialmente contaminada 72
- Tabela 6.** Dados morfométricos (média \pm desvio padrão) dos espécimes fêmeas de *Sciades herzbergii* coletados em áreas estuarinas da Baía de São Marcos, São Luís – MA 74
- Tabela 7.** Fases de desenvolvimento gonadal de *S. herzbergii* coletados em regiões estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil (Brown-Peterson et al., 2011) 75
- Tabela 8.** Parâmetros abióticos da água registrados nas duas regiões estuarinas (A1 e A2) durante o período chuvoso e estiagem de 2019..... 75

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Geral	19
2.2 Específicos	19
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1 Ambientes estuarinos e biomonitoramento	20
3.1.1 Contaminação aquática em áreas portuárias	21
3.2 Peixes como biomonitores	22
3.2.1 <i>Sciades herzbergii</i> como espécie biomonitora.....	23
3.3 Biomarcadores.....	26
3.3.1 Parâmetros bioquímicos	27
3.3.2 Parâmetros histológicos.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Área de estudo	31
4.2 Amostragem	33
4.3 Análises histológicas	35
4.4 Análises bioquímicas	37
4.4.1 Extração de tecidos	37
4.4.2 Ensaio bioquímico.....	38
4.5 Tratamento estatístico	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Biomarcadores histológicos em <i>Sciades herzbergii</i> (Pisces, Ariidae) para avaliação de impactos ambientais na Baía de São Marcos, Maranhão	40
5.2 Biomarcadores bioquímicos e histológicos em <i>Sciades herzbergii</i> (Siluriformes, Ariidae) para o monitoramento de áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Brasil...	61
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
REFERÊNCIAS	99

1 INTRODUÇÃO

Os estuários são ecossistemas submetidos a riscos de poluição em um ritmo preocupante devido a vários estressores antropogênicos que são liberados por fontes industriais, domésticas e difusas ligadas à agricultura (STENTIFORD et al., 2003; LIU et al., 2019). Além disso, esses ambientes são caracterizados por intensa variação de parâmetros físico-químicos da água, tais como, salinidade, pH e temperatura, o que consequentemente podem alterar a biodisponibilidade e toxicidade dos poluentes (MONSERRAT et al., 2007). Tendo em conta a complexidade da contaminação aquática nos estuários faz-se necessário o monitoramento contínuo, a fim de avaliar a situação da poluição nessas regiões costeiras, em especial a sanidade dos organismos aquáticos. Sob este aspecto, o biomonitoramento torna-se um dos principais meios para investigar os processos resultantes das interações entre as misturas de compostos, que atuam sinergicamente e antagonicamente, presentes no compartimento hídrico e a biota (PRABHAKARAN et al., 2017). Para tanto, essa técnica científica utiliza os biomonitores, compreendidos como os organismos aquáticos amostrados cuja análise de suas respostas biológicas indica graus de mudanças bioquímicas, histológicas, fisiológicas e comportamentais (ZHOU et al., 2008; RAINBOW, 1995).

Nesse sentido, os peixes têm despertado atenção em programas de biomonitoramento, uma vez que apresentam características, como tamanho corporal relativamente grande, ciclo de vida longo, posição elevada na cadeia trófica (o que reflete os processos de biomagnificação) e geralmente possuem importância econômica (LINS et al., 2010). A espécie *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) é um peixe tropical encontrado facilmente na América do Sul, e utiliza as áreas estuarinas para manutenção e reprodução, seja parcialmente ou durante todo seu ciclo de vida (ARAÚJO, 1988; BLABER, 2008).

Estudos demonstraram que o *S. herzbergii* é considerado um modelo biológico seguro para comparar sistemas aquáticos com diferentes graus de impacto (SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA, 2013; CARVALHO NETA et al., 2014; CASTRO et al., 2018). Esse recurso pesqueiro é abundante e com relevância econômica na pesca artesanal do estado do Maranhão, além de ser frequentemente capturado em uma importante Baía, localizada no Golfão Maranhense, denominada de Baía de São Marcos

(CARVALHO-NETA; CASTRO, 2008; CASTRO; CASTRO; RIBEIRO-PORTO, 2010).

A Baía de São Marcos é uma extensa zona estuarina que agrupa desde áreas protegidas até portos de alta complexidade. A atividade portuária nessa região torna a cidade de São Luís, capital do Maranhão, atrativa para indústrias que utilizam o transporte marítimo. Entretanto, esse ecossistema estuarino torna-se vulnerável a substâncias potencialmente perigosas emitidas em áreas próximas aos navios graneleiros que atracam nos principais portos, associados com a descarga de esgoto doméstico decorrente de assentamentos urbanos, muitas vezes mal planejados (CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012). Sob essas circunstâncias, a amostra tóxica presente nesse ambiente pode causar respostas distintas em diferentes níveis de organização biológica do bagre *S. herzbergii*, haja vista que esses organismos estão suscetíveis a condições desestabilizadoras em função dos contaminantes nos sedimentos (CARVALHO NETA; ABREU-SILVA, 2013). Para tal, é preciso utilizar metodologias com o propósito de analisar as respostas biológicas que se constituem efetivos biomarcadores nesses peixes.

Os biomarcadores bioquímicos têm sido propostos como ferramentas sensíveis de alerta precoce para a medição dos efeitos biológicos relacionados aos problemas ambientais iminentes (LAM; GRAY, 2003). Dentre as respostas bioquímicas, os ensaios enzimáticos envolvem uma série de etapas que podem ser rapidamente implantadas para gerar resultados passíveis de testes de campo (ZHOU et al., 2008). Desse modo, alterações nas atividades enzimáticas são propostas como bons biomarcadores em biomonitoramento aquático, como por exemplo, a catalase (CAT) utilizada para detectar respostas biológicas decorrentes do estresse oxidativo e enzimas de biotransformação da fase II, caso da glutathione S-transferase (GST), encarregada pela conjugação dos xenobióticos e a eliminação dos mesmos (SALEH; MARIE, 2016). Portanto, respostas bioquímicas têm a capacidade de identificar os potenciais mecanismos responsáveis por efeitos em níveis mais altos de organização (MONSERRAT et al., 2007).

Em um nível de organização superior, as abordagens histológicas permitem o exame de órgãos alvo e fornecem informações sobre os danos teciduais, sendo vantajosa a sua utilização, visto que reflete a posição intermediária em relação à organização biológica (SALEH; MARIE, 2016; STENTIFORD et al., 2003). As alterações

histológicas aparecem a médio prazo a estressores subletais proporcionando um método rápido para detectar efeitos de irritantes em vários tecidos e órgãos (BERNET et al., 1999).

No contexto multiestressor, a utilização de mais de um parâmetro biológico fornece uma avaliação mais abrangente e integrativa das condições ambientais anormais (SANTANA et al., 2018). Sendo assim, este estudo propõe-se a explorar uma possibilidade metodológica atualizada utilizando biomarcadores em diferentes níveis na espécie biomonitora *S. herzbergii* para comparar uma área potencialmente contaminada com locais livres de contaminação.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar biomarcadores bioquímicos e histológicos em exemplares de *Sciades herzbergii* para diagnóstico de impactos ambientais em duas áreas da Baía de São Marcos, Maranhão.

2.2 Específicos

- Analisar o uso combinado dos biomarcadores glutatona S-transferase, catalase, lesões hepáticas e branquiais em *Sciades herzbergii*;
- Avaliar a intensidade de lesões hepáticas e branquiais dos exemplares através do índice de alterações histológicas;
- Verificar as diferenças sazonais nas respostas dos biomarcadores decorrentes da exposição dos peixes aos xenobióticos;
- Descrever os parâmetros físico-químicos da água dos locais de captura de *S. herzbergii*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Ambientes estuarinos e biomonitoramento

Os estuários são ambientes aquáticos que ocupam a região de transição entre os oceanos e rios, sendo considerados ecossistemas altamente produtivos com uma grande diversidade biológica (WHITFIELD; HARRISON, 2014; CANTANHÊDE et al., 2016). A biota aquática associada a esses sistemas, em grande parte, se adaptaram as condições flutuantes dos fatores abióticos dessas regiões costeiras (FONSECA et al., 2014). Além da importância ecológica, essas áreas são locais ideais para o desenvolvimento humano, e conseqüentemente, estão sujeitas a crescentes pressões antrópicas (MADEIRA et al., 2013). Por essas razões, torna-se indispensável estudos que visem o acompanhamento contínuo da condição dos estuários, uma vez que esses ambientes são suscetíveis a estressores naturais e antropogênicos.

Nesse contexto, o monitoramento ambiental de regiões estuarinas desempenha um importante papel para descrever o estado atual desses sistemas aquáticos, evidenciando, assim, os problemas emergentes (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Segundo o Ministério do Meio Ambiente (2009) o monitoramento ambiental consiste no acompanhamento sistemático da situação dos recursos ambientais do meio físico e biótico, visando a recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental. Desse modo, essa avaliação repetida é um instrumento eficaz na gestão dos estuários, pois os dados ambientais coletados nessas áreas têm o propósito de auxiliar os gerentes quanto as tomadas de decisão. Entretanto, por serem ecossistemas dinâmicos, muitas vezes ocorre a dificuldade de reunir os resultados de campo de forma mais acessível para as partes interessadas (WHITFIELD; HARRISON, 2014). Sendo assim, a fim de avaliar a condição fundamental desses sistemas sem ter que capturar toda essa complexidade, faz-se o uso do biomonitoramento.

O biomonitoramento é um método que detecta precocemente mudanças prejudiciais no ambiente (BATISTA et al., 2014). Seu propósito é avaliar os efeitos que os agentes tóxicos exercem nos organismos aquáticos, portanto, complementa o monitoramento ambiental realizado exclusivamente através dos parâmetros físico-químicos (COSTA et al., 2008). Essa necessidade de elaborar novos métodos de avaliação da condição do ambiente aquático adveio da dificuldade que as medições físico-químicas

possuem, visto que não integram o histórico de contaminação do ambiente, especialmente aqueles oriundos de fonte difusa (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

No biomonitoramento são avaliadas as respostas biológicas dos organismos biomonitores, que são espécies empregadas em estudos, onde reúnem uma série de fatores ambientais e possíveis exposições passadas provocadas por substâncias estressoras (PRABHAKARAN et al., 2017).

3.1.1 Contaminação aquática em áreas portuárias

Os portos apresentam significativa atividade econômica tanto local quanto entre nações, porém como estão localizados próximos de áreas costeiras, representam uma ameaça crescente para esses ecossistemas (LU et al., 2018).

As áreas portuárias apresentam consideráveis perturbações nos ambientes marinho e regiões costeiras adjacentes, haja vista que essas perturbações são de origem antrópica e geram uma série de problemas ambientais, como, emissão de poluentes atmosféricos, dragagem, instalações industriais, descargas de águas residuais, vazamentos de óleo, e até introdução de espécies invasoras (CHATZINIKOLAOU et al., 2018).

A Baía de São Marcos (Brasil) é um estuário ativo caracterizada por alta produtividade primária e dominada por manguezais, que servem como locais de alimentação e reprodução para muitas espécies de animais (RODRIGUES et al., 2016). Nessa região, está inserido o segundo maior complexo portuário do país, responsável pelo desenvolvimento social e econômico do estado do Maranhão, sendo considerada uma área portuária de importância nacional e internacional (SILVA et al., 2018).

O Complexo Portuário da Baía de São Marcos compreende os seguintes terminais: Ponta da Madeira, pertencente à Vale, no qual é especializado principalmente na exportação de minérios de ferro e manganês; Terminal Portuário da Alumar, onde são descarregados carvão, bauxita e soda para a produção de alumínio ; Terminal de Ferry-Boat da Ponta da Espera, responsável pelo fluxo de passageiros entre o continente e a cidade e São Luís (Maranhão); e Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande, atualmente desativado, mas que tinha o propósito de atender à demanda do setor pesqueiro da região. Além desses terminais, existe também o porto público do Estado

conhecido como Porto de Itaqui, um dos principais portos comerciais que se destacam no cenário nacional como importante terminal graneleiro (ICMBIO, 2018).

Para dar suporte às atividades desenvolvidas na região portuária de São Luís, Maranhão, na região sul da cidade tem o distrito industrial, com áreas integradas ao sistema portuário através de ferrovias e rodovias que apresentam consideráveis instalações de indústrias (ICMBIO, 2018). Dessa maneira, o ecossistema aquático adjacente a área portuária apresenta a qualidade potencialmente comprometida devido a inúmeras substâncias químicas oriundas dos assentamentos urbanos e do fluxo de embarcações (CARVALHO NETA et al., 2014).

Nesse sentido, os compostos tóxicos lançados no ambiente aquático podem atingir áreas distantes do seu ponto inicial de descarga e afetar organismos em diferentes níveis da cadeia trófica através do processo de biomagnificação (FREIRE et al., 2008). Normalmente, os peixes tendem a acumular concentrações de substâncias químicas muito acima daquelas verificadas na água, sendo considerado, portanto, organismos de grande importância para compreender a dinâmica dos corpos hídricos (SILVA; SANTOS, 2007).

3.2 Peixes como biomonitores

Biomonitor é uma espécie selecionada em programas de biomonitoramento ou em estudos ambientais, que apresenta uma resposta quantitativa à presença de xenobióticos no ambiente. Para tanto, o táxon utilizado precisa ser abundante na área de estudo, além de ser tolerante sob condições adversas de contaminação, haja vista que as alterações em seu sistema biológico são mensuradas, a fim de avaliar a qualidade do ambiente em que vivem (O'CALLAGHAN et al., 2019).

Entre os organismos aquáticos, os peixes são comumente utilizados como modelos em programas de biomonitoramento do meio aquático (ZHOU et al., 2008). Esses organismos estão presentes em todos os sistemas aquáticos, sendo considerados suscetíveis à contaminação ambiental, pois, normalmente, possuem posição elevada na cadeia trófica, refletindo processos de biomagnificação (CARDOSO et al., 2019). Além da relevância ecológica, os peixes possuem um apelo maior com o público em geral devido seus valores econômicos e estéticos (WHITFIELD; ELLIOTT, 2002).

Por várias razões os peixes têm atraído interesse em estudos que avaliam respostas biológicas decorrentes à exposição de contaminantes ambientais e, embora apresentem

limitações, como uma mobilidade alta, são considerados organismos viáveis para o biomonitoramento (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; BALLESTEROS et al., 2017).

No ambiente aquático, os poluentes podem ser absorvidos pelos peixes por quatro vias distintas: alimentação, brânquias, ingestão de água e através da pele (HERMENEAN et al., 2015). Segundo esses autores as substâncias tóxicas em contato com o organismo, podem ser acumuladas nas brânquias, fígado, rim e intestino, tendo como resultado alterações nesses órgãos.

Nesse sentido, os efeitos adversos dos contaminantes nos peixes podem ocorrer desde efeitos letais a subletais (DUARTE et al., 2018). No geral, a poluição aquática ocorre de forma crônica, com concentrações subletais de poluentes, sendo mais comum identificar alterações estruturais e funcionais dos peixes do que a mortalidade em massa (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

3.2.1 *Sciades herzbergii* como espécie biomonitora

A espécie *S. herzbergii*, da família Ariidae, popularmente conhecida como bagre guribu é um peixe tropical facilmente encontrado na América do Sul (MARCEIUK, 2005). Os peixes dessa família constituem a base de importantes pescarias artesanais da América do Sul, visto que são abundantes em arrastos de fundo de zonas litorâneas tropicais e incluem espécies de elevada importância econômica (QUEIROGA et al., 2012).

O guribu é um organismo tolerante a salinidade, sendo geralmente abundante em águas costeiras com fundo lodoso e pouco profundas (ARAÚJO, 1988). Os estuários são importantes locais para a manutenção e reprodução de seu ciclo de vida, uma vez que procuram essas regiões na época da desova (FIGUEIREDO; MENEZES, 1978).

O período de desova dessa espécie é do tipo escalonada devido sua longa duração, especialmente nos primeiros meses do ano, sendo assim, esse amplo período reprodutivo, normalmente, se concentra na estação sazonal de maior pluviosidade (MARTINS-JURAS, 1989).

Os machos de *S. herzbergii*, assim como outros da família Ariidae, exibem cuidados parentais, nos quais demonstram comportamentos de territorialidade, guardando

e protegendo os ovos contra predadores (QUEIROGA et al., 2012). Porém, esse padrão comportamental pode ser modificado e até mesmo ausente em peixes capturados próximos aos locais impactados (CARVALHO NETA et al., 2017)

Quanto a alimentação, essa espécie possui forte especialização em crustáceos decápodes, com adaptação o ambiente estuarino (RIBEIRO; ALMEIDA; CARVALHO NETA, 2012). Contudo, essas regiões costeiras são influenciadas constantemente pela ação antrópica e como consequência podem ocorrer impactos na qualidade do ambiente, assim como, o comprometimento da sanidade desses organismos aquáticos (AZEVEDO et al., 2013).

No estado do Maranhão *S. herzbergii* ocorre nas imediações de todo o litoral, sendo caracterizado como estuarino-residente, pois todo o seu ciclo biológico é realizado nos estuários maranhenses (CARVALHO NETA; ABREU-SILVA, 2013). Estudos demonstram que esse bagre, geralmente, utiliza os igarapés da Ilha dos Caranguejos para alimentação, crescimento e reprodução. Entretanto, por se tratar de uma espécie de importância comercial na pesca artesanal do Estado, é comum que sejam encontrados e capturados em locais mais próximos das atividades antrópicas, como por exemplo, o Complexo Portuário de São Luís, responsável pela maioria das exportações e importações de mercadorias do Estado e que se encontra localizado na Baía de São Marcos (CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012).

Por ser um organismo que está associado com o sedimento do compartimento hídrico, a utilização de *S. herzbergii* torna-se promissora para avaliar a exposição e os efeitos dos compostos tóxicos - que geralmente tendem a se concentrar nos sedimentos dos ambientes hídricos – existentes na Baía de São Marcos. Por essas razões, esse táxon é considerado um modelo biológico confiável, uma vez que é apropriado para investigar cientificamente as possíveis mudanças em seus ambientes decorrentes da exposição aos contaminantes (SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA, 2013; CASTRO et al., 2018). Além do mais, ele é considerado tolerante à poluição estuarina, o que reforça seu uso no monitoramento em pontos distintos da Baía de São Marcos-MA. Sendo assim, as respostas biológicas identificadas nesses organismos, de certo modo, irão demonstrar o grau de estresse observado cuja relação está vinculada ao local em que foi capturado, subsidiando, portanto, no monitoramento ambiental dessa Baía.

Esse peixe difere dos demais bagres por apresentar características peculiares, tais como, cabeça achatada formada por uma camada óssea e revestida por uma pele grossa, maxila superior com um par de barbilhões, maxila inferior com um ou dois pares, narinas anteriores muito próximas das posteriores coberta por uma leve membrana, nadadeiras peitoral e dorsal com um espinho poderoso anteriormente de margens serreadas e a superfície do corpo recoberta por uma camada espessa de muco (FIGUEIREDO; MENEZES, 1978) (Fig.1). Atualmente, esta espécie se enquadra nas categorias taxonômicas abaixo, conforme a FISHBASE 2019.

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Superclasse: Pisces

Classe: Actinopterygii

Ordem: Siluriformes

Família: Arridae

Gênero: *Sciades*

Espécie: *Sciades herzbergii*

Figura 1. Exemplar de *S. herzbergii* (Bloch, 1794), bagre capturado na Baía de São Marcos –MA, mostrando as principais características taxonômicas que definem a espécie investigada.



Fonte: SOARES, 2018.

3.3 Biomarcadores

No biomonitoramento aquático para avaliar a qualidade do ambiente são utilizadas as respostas biológicas ou biomarcadores das espécies biomonitoras (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Essas respostas biológicas são definidas como alterações que podem ocorrer em níveis celulares, bioquímicas, moleculares ou fisiológicas medidos no sistema biológico, tais como, células, tecidos ou órgãos que são indicativos da exposição e ou efeito de xenobióticos (LIMA et al., 2018).

Por outro lado, Adams (1990) considera o termo biomarcador numa perspectiva mais ampla, na qual incluem as mudanças verificadas em níveis mais elevados da organização biológica, tal como, comunidade. No entanto, por serem considerados “sinais de alerta precoce”, normalmente nos estudos científicos, biomarcador se restringe apenas as respostas biológicas observadas em nível de sub-organismo, visto que estas tendem a preceder aquelas que ocorrem em organizações superiores (LAM, 2009).

Nesse sentido, o uso de biomarcadores é vantajoso em pesquisas ambientais, uma vez que fornece informações importantes sobre os potenciais mecanismos dos efeitos biológicos de poluentes em vez de sua mera quantificação (DALZOCHIO et al., 2017). Desse modo, sob condições de campo, os organismos aquáticos estão expostos a uma complexa mistura de substâncias presentes no ambiente. A resposta da maioria dos biomarcadores não está relacionada a exposição a um contaminante específico, mas aos efeitos sinérgicos ou antagônicos dos xenobiontes (COSTA et al., 2008). No entanto, existem determinados biomarcadores que são altamente específicos, ou seja, respondem apenas a um químico ou grupo de produtos químicos, como por exemplo, as metalotioneínas, e colinesterase (MONSERRAT et al., 2007)

Os marcadores biológicos podem ser utilizados para diversos propósitos, tais como a exposição, avaliação dos efeitos dos agentes químicos, assim como detectar a suscetibilidade individual (AMORIM, 2003). Dessa forma, podem ser classificados em três categorias: exposição, efeito e suscetibilidade (JESUS; CARVALHO, 2008).

Os biomarcadores de exposição correspondem às respostas cuja substância exógena ou seu metabólito é medida em um compartimento do organismo (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Em outras palavras, o biomarcador de exposição

“estima a dose interna, estabelecendo uma ligação entre a exposição externa - substância presente no ambiente e em contato com o organismo - e a quantidade absorvida do toxicante pelo organismo” (AMORIM, 2003). Para tanto, a autora reforça que é necessário compreender os mecanismos de ação da substância química no ambiente, assim como o tempo de permanência no indivíduo.

Os biomarcadores de efeito envolvem parâmetros biológicos mensuráveis que, no geral, não são específicos em relação aos contaminantes (PIVETTA et al., 2001). Nesse caso, tem-se as alterações bioquímicas, fisiológicas e aquelas quantificadas nos tecidos ou fluidos corporais que estão associadas a um possível comprometimento da sanidade do organismo (KROON; STRETEN; HARRIES, 2017). Para esta classe de biomarcador o ideal é selecionar o marcador biológico que mede uma alteração em um estágio reversível, pois a resposta precoce estabelecerá uma menor associação com o dano, o que o torna de caráter preventivo (AMORIM, 2003).

Os biomarcadores de suscetibilidade “indicam a habilidade adquirida ou inerente de um organismo a responder a exposição a um xenobiótico específico, incluindo fatores genéticos e mudanças que alteram a suscetibilidade de um indivíduo a uma dada exposição” (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Desse modo, são analisados os indivíduos na população que possuem alguma diferença, seja genética ou adquirida, com relação à exposição do contaminante (AMORIM, 2003; FONTAÍNHAS-FERNANDES, 2005).

Em estudos de campo, o uso de biomarcadores para caracterizar áreas estuarinas impactadas é um método promissor, pois essas regiões além de possuírem a variabilidade natural de suas condições ambientais, estão suscetíveis às misturas complexas de poluentes oriundos das atividades antrópicas (MONSERRAT et al., 2007). Sendo assim, a utilização de dois ou mais biomarcadores pode contribuir para uma melhor avaliação desses sistemas aquáticos.

3.3.1 Parâmetros bioquímicos

As primeiras mudanças detectáveis em biomarcadores são enzimas envolvidas nos processos e biotransformação e sistemas antioxidantes (COGO et al., 2009). Desse modo, os parâmetros bioquímicos detectam mais rapidamente a presença de vários compostos

tóxicos, identificando os efeitos deletérios de forma precoce, antes que estes atinjam níveis mais altos da organização biológica (MONSERRAT et al., 2007).

Em geral, os parâmetros bioquímicos são utilizados frequentemente em estudos ambientais por ser considerados como fenômenos universais, ou seja, semelhantes em uma grande variedade de organismos, em razão dos demais parâmetros e servirem de “alertas precoce” (LAM; GRAY, 2003; FONSECA et al., 2014; KUMAR et al., 2017). Dessa forma, os processos bioquímicos são medidos no nível de sub-organismo, em que se utiliza técnicas bioquímicas estabelecidas.

Entre os biomarcadores bioquímicos, a atividade de enzimas relacionadas à biotransformação e aos processos antioxidantes tem sido comumente utilizada em estudos ambientais (SOUZA et al., 2013). A Glutathione-S- transferase (GST) apresenta papel fundamental nos processos de biotransformação da Fase II (AL-GHAIS, 2013)SADAUSKAS-HENRIQUE et al., 2017). A biotransformação é um processo realizado por enzimas que catalisam compostos xenobióticos em substâncias mais solúveis em água, onde estas podem ser excretadas mais facilmente do organismo (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Esse processo de desintoxicação compreende três etapas principais que são fase I, fase II e fase III. A fase I os compostos tóxicos passam por modificações químicas, através de reações de oxidação, redução e hidrólise, sendo convertidos em formas mais polares. A fase II está envolvida na conjugação desses produtos tóxicos. É nessa fase que ocorre a participação da enzima GST, com a função de tornar os xenobióticos mais solúveis e menos tóxicos. Por sua vez, a fase III, os produtos solúveis são excretados do organismo (BAMIDELE; KOLAWOLE; AJELE, 2012; (SAMARAWEEERA et al., 2019).

Quando os organismos aquáticos estão expostos a diversos compostos químicos, enzimas de desintoxicação muitas vezes são induzidas (OJOPAGOGO et al., 2015). Sendo assim, a atuação da GST é uma importante estratégia de defesa da célula contra xenobióticos (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008).

Os processos antioxidantes formam um conjunto de biomarcadores bastante utilizados em estudos ambientais e programas de biomonitoramento, visto que estabelecem conexão entre o efeito do poluente e a alteração metabólica do organismo (BATISTA et al., 2014).

As enzimas antioxidantes são responsáveis por decompor as espécies reativas de oxigênio (ROS). Estas espécies são naturalmente produzidas pelas células, pois são produtos secundários do metabolismo do oxigênio (MADEIRA et al., 2013). De acordo com Lushchak (2011) 90% do oxigênio consumido pelos organismos é usado no transporte de elétrons e está relacionado a produção de energia, porém 10% desse oxigênio é reduzido parcialmente dando origem as espécies reativas de oxigênio.

Nesse sentido, a produção de ROS é um processo contínuo, em que a quantidade que é gerada é praticamente igual a eliminada (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Isso ocorre porque os organismos apresentam um sistema antioxidante. No entanto, a concentração de ROS pode ser alterada resultando no estresse oxidativo. Essa alteração pode ser decorrente a mudanças naturais ou antrópicas no ambiente (SADAUSKAS-HENRIQUE et al., 2017).

A enzima catalase (CAT) é uma das enzimas envolvidas na defesa contra o estresse oxidativo, sendo um componente de defesa antioxidante primário (BARBOSA et al., 2010). Ela se encontra distribuída amplamente nos tecidos biológicos, na qual está envolvida na decomposição do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (HERMENEAN et al., 2015).

A atividade da CAT torna-se relevante para o biomonitoramento, visto que apresenta elevada atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo (COGO et al., 2009). Diante disso, os biomarcadores bioquímicos, apesar de não serem específicos, indicam as primeiras mudanças detectáveis no organismo após a exposição ao contaminante, sendo, portanto, um método eficiente para avaliar a sanidade da biota aquática.

3.3.2 Parâmetros histológicos

Os parâmetros histológicos incluem respostas biológicas de órgãos específicos que evidenciam danos nos tecidos e indicam o mau funcionamento desses órgãos afetados (SOUZA et al., 2013). Esse parâmetro faz parte da categoria de biomarcadores de efeito, sendo, portanto, um método que gera dados sobre lesões em níveis teciduais, não especificando a causa da lesão (LINS et al., 2010).

Nesse sentido, as alterações histológicas aparecem a médio prazo a estressores subletais proporcionando um método rápido para detectar efeitos de irritantes em vários tecidos e órgãos (BERNET et al., 1999).

Em se tratando de ambientes aquáticos, onde os poluentes ocorrem em concentrações subletais e/ou crônicas, é mais frequente observar mudanças nas estruturas e função dos organismos que eventos de mortalidade em massa (FLORES-LOPES; MALABARBA, 2007). Desta forma, os estudos histológicos auxiliam nas informações sobre os mecanismos de ação dos agentes tóxicos em órgãos alvos de peixes, tais como, brânquias e fígado.

As brânquias desempenham papel essencial no processo de trocas gasosas e na manutenção do equilíbrio iônico e osmótico (SAKURAGUI; SANCHES; FERNANDES, 2003; LUPI et al., 2007). Entretanto, devido seu contato permanente com a água e extensa área superficial que ocupam, as brânquias funcionam como órgãos de exposição a diferentes poluentes difundidos nos ecossistemas aquáticos (ABDEL-MONEIM; AL-KAHTANI; ELMENSHAWY, 2012). Logo, acabam sendo o primeiro órgão a reagir às condições desfavoráveis (GARCIA-SANTOS et al., 2007).

Por outro lado, os poluentes podem ser transferidos para o sangue e serem transportados para o fígado (CARVALHO et al., 2012). Esse órgão está relacionado com os processos de desintoxicação de substâncias xenobióticas, sendo considerado o órgão alvo de vários compostos tóxicos (GHISI et al., 2017). Dessa maneira, o tecido hepático é o local onde a maioria dos poluentes se acumula, sendo assim, mais provável que ocorram danos a longo prazo (BATISTA et al., 2014).

Por serem órgãos alvo frequentemente utilizados em estudos de biomonitoramento, optou-se por utilizar brânquias e fígado de *S. herzbergii* nesta pesquisa, uma vez que as alterações histológicas são facilmente identificadas e, principalmente, pela ausência de estudos desse cunho na região do Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

A Baía de São Marcos está localizada no interior do Golfão Maranhense a sudoeste de São Luís na costa ocidental do Maranhão e é considerada uma região estuarina produtiva (MÍLEN, 2006). Destaca-se a relevância econômica para o litoral brasileiro, uma vez que nela se encontra instalado o Complexo Portuário do estado do Maranhão, no qual atuam aproximadamente 30 empresas responsáveis pela movimentação de cargas em nível nacional e mundial (ANTAQ, 2018).

O Complexo Portuário e Industrial de São Luís apresenta como principais portos comerciais o Porto de Itaqui, sob gestão da Empresa Maranhense de Administração Portuária/EMAP, e o Terminal Marítimo de Ponta da Madeira, terminal privativo pertencente a VALE (ICMBIO, 2018). Além desses principais portos existem outras instalações portuárias vinculadas ao transporte de veículos e passageiros e à atividade pesqueira, tal como, o Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (EMAP, 2018).

O Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande foi construído pelo governo do estado do Maranhão, com a finalidade de atender a demanda do setor pesqueiro, entretanto, devido ao mau gerenciamento, esse terminal foi desativado (ICMBIO, 2018). Ele está inserido ao sul do Porto de Itaqui, no qual possui uma localização privilegiada e com grande potencial para o desenvolvimento econômico do Maranhão. Por essa razão, pode ser utilizado como um terminal de apoio nas operações do Itaqui, de forma a complementar e dar suporte às embarcações de pequeno porte (EMAP, 2018).

É importante ressaltar que a atividade portuária na Baía de São Marcos pode causar grandes impactos para o ambiente, visto que os navios graneleiros que atracam nos portos comerciais transportam diversos produtos, como, minério de ferro, combustíveis, soda cáustica, bauxita e outros granéis (CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012). Desse modo, essas substâncias podem comprometer a sanidade dos organismos aquáticos, em especial os peixes, que quando capturados próximo aos locais contaminados, traz risco à saúde pública.

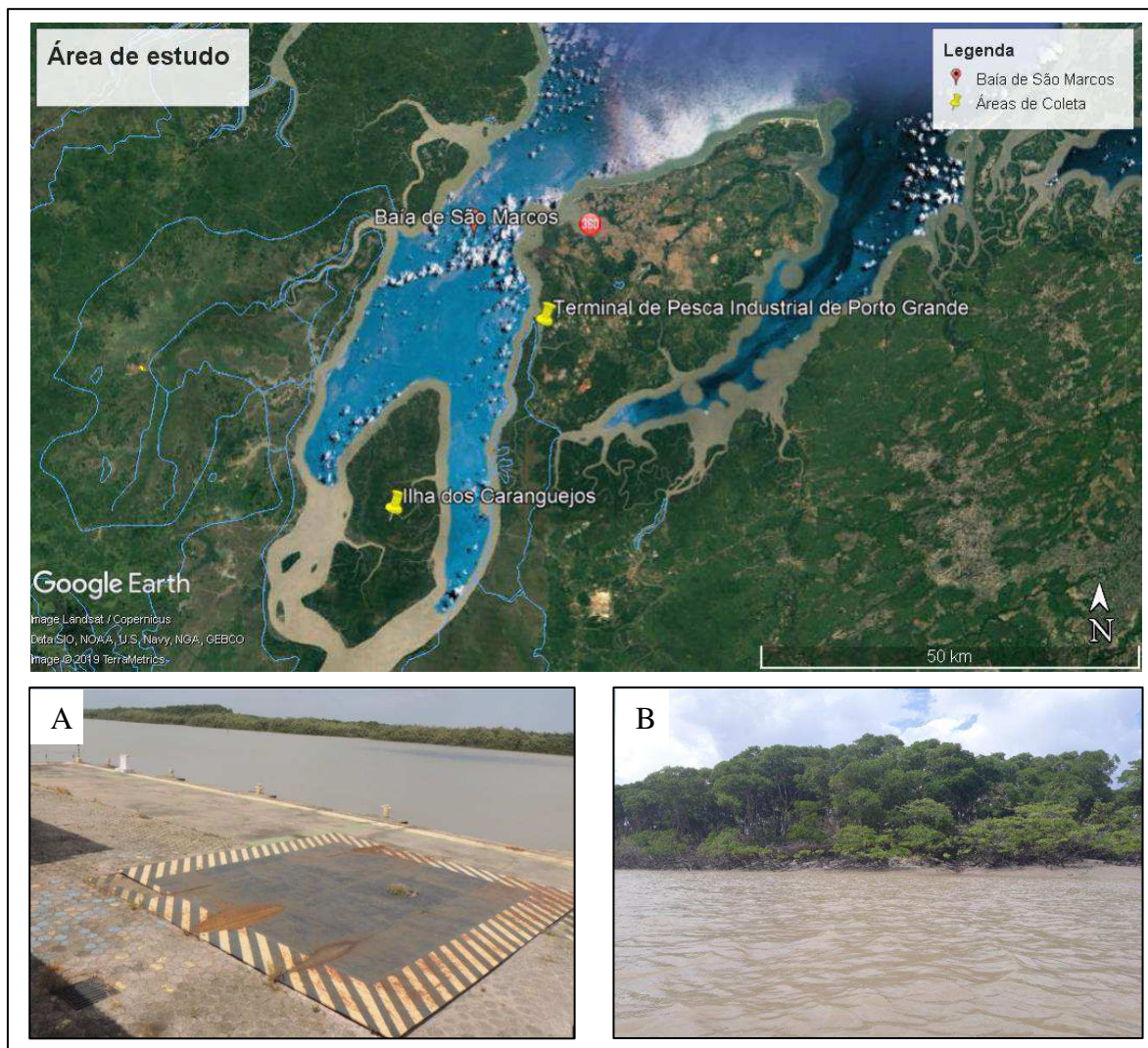
Nesse contexto, os aspectos mencionados permitem considerar a região do Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande como uma área potencialmente contaminada, haja vista que está sob influência do Complexo Portuário de São Luís,

inserindo-se nas proximidades do Porto de Itaqui. Dessa maneira, essa área será denominada neste estudo de região portuária.

A área selecionada como referência foi a Ilha dos Caranguejos localizada a oeste da Baía de São Marcos a cerca de 30km da cidade de São Luís, Maranhão, sendo considerada a segunda maior ilha do Estado (MARANHÃO, 2018). Esse ambiente desabitado encontra-se sob influência do Rio Mearim, e é classificado como uma região de médio estuário (BRASIL, 2008). É uma área legalmente protegida por legislação estadual, visto que em associação com 22 municípios da Baixada Maranhense, a Ilha dos Caranguejos, situada no município de Cajapió, faz parte de uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável, a Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense (CARVALHO-NETA; CASTRO, 2008).

A Ilha dos Caranguejos não recebe interferências humanas diretas, sendo uma região dominada por extensos manguezais que abriga uma diversidade de organismos aquáticos que utilizam esse ambiente para se alimentar e reproduzir durante seu ciclo de vida. Por esse motivo, essa área tem sido bastante utilizada por pescadores artesanais das cidades de São Luís e Cajapió (CARVALHO NETA; ABREU-SILVA, 2013) (Fig.2).

Figura 2. Áreas de coleta na Baía de São Marcos, Maranhão. A) Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande; B) Ilha dos Caranguejos.



Fonte: Adaptado pela autora a partir de imagens do Google Earth e imagens de campo, 2018.

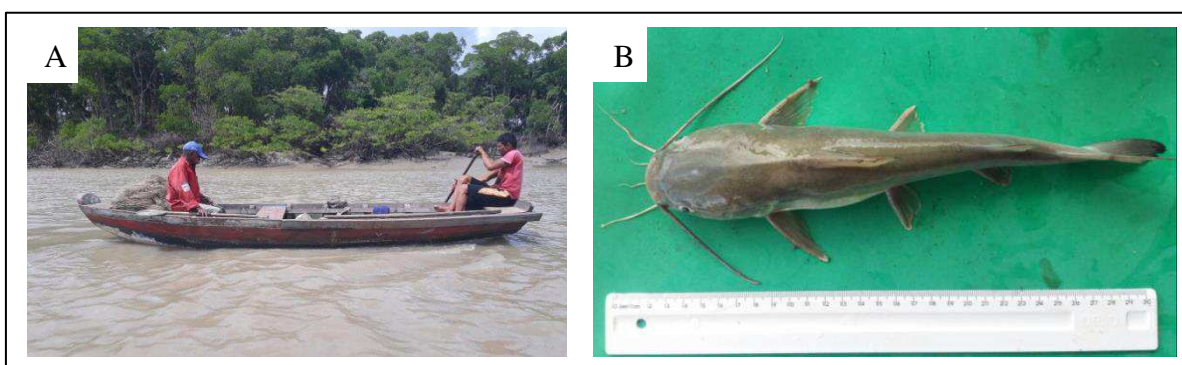
4.2 Amostragem

O protocolo de coleta em campo e procedimentos laboratoriais deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética institucional da Universidade Estadual do Maranhão (01/2018) e cumpriu com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal/ Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório - SBCAL/COBEA (SBCAL/COBEA, <http://www.sbc.org.br>). A licença ambiental foi obtida junto ao órgão gestor da Unidade de Conservação, Secretaria Estadual de Meio Ambiente e Recursos Naturais – SEMA (015/2019). Dessa maneira, as coletas de exemplares de *Sciades herzbergii* foram realizadas em dois períodos sazonais dos anos de 2018 e 2019,

compreendendo os seguintes meses: março, considerado um dos meses da estação chuvosa, e julho, início da estiagem. Em cada área (região portuária e área de referência) foram amostrados 10 espécimes por coleta. No total foram coletados 80 organismos, sendo 38 fêmeas e 42 machos.

Os peixes foram capturados com a ajuda de pescadores artesanais, em que utilizaram como principais apetrechos de pesca a rede de espera, espinhéis e armadilhas fixas (Fig.3).

Figura 3. Pescadores artesanais na embarcação utilizada para a captura dos peixes; B) *Sciades herzbergii* capturados nas áreas de estudo.



Em campo, para cada espécime de *S. herzbergii*, registrou-se os dados morfométricos com o auxílio de ictiômetro e balança digital. Tais dados consistiram em: comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento furcal (CF) em cm, além do peso total (PT) em g. Depois de medidos e pesados, os peixes foram eutanasiados por secção cervical e abertos através de incisão vertical para observação e classificação macroscópica das gônadas, diferenciando-os em machos e fêmeas. Para tanto, considerou-se as seguintes fases de desenvolvimento gonadal dada por Brown-Peterson et al. (2011): Fase I (imatura), Fase II (desenvolvimento), Fase III (desova) Fase IV (regressão) e a Fase V (regeneração).

Após essas etapas o fígado de cada exemplar foi removido com auxílio de pinças e tesouras esterilizadas. Em seguida, uma parte desse órgão foi imediatamente colocado em tubos de Eppendorf e congelado em nitrogênio líquido a -80°C . Essas amostras ficaram congeladas até o momento das análises enzimáticas. A outra parte foi fixada em solução de formalina a 10% durante 24 horas, assim como os arcos branquiais do lado direito de cada organismo, que foram utilizados para o processamento histológico usual.

Posteriormente, os materiais biológicos foram transportados ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos da Universidade Estadual do Maranhão.

Paralelo à captura dos peixes, em cada local de amostragem, os pontos foram georreferenciados por GPS (*Global Position System*) e os dados *in situ* de temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido foram obtidos com auxílio do monitor multiparâmetro (SX751 – SANXIN).

4.3 Análises histológicas

Para as análises histológicas, o fígado e as brânquias de cada exemplar de *S. herzbergii* foi retirado do formol após sua fixação durante 24 horas. Posteriormente, o segundo arco branquial direito foi descalcificado em ácido nítrico a 10% por 6 horas. Em seguida, as amostras hepáticas e branquiais foram desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizado em xilol, impregnado e incluído em parafina. Depois foram realizados cortes transversais do material em micrótomo rotativo com navalhas de aço, na espessura de 5 μm . Após esse processo, os cortes foram dispostos em lâminas de vidro para microscopia óptica e deixados na estufa a 40°C durante 24 horas. Essa etapa é fundamental para que ocorra a secagem e fixação do material, e por fim liberados para coloração. Esse procedimento consistiu na coloração diferencial entre núcleo e citoplasma através dos corantes Hematoxilina e Eosina (HE) (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010). Foram analisados quatro cortes para cada órgão de cada animal. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando-se as objetivas de 10x, 20x e 40x e as lesões identificadas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEIS.

Para a obtenção dos índices histológicos de brânquias e fígado, as alterações encontradas foram avaliadas semi-quantitativa de acordo com o sistema de pontuação de Bernet et al. (1999). Dessa forma, cada alteração histológica foi classificada em um dos quatro padrões de reação: distúrbio circulatório (Rp_1) que correspondem a condições patológicas no fluxo sanguíneo e tecidual; mudanças regressivas (Rp_2) que são processos que causam diminuição funcional ou perda de um órgão; mudanças progressivas (Rp_3) correspondem a processos que levam ao aumento da atividade celular ou tecidual; e resposta inflamatória (Rp_4) que são processos inflamatórios associados a outros padrões de reação. Cada alteração observada recebeu um fator de importância, que é o potencial

da alteração para afetar a sanidade dos peixes. Esse fator de importância (W) varia de 1 a 3, em que 1 é uma alteração reversível; 2 a alteração é reversível se o estressor é neutralizado; e 3 alteração irreversível. Além disso, é atribuído um valor que corresponde à extensão de cada lesão ao longo do tecido, onde 0 (não observado); 2 (ocorrência leve); 4 (ocorrência moderada) e 6 (ocorrência grave). Sendo assim, o fator de importância e o valor de extensão da lesão foram multiplicados para gerar um índice que corresponde a uma alteração específica num determinado órgão. Em seguida, os índices para cada alteração dentro de um padrão de reação foram somados para dar um índice por padrão de reação ($IH_{org. Rp}$).

1. Índice por padrão de reação ($I_{org. rp}$)

$$I_{org. rp} = \sum alt ({}^a_{org. rp. alt} \times {}^w_{org. rp. alt})$$

Onde: org. = órgão; rp. = padrão de reação; alt. = alteração; a = valor de extensão; w = fator de importância.

Os índices para cada padrão de reação de um órgão foram somados para fornecer um índice geral do órgão ($IH_{brânquias}$ = índice histológico das brânquias; $IH_{fígado}$ = índice histológico de fígado). Para determinar o estado geral da sanidade dos peixes com base nas lesões histológicas, um índice histológico total (IH_{total}) foi calculado pelo somatório de índices branquiais e hepáticos de cada organismo. Sendo assim, quanto maiores os valores dos índices, mais severamente os órgãos foram afetados. A Tabela 1 lista os padrões de reação e suas alterações específicas para brânquias e fígado.

Tabela 1. Alterações histológicas com seus respectivos fatores importância de brânquias e fígado para cada padrão de reação (BERNET et al., 1999).

Padrão de reação	Órgão/alteração histológica	W
1. Distúrbios circulatórios	Brânquias	
	Hemorragia	1
	Congestão vascular	1
	Aneurisma	1
	Fígado	
	Hemorragia	1
2. Mudanças regressivas	Congestão vascular	1
	Dilatação dos sinusóides	1
	Brânquias	
	Levantamento epitelial	1
	Fusão lamelar	1
	Desorganização lamelar	1

	Encurtamento lamelar	1
	Necrose	3
	Fígado	
	Degeneração vacuolar	1
	Desorientação do tecido	1
	Microesteatose	1
	Necrose	3
3. Mudanças progressivas	Brânquias	
	Hiperplasia	2
	Fígado	
	Hiperplasia	2
	Hipertrofia	1
	Macroesteatose	2
4. Resposta inflamatória	Fígado	
	Melanomacrófagos isolados	1
	Centros de melanomacrófagos	2

W = fator de importância; 1 (alteração reversível); 2 (alteração moderada); 3 (alteração irreversível).

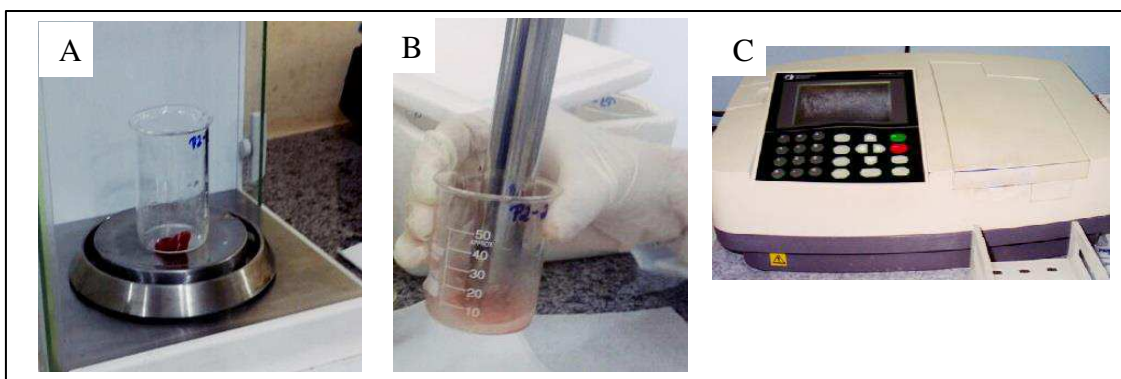
A prevalência de cada alteração foi calculada como uma ocorrência percentual de uma alteração em todos os peixes amostrados das duas áreas de estudo, segundo Bernet et al. (1999): prevalência de alteração histológica = nº peixes com a alteração/ nº total de peixes de uma amostra, multiplicado por 100. Associado aos índices histológicos calculados, a prevalência de cada alteração permite uma estimativa da ocorrência de lesões em um determinado estoque ou população.

4.4 Análises bioquímicas

4.4.1 Extração de tecidos

As amostras de fígado dos peixes foram pesadas (1g), homogeneizadas em uma solução tampão fria contendo Tris-HCl 50mM, KCl 0,15M, pH 7,4 na proporção de 1:4. Posteriormente, os homogeneizados foram centrifugados a 9000 x g durante 30min a 4°C para separar os restos celulares. Em seguida, retirou-se 1000µl do sobrenadante, no qual foi dividido em alíquotas e armazenados em nitrogênio líquido a -80°C. Esse material foi utilizado para a análise das atividades enzimáticas: catalase (CAT) e glutathione- S-Transferase (GST). O restante do sobrenadante foi centrifugado a 37 000 x g durante 60min a 4°C, de modo a obter a fração citosólica para a determinação de proteínas totais. (Fig. 4).

Figura 4. Procedimentos realizados em laboratório para a análise bioquímica. A) pesagem do fígado de cada exemplar de *S. herzbergii*; B) homogeneização do material biológico; C) leitura em espectrofotômetro.



4.4.2 Ensaio bioquímicos

Todos os ensaios bioquímicos foram medidos por espectrofotometria. Desse modo, a atividade da catalase (CAT) foi quantificada a 240nm pela taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), conforme o método de Beutler (1975). O método é baseado na degradação de H_2O_2 pela ação da CAT contida nas amostras examinadas. Uma unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima que diminui a concentração de H_2O_2 em 50% em 100s a 25°C. A atividade da CAT é expressa como U/mg de proteína.

A atividade da glutathione-S-transferase (GST) foi determinada pelo aumento da absorvância a 340nm, de acordo com o método de Keen, Habig e Jakoby (1976) e modificado por Camargo e Martinez (2006) Camargo e Martinez (2006), utilizando-se glutathione reduzida (GSH) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substratos, em tampão fosfato de potássio (0,1M), pH 7,0. Esse método é baseado na reação de CDNB ao grupo -SH de GSH catalisado pela GST contida nas amostras. O ensaio foi conduzido monitorizando a aparência do complexo conjugado de CDNB e glutathione a 340 nm. A atividade de GST é expressa como $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$ de proteína. A dosagem de proteínas foi quantificada em um espectrofotômetro a 540 μm .

4.5 Tratamento estatístico

Os dados obtidos (parâmetros abióticos, morfometria, histológicos e enzimáticos) foram submetidos ao teste de normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$). Posteriormente, foi aplicado o teste t de Student, com o uso do

software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., 2005, Tulsa, OK, EUA), para determinar diferenças significativas entre os grupos (área portuária e área de referência) e apenas $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa são apresentados em forma de dois artigos, sendo que:

- a) Capítulo I – corresponde a um artigo que foi submetido e aceito pelo periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, destacando-se os biomarcadores histológicos na espécie de peixe *Sciades herzbergii* capturada na Baía de São Marcos, Brasil, em dois períodos sazonais (chuvoso e estiagem) de 2018;
- b) Capítulo II - resultados referentes as análises bioquímicas dos meses de março e julho referente aos anos de 2018 e 2019, assim como os dados histológicos de 2019 que será submetido ao periódico Environmental Science and Pollution Research.

5.1 Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) para avaliação de impactos em ambientes estuarinos da Baía de São Marcos, Maranhão

[Biomarkers histological in *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) for impact assessment in estuarine environments of São Marcos Bay, Maranhão]

S.H.C.Souares^{1*}; D.B.P.Sousa²; W.S.Batista¹; R.N.F.Carvalho-Neta¹

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão e-mail:

sameasoares12@gmail.com*

²Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - Rede BIONORTE, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão

Resumo

Neste estudo objetivou-se avaliar o impacto ambiental em áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Maranhão, utilizando alterações histológicas nas brânquias e fígado de *Sciades herzbergii* como biomarcadores de contaminação aquática. Foram realizadas coletas no período chuvoso (Março de 2018) e de estiagem (Julho de 2018), em que foram capturados 40 exemplares de *S. herzbergii* em duas regiões distintas da Baía de São Marcos: A1) Ilha dos Caranguejos (área referênciada); A2) Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (área potencialmente contaminada). As estações foram georreferenciadas por GPS e em cada local de captura dos peixes registraram-se as seguintes variáveis abióticas: temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido. Em campo, os organismos foram pesados e medidos e as brânquias e fígados foram retirados e fixados. Posteriormente, foram mantidas em álcool a 70% até o procedimento histológico padrão. Resultados indicam que as duas áreas são semelhantes em termos de características físico-químicas da água e do sedimento. Todavia, a análise semi-quantitativa das alterações histológicas observadas revelou que as brânquias foi o órgão mais afetado nos peixes de A2, indicando que os peixes desse local apresentam danos teciduais maiores resultantes de estresse acentuado por impactos antrópicos.

Palavras-chave: alterações histológicas, brânquias, estuário, fígado, peixe.

*Este artigo foi submetido e aceito pelo periódico **Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Revista classificada com qualis **B2** na área de avaliação em **Zootecnia/Recursos Pesqueiros**.

Abstract

This study aimed to evaluate the environmental impact in estuarine areas of São Marcos Bay, Maranhão, using histological changes in the gills and liver of *Sciades herzbergii* as biomarkers of aquatic contamination. Samples were collected during the rainy season (March 2018) and dry (July 2018), in which 40 specimens of *S. herzbergii* were captured in two distinct regions of the São Marcos Bay: A1) Crab Island (reference area); A2) Porto Grande Industrial Fishing Terminal (potentially contaminated area). The stations were georeferenced by GPS and at each fish capture site the following abiotic variables were recorded: temperature, salinity, pH and dissolved oxygen. In the field, the organisms were weighed and measured and the gills and livers removed and fixed. Afterwards, they were kept in 70% alcohol until the standard histological procedure. Results indicate that the two areas are similar in terms of physicochemical characteristics of water and sediment. However, the semi-quantitative analysis of the observed histological alterations revealed that the gills were the most affected organ in A2 fish, indicating that the fish of this site have greater tissue damage resulting from stress accentuated by anthropic impacts.

Keywords: histological changes, gills, estuary, liver, fish.

Introdução

Os estuários são ecossistemas de elevada importância ecológica e socioeconômica, uma vez que são utilizados como vias de acesso para o interior do continente (Pereira Filho *et al.*, 2003). No entanto, devido sua proximidade com a costa, esses ambientes estão submetidos a riscos de poluição em um ritmo preocupante decorrente da emissão de vários estressores antropogênicos liberados por fontes industriais e domésticas (Stentiford *et al.*, 2012). Portanto, é necessário o monitoramento contínuo para avaliar a situação de contaminação nessas regiões costeiras, em especial a saúde dos peixes que integram todo o histórico de poluição do ambiente aquático (Pinheiro Sousa *et al.*, 2019).

Nesse contexto, o biomonitoramento torna-se um dos principais meios para investigar os processos resultantes das interações entre as misturas de substâncias tóxicas e a biota, que atuam sinergicamente e antagonicamente no compartimento hídrico

(Prabhakaran *et al.*, 2017). Para tanto, essa abordagem científica utiliza os biomonitores, compreendidos como os organismos aquáticos amostrados cuja análise de suas respostas biológicas ou biomarcadores indica graus de mudanças nos diferentes níveis da organização biológica (Rainbow, 1995). Os biomarcadores histológicos têm sido propostos como uma excelente metodologia de monitoramento para avaliar a sanidade dos organismos aquáticos, visto que as alterações histológicas aparecem a médio prazo a estressores subletais; essa abordagem proporciona um método rápido para detectar efeitos de irritantes em vários tecidos e órgãos (Bernet *et al.*, 1999), especialmente em espécies aquáticas nativas de ambientes tropicais (Carvalho Neta *et al.*, 2019; Pinheiro Sousa *et al.*, 2019).

No Brasil, vários estudos demonstraram a utilidade de metodologias que utilizam biomarcadores histológicos com o intuito de avaliar efeitos biológicos de contaminantes em espécies capturadas em águas costeiras (Sousa *et al.*, 2013; Sardi *et al.*, 2016). Nas regiões Norte e Nordeste, pesquisas dessa abrangência são crescentes, principalmente em áreas próximas a instalações portuárias (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Castro *et al.*, 2018; Castro *et al.*, 2019). Além disso, frequentemente, tem-se observado que os peixes são selecionados como importantes modelos biológicos, com a finalidade de investigar as respostas biológicas desses organismos resultantes das interações com os xenobióticos. No Maranhão, a espécie de bagre estuarino *Sciades herzbergii* é recurso pesqueiro abundante e de relevância comercial na pesca artesanal do Estado, sendo, normalmente, capturado em uma extensa Baía, localizada no Golfão Maranhense, denominada de Baía de São Marcos, onde estão inseridas áreas protegidas por lei, mas também portos de alta complexidade, historicamente impactados por metais pesados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Fortes Carvalho Neta *et al.*, 2016; Fortes Carvalho Neta *et al.*, 2019). Esses estudos devem ser contínuos e envolver outras áreas de amostragem dos peixes, a fim de verificar a extensão dos impactos causados pelos empreendimentos portuários da região, subsidiando ações de gestão ambiental. Assim, no presente trabalho, objetivou-se avaliar o impacto ambiental em áreas da Baía de São Marcos utilizando alterações histológicas nas brânquias e fígado de *Sciades herzbergii* como biomarcadores de contaminação aquática.

Materiais e Métodos

O protocolo de coleta em campo e procedimentos laboratoriais deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética institucional da Universidade Estadual do Maranhão (01/2018) e cumpriu com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal/ Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório - SBCAL/COBEA (SBCAL/COBEA, <http://www.sbcal.org.br>). A licença ambiental foi obtida junto ao órgão gestor da Unidade de Conservação, Secretaria Estadual de Meio Ambiente e Recursos Naturais – SEMA (015/2019). Foram capturados 40 espécimes de *Sciades herzbergii* em duas áreas distintas da Baía de São Marcos, Maranhão (Fig.1) no período de março e julho de 2018. A Ilha dos Carangueijos (A1 = 2°50'261" S/44°30'614" O), foi utilizada como área de referência por ser um local desabitado que não apresenta instalações urbanas e industriais, e está inserida em uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável denominada de Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense (APA). A região de influência do Complexo Portuário de São Luís, Maranhão, conhecida como Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (A2 = 2°45'775" S/44°21'285" O) foi considerada uma área potencialmente contaminada, por estar localizada próximo ao Porto do Itaqui, onde este apresenta um grande fluxo de embarcações e desembarques que atendem às cargas gerais e derivados de petróleo do Estado.

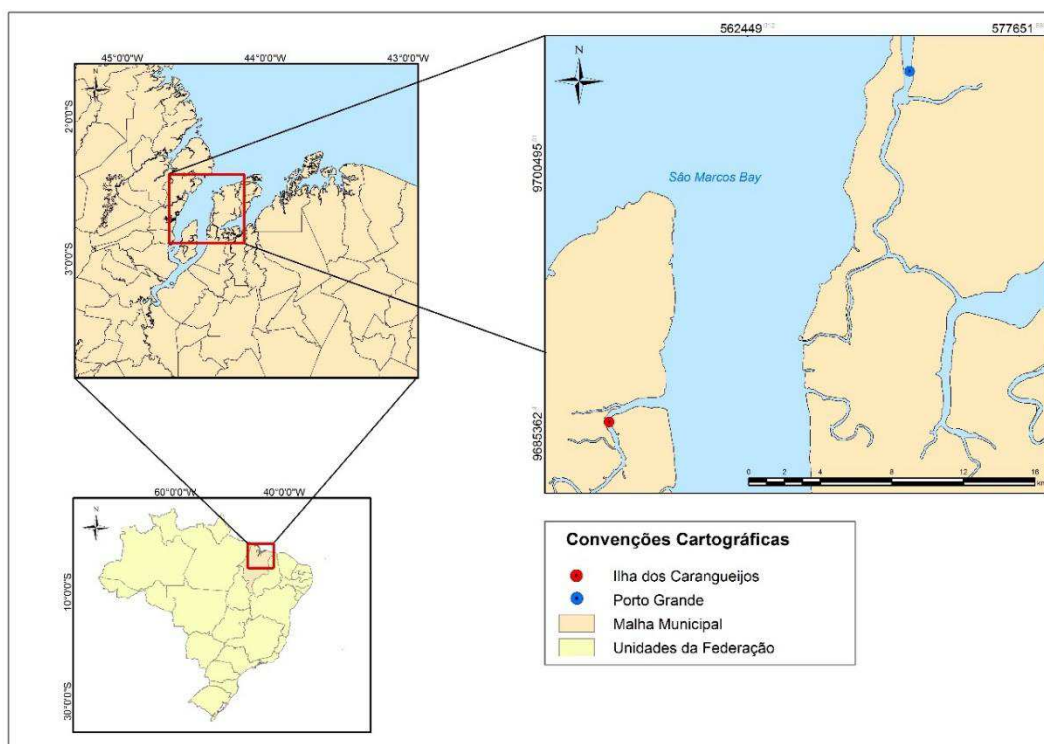


Figura 1. Região de coleta dos espécimes de *Sciades herzbergii* na Baía de São Marcos, Maranhão, Brasil. Ilha dos Caranguejos (A1 - área de referência). Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (A2 - área potencialmente contaminada).

Nos locais de coleta foram aferidos os dados de salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido com auxílio de equipamento multiparâmetro (SX751 – SANXIN). Dos exemplares de *S. herzbergii* amostrados foram registrados os dados morfométricos de comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento furcal (CF) em centímetro e peso total (PT) em grama. Depois de medidos e pesados, os peixes foram eutanasiados por secção da medula espinhal, conforme anexo 1 da Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária N° 1000/2012 (CFMV, 2012). Posteriormente, os exemplares foram abertos através de incisão vertical para observação e classificação macroscópica das gônadas. A identificação de machos e fêmeas foi feita de acordo com Brown-Peterson *et al.* (2011). Posteriormente, foram retiradas as brânquias e o fígado de cada peixe, as quais foram fixadas em solução de formalina a 10% durante 24 horas e mantidas em álcool 70%. O segundo arco branquial direito foi descalcificado em ácido nítrico a 10% por seis horas. Em seguida, foi realizado o processamento histológico padrão que consistiu na desidratação crescente em álcoois, diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina (Caputo *et al.*, 2010). Para o procedimento histológico Cortes transversais de aproximadamente 5 μm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando as objetivas de 10x, 20x e 40x e as lesões identificadas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEIS.

As alterações histológicas branquiais e hepáticas foram avaliadas de forma semi-quantitativa de acordo com o sistema de pontuação de Bernet *et al.* (1999). Cada alteração histológica foi classificada em um dos quatro padrões de reação: distúrbio circulatório (Rp_1) que correspondem a condições patológicas no fluxo sanguíneo e tecidual; mudanças regressivas (Rp_2) que são processos que causam diminuição funcional ou perda de um órgão; mudanças progressivas (Rp_3) correspondem a processos que levam ao aumento da atividade celular ou tecidual; e resposta inflamatória (Rp_4) que são processos inflamatórios associados a outros padrões de reação. No final, foram gerados índices para cada padrão de reação de um órgão ($IH_{org. Rp}$), nos quais foram utilizados para fornecer um índice geral do órgão ($IH_{brânquias}$ = índice histológico das brânquias; $IH_{fígado}$ = índice histológico de fígado). E por último, para determinar o estado geral da

sanidade dos peixes com base nas lesões histológicas, um índice histológico total (IH_{total}) foi calculado pelo somatório de índices branquiais e hepáticos de cada organismo. Logo, quanto maiores os valores dos índices, mais severamente os órgãos foram afetados.

Os dados obtidos (parâmetros abióticos, morfometria, histológicos) foram submetidos ao teste de normalidade através do teste de Kolmogorov- Smirnov ($p < 0,05$). Posteriormente, foi aplicado o teste t de Student, com o uso do software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., 2005, Tulsa, OK, EUA), para determinar diferenças significativas entre os grupos (área de referência e área portuária) e apenas $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados e Discussão

Os índices histológicos das brânquias variaram entre as áreas de coleta (Tab.1). Os valores de $IH_{brânquias, Rp2}$ foram maiores na Região Portuária, da mesma forma que $IH_{brânquias, Rp3}$. Essas médias apresentaram diferenças significativas entre os locais de amostragem, com $p = 0,015$ e $p = 0,019$, respectivamente. Porém, essa diferença não foi observada entre os períodos sazonais. Em relação ao padrão de reação que inclui as respostas inflamatórias (R_{p4}), não foram encontradas alterações branquiais.

As alterações histológicas dos padrões regressivos e progressivos contribuíram com os maiores valores da média do $IH_{brânquias}$, ou índice do órgão, da Região Portuária ($p = 0,04$), evidenciando, portanto, que os peixes desse local experimentam danos maiores decorrente de um elevado estresse. Resultados similares foram encontrados por Rautenberg *et al.* (2014), ao estudar biomarcadores histológicos em *Gambusia affinis* coletados em diferentes pontos na bacia do rio Suquia, Argentina. Os autores verificaram que os danos histológicos nessa espécie tiveram relação com os efeitos combinados de vários contaminantes na água do rio, em especial, os metais pesados, e que as brânquias dos indivíduos capturados nos locais de amostragem, inclusive a área considerada como referência, apresentaram alterações histológicas.

Entre os índices histológicos hepáticos calculados para os peixes capturados na Baía de São Marcos, somente o $IH_{fígado, Rp1}$ foi significativamente diferente entre os períodos de coleta, apresentando os maiores valores na estação chuvosa ($p = 0,02$). Segundo Qualhato *et al.* (2018), as alterações circulatórias são respostas das células sanguíneas a agentes tóxicos e normalmente estão associadas as respostas inflamatórias. Esses autores detectaram diversas lesões do padrão R_{p1} e R_{p4} no fígado da espécie

Poecilia reticulata submetidas em teste de toxicidade aguda, em que foi exposta a nanopartículas de óxido de ferro.

Lesões hepáticas características do padrão de reação de mudanças progressivas (Rp₃) não foram detectadas. As maiores médias dos padrões de reação de alterações hepáticas compreenderam as do tipo mudanças regressivas, sugerindo que essas lesões correspondem a processos que causam a perda funcional do órgão. No entanto, não houve diferença significativa entre essas alterações para ambas as áreas de coleta. Do mesmo, ocorreu para o padrão Rp₄. Sendo assim, esses resultados influenciaram no valor do índice do órgão (IH _{fígado}), em que não houve diferença estatística entre as médias das regiões de estudo. Por último, o índice histológico total (IH _{total}) mostrou valores significativamente maiores na região portuária, apresentando um padrão de variação semelhante ao IH _{brânquias}, o que confirma que os peixes amostrados nessa região sofrem um tipo de estresse mais grave (Tab.1).

Tabela 1. Índices histológicos branquiais e hepáticos de *Sciades herzbergii* coletados em regiões estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Maranhão.

Índices histológicos	Locais de amostragem			
	A1		A2	
	Chuvoso	Estiagem	Chuvoso	Estiagem
IH _{brânquias} / Rp.1	2,33 ± 0,81	2,28 ± 0,75	2,36 ± 0,8	2,8 ± 1,09
IH _{brânquias} / Rp.2	4,33 ± 3,44 ^a	6 ± 3,16 ^a	8,8 ± 2,28 ^b	8,8 ± 3,03 ^b
IH _{brânquias} / Rp.3	5,6 ± 4,56 ^a	8 ± 3,26 ^a	10,4 ± 3,57 ^b	9,6 ± 3,57 ^b
IH _{brânquias} / Rp.4	NE	NE	NE	NE
IH _{fígado} / RP.1	2 ± 0 ^c	2 ± 0	2,36 ± 0,8 ^d	2 ± 0
IH _{fígado} / Rp.2	2,5 ± 1	3 ± 1,15	3,16 ± 0,98	4 ± 0
IH _{fígado} / Rp.3	NE	NE	NE	NE
IH _{fígado} / Rp.4	2,85 ± 1,06	3 ± 1,41	2,57 ± 0,97	2,85 ± 1,06
IH _{brânquias}	22,6 ± 7,57 ^a	26 ± 8,71 ^a	40,6 ± 13,31 ^b	35,3 ± 18,58 ^b
IH _{fígado}	18 ± 7,21	11,33 ± 5,03	21 ± 4,35	17,33 ± 2,3
IH _{total}	24,4 ± 8,76 ^a	22,4 ± 10,71 ^a	37 ± 3,16 ^b	31,6 ± 9,42 ^b

Valores expressos como média ± desvio padrão. A1 (área referência); A2 (área potencialmente impactada); IH: índice histológico; Rp1: padrão de reação 1 (distúrbios circulatórios); Rp2: padrão de reação 2 (mudanças regressivas); Rp3: padrão de reação 3 (mudanças progressivas); Rp4: padrão de reação 4 (respostas inflamatórias); NE: não encontrado. Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os locais de amostragem (“a”/”e”) e períodos sazonais (“c”/”d”).

Apesar de não poder relacionar as alterações histológicas encontradas nesta pesquisa à presença de contaminantes específicos, verifica-se que as respostas biológicas da espécie *S. herzbergii* reflete diferentes níveis de estresse em regiões distintas da Baía

de São Marcos (Fig.2 e 3). As alterações identificadas diferenciaram claramente os dois ambientes analisados, sendo que os peixes da região portuária apresentaram um padrão de sanidade comprometido. A Ilha dos Caranguejos permanece sendo uma área de referência mediante a justificativa de não apresentar instalações urbanas e industriais nas suas proximidades. Entretanto, os resultados obtidos nesta pesquisa apontam que esse local não se encontra isento de impactos, que podem ter influência antrópica, porém em menor escala.

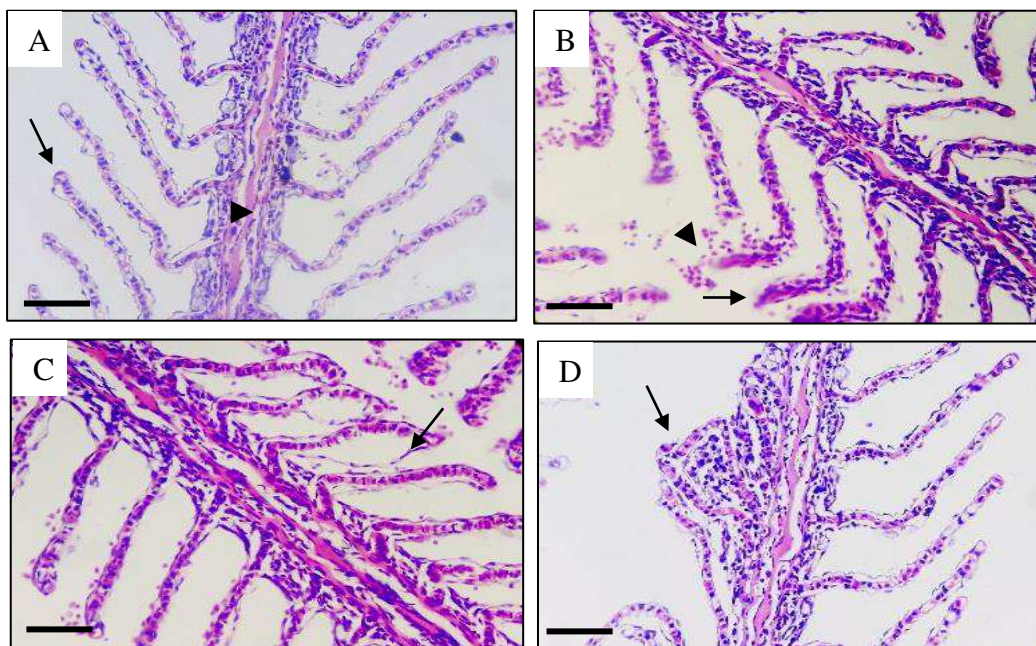


Figura 2. Fotomicrografias do segundo arco branquial direito de *S. herzbergii*. A) Filamento branquial (ponta de seta) e lamelas secundárias (seta) normais, B) Hemorragia (ponta de seta) e congestão vascular (seta); C) Levantamento epitelial (seta); D) Fusão lamelar. Escala= 50 μ m.

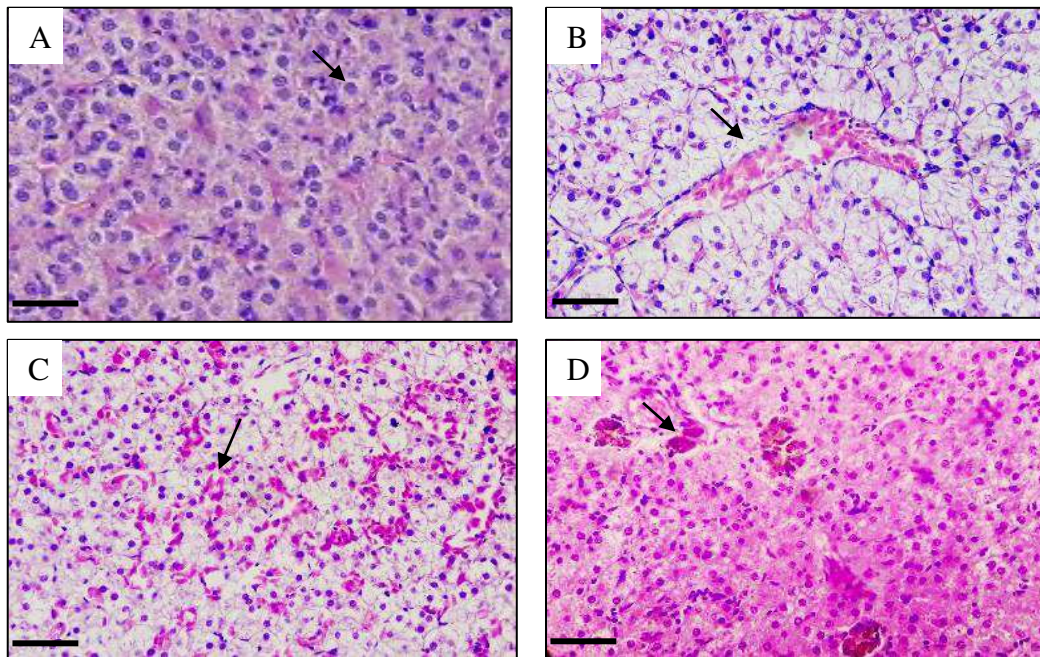


Figura 3. Fotomicrografias da região intermediária do fígado de *S. herzbergii*. A) Hepatócitos normais (seta); B) Dilatação dos sinusóides (seta); C) Congestão vascular (seta); D) Melanomacrófagos (seta). Escala= 50 μ m.

As brânquias dos peixes estão em contato direto com a água, desempenhando papéis importantes nos processos de respiração e manutenção do equilíbrio iônico e osmótico (Saleh e Marie, 2016). Esse contato constante com o meio circundante tornam as brânquias o primeiro alvo de poluentes presentes no compartimento hídrico (Abdel-Moneim *et al.*, 2012). Logo, as mudanças histológicas nesse órgão estão entre as principais respostas reconhecidas aos estressores ambientais.

Por outro lado, o fígado desempenha importantes funções vitais, tais como a degradação metabólica de xenobióticos, o que por sua vez o torna frequentemente suscetível a danos decorrentes de compostos tóxicos (Kostic *et al.*, 2017). Sendo assim, observou-se que tanto brânquias como o fígado apresentaram diferentes respostas ao estresse ambiental. No entanto, as brânquias, por ser o primeiro órgão que entra em contato direto com a água, demonstrou ser o órgão mais afetado, com maior grau de alterações histológicas significativas.

Os dados morfométricos analisados demonstrou que os espécimes machos de *S. herzbergii* amostrados na Ilha dos Caranguejos apresentaram peso total superior aos capturados na Região Portuária ($p=0,004$). Esses dados indicam que existe maior

incremento de massa corpórea nos indivíduos da área de referência, provavelmente, pelas condições mais adequadas de alimentação para a espécie na área (Tab.2).

Tabela 2. Dados morfométricos (média \pm desvio padrão) de *Sciades herzbergii* coletados em regiões estuarinas da Baía de São Marcos, Maranhão.

Parâmetros	Média \pm Desvio padrão			
	A1		A2	
	Fêmeas (n=10)	Machos (n=10)	Fêmeas (n=6)	Machos (14)
CT (cm)	34,19 \pm 4,11	31,05 \pm 6,57	32,68 \pm 4,5	27,49 \pm 5,71
CP (cm)	28,34 \pm 3,59	26,06 \pm 3,11	27,26 \pm 4,06	23,8 \pm 2,88
CF (cm)	28,91 \pm 3,74	26,33 \pm 2,99	28,33 \pm 4,13	25,37 \pm 2,69
PT (g)	318,66 \pm 96,97	261,5 \pm 93,02*	275,33 \pm 108,7	162,07 \pm 66,31*

A1 (área referência); A2 (área potencialmente impactada); CT: comprimento total; CP: comprimento padrão; CF: comprimento furcal, PT: peso total; *diferenças significativas entre os locais de amostragem ($p < 0,05$).

Estudos realizados por Carvalho-Neta e Abreu-Silva (2012) na Baía de São Marcos, evidenciaram que as concentrações de alumínio dissolvido, cádmio total, ferro dissolvido, manganês, chumbo, mercúrio total, benzeno, fenóis, tributilestanho e bifenilas policloradas, presentes nos sedimentos coletados próximo ao Porto do Itaqui, foram superiores aos limites aceitáveis pelos padrões nacionais (Brasil, 2005), confirmando, portanto, o caráter de contaminação química dessa região. Essa mesma situação de contaminação por metais pesados e compostos orgânicos foi registrada em outras pesquisas realizadas na região (Fortes Carvalho Neta *et al.*, 2016; Fortes Carvalho Neta *et al.*, 2019). Nesse contexto, os contaminantes, quando inseridos no ambiente aquático, podem apresentar distribuições complexas, tais como, coluna d'água, alimentos e sedimentos, sendo que a exposição dos organismos aos agentes tóxicos depende de como cada espécie se relaciona e coleta amostras de seu meio (Sardi *et al.*, 2016). Como *S. herzbergii* é uma espécie de fundo e se alimenta de organismos bentônicos (Ribeiro *et al.*, 2012), é provável que os peixes analisados estivessem submetidos à contaminação advinda destes três compartimentos: água, sedimento e alimentos.

A exposição dos organismos aquáticos aos contaminantes pode levar a redução ou à perda de vários sistemas biológicos, seja bioquímico, fisiológico ou comportamental, além de demandar energia necessária para processos de detoxificação (Lam, 2009). Dessa maneira, outros parâmetros, como por exemplo, o aumento em peso, pode ficar comprometido e isso parece explicar os valores inferiores da média de peso total dos peixes machos coletados na região portuária aqui analisada.

É importante destacar que os machos da espécie *S. herbergii* incubam os ovos fertilizados pelas fêmeas na boca, e conseqüentemente sua alimentação é reduzida, visto que aloca quantidades significativas de energia para a reprodução (Queiroga *et al.*, 2012). Assim, durante as coletas foi observada a presença de ovos na cavidade bucal de alguns exemplares machos capturados na região potencialmente contaminada, que fica a uma certa distância (10 km) da principal movimentação industrial do porto público (Itaqui). Esses resultados foram diferentes dos encontrados por Carvalho-Neta *et al.* (2016), que trabalharam com a mesma espécie em regiões mais próximas do porto de Itaqui. Segundo esses autores, o comportamento de incubar os ovos na boca não foi registrado nos peixes capturados próximo à área portuária, sendo este um indicativo de resposta comportamental dos organismos referente ao impacto antropogênico. Entretanto, é necessário enfatizar que determinados fatores ecológicos, que variam no tempo e espaço, podem interferir nessa configuração. Um exemplo disso é a predação, seja natural ou antrópica, a competição por espaço e a variabilidade biológica dos indivíduos, que faz com que alguns organismos de uma dada população habitem regiões mais impactadas, a fim de obter uma maior aptidão (Ricklefs e Relyea, 2016). No entanto, essa escolha pode resultar em custos biológicos, tal como, a diminuição de peso corporal. Logo, a alimentação reduzida por conta da incubação dos ovos na boca associado às concentrações elevadas de poluentes podem ter influenciado no menor ganho de peso total dos peixes machos amostrados na área potencialmente impactada.

A avaliação macroscópica das gônadas revelou que 60% dos exemplares amostrados foram machos e 40% fêmeas. Os machos capturados na Região Portuária demonstraram diferentes fases de desenvolvimento gonadal e esses achados diferiram dos registrados por Sousa *et al.* (2013), que não encontraram peixes imaturos para essa mesma região. Já as fêmeas de ambos os locais apresentaram a maioria das fases maturacionais (Tab.3). No geral, houve predomínio de espécimes na fase de desenvolvimento (FII) para as duas regiões de coleta. Entretanto, não foi observado indivíduos na fase de regeneração.

Tabela 3. Fases de desenvolvimento gonadal de *S. herzbergii* coletados em regiões da Baía de São Marcos, Maranhão.

Fases	A1		A2	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
F I	23%	37%	0%	21%
F II	46%	50%	33%	36%
F III	31%	0%	50%	29%
F IV	0%	13%	17%	14%
F V	0%	0%	0%	0%

F I: imaturo; F II: desenvolvimento; F III: desova; F IV: regressão; FV: regeneração

Em relação às variáveis ambientais, verificou-se que os valores médios de temperatura, salinidade e pH não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as áreas estudadas para o período chuvoso e de estiagem. Entretanto, houve diferença nos valores de O₂ dissolvido entre os períodos sazonais, com $p = 0,04$ (Tab.4).

Tabela 4. Parâmetros abióticos registrados no período chuvoso e de estiagem nas duas regiões estuarinas da Baía de São Marcos, Maranhão.

Parâmetros	Chuvoso		Estiagem		Valores Recomendados
	A1	A2	A1	A2	
Temperatura (°C)	29,5	28,8	29,1	28,7	28 - 32 °C a
Salinidade	13,3	15,3	16,5	24,6	≥ 30% a
pH	7,46	7,52	7,37	7,78	6,5 - 8,5 a
O ₂ dissolvido (mg/L)	5,3*	4,6*	7,2*	6,7*	> 4mg/L a

A1 (área referência); A2 (área potencialmente impactada); mg: miligramas; L: litros; * = diferenças estatística entre os períodos sazonais ($p < 0,05$); a = valores permitidos pela Resolução Conama n° 357/2005 e n° 430/2011, água salobra, classe II.

Os dados abióticos encontrados neste estudo estão de acordo com os valores de referência indicados pela Resolução Conama para águas salobras (Brasil, 2011) e considerados normais, conforme outros trabalhos realizados nessa região (Carvalho-Neta *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2013; Castro *et al.*, 2018).

O oxigênio dissolvido foi o único parâmetro analisado que apresentou diferenças significativas entre os períodos sazonais ($p = 0,04$). Os maiores teores dessa variável ambiental ocorreram no período de estiagem, independentemente das áreas de coleta. Esse elemento é indispensável à manutenção dos processos vitais dos animais e é o mais importante indicador da qualidade ambiental, visto que o grande aporte de contaminantes provenientes de efluentes industriais e domésticos causa um acentuado desequilíbrio dos parâmetros hidrológicos, principalmente os relacionados com a diminuição do oxigênio dissolvido (Santos *et al.*, 2008). Assim, os menores valores registrados dessa variável no

período chuvoso podem indicar o aumento da carga de contaminantes que são facilmente carregados do continente para o ambiente aquático.

Conclusões

Os valores dos índices histológicos dos órgãos analisados demonstraram diferentes níveis de estresse dos peixes em pontos distintos da Baía de São Marcos, Maranhão. Os exemplares amostrados na região portuária apresentaram danos teciduais maiores e as brânquias indicaram ser o órgão mais afetado. Apesar de inespecíficas, as alterações identificadas mostraram-se relevantes e ratifica as descobertas encontradas para a espécie estudada no estado do Maranhão, Brasil.

Agradecimentos

Os nossos agradecimentos à CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), pelo auxílio financeiro; ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) pelo suporte físico para as análises dos organismos coletados.

Referências

- ABDEL-MONEIM, A.M.; AL-KAHTANI, M.A.; ELMENSHAWY, O.M. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere*, v. 88, n. 8, p. 1028-1035, 2012.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess. *Journaul Fish Dis.*, v. 22, p. 25-34, 1999.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 mar. 2005. p.58-63. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res11/res43011.pdf>. Acessado em: 20 fev. 2019.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. *Diário Oficial da União*, Brasília. 13 maio 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res11/res43011.pdf>. Acessado em: 20 fev. 2019.
- BROWN-PETERSON, N.J.; WYANSKI, D.M.; SABORIDO-REY, F. et al. A Standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Mar. Coast. Fish.*, v.3, p.52-70, 2011.

CAPUTO, L.F.G.; GITIRANA, L.B.; MANSO, P.P.A. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, E.M.; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R (Org.). Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2010. p.93-185.

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 Brasil. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, v.41, n. 2, p. 217-225, 2013.

CARVALHO-NETA, R.N.F.; CASTRO, A.C.L. Diversidade das assembleias de peixes estuarinos da Ilha dos Caranguejos, Maranhão. *Arq. Ciências do Mar.*, v.41, n.1, p.48 – 57, 2008.

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

CASTRO, J.S.; FRANÇA, C.L.; FERNANDES, J.F. et al. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zotec.*, v.70, n.2, p.410-418, 2018.

CASTRO, J.S.; FRANÇA, C.L.; CARDOSO, R.L. 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). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 103, p. 246-254, 2019.

CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução 1000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/lei/index/id/326>. Acessado em: 25 jul. 2019.

FORTES CARVALHO NETA, R.N.F.; ANDRADE, T.S.O.M.; OLIVEIRA, S.R.R. et al. Biochemical and morphological responses in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) as indicators of contamination status in mangroves and port areas from northern Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v. 26, n. 16, p. 15884–15893, 2019.

- FORTES CARVALHO NETA, R.N.F.; BARBOSA, G.L.; TORRES, H.S. et al. Changes in Glutathione S-Transferase Activity and Parental Care Patterns in a Catfish (Pisces, Ariidae) as a Biomarker of Anthropogenic Impact in a Brazilian Harbor. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 72, n. 1, p. 132-141, 2016.
- KOSTIC. J.; KOLAREVIC. S.; KRACUN-KOLAREVIC. M. et al. The impact of multiple stressors on the biomarkers response in gills and liver of freshwater breams during different seasons. *Sci. Total Environ.*, v. 601, p. 1670-1681, 2017.
- LAM, P.K.S. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast. Manag.*, v. 52, n.7, p. 348-354, 2009.
- PEREIRA FILHO, J.P.; SPILLERE, L.C.; SCHETTINI, C.A.F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do Rio Itajaí-Açu, SC. *Atlântica*, v. 25, n. 1, p. 11-20, 2003.
- PINHEIRO-SOUSA, D. B. et al. A screening test based on hematological and histological biomarkers to evaluate the environmental impacts in tambaqui (*Colossoma macropomum*) from a protected area in Maranhão, Brazilian Amazon. *Chemosphere*, v. 214, p. 445–451, 2019.
- PRABHAKARAN, K.; NAGARAJAN, R.; MERLIN FRANCO, F.; KUMAR, A.A. Biomonitoring of Malaysian aquatic environments: A review of status and prospects. *Ecohydrol. Hydrobiol.*, v. 17, n. 2, p. 134-147, 2017.
- QUALHATO, G.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T.; SILVA, L.D.; ROCHA, L.T. Melanomacrophage response and hepatic histopathologic biomarkers in the guppy *Poecilia reticulata* exposed to iron oxide (maghemite) nanoparticles. *Aquat. Toxicol.*, v. 198, p. 63-72, 2018.
- QUEIROGA, F.R. et al. Reproductive biology of *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) in a tropical estuary in Brazil. *Zoologia*, v. 29, n. 5, p. 397–404, 2012.
- RAINBOW, P.S. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 31, n. 4-12, p. 183-192, 1995.
- RAUTENBERG, G.E.; AMÉ, M.V.; MONFERRÁN, M.V. et al. A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquía River. *Ecol. Indic.*, v. 48, p. 706-720, 2015.

- RIBEIRO, E.B.; ALMEIDA, Z.S; CARVALHO-NETA, R.N.F. Hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos, Maranhão, Brasil. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.*, v. 64, n.6, p.1761-1765, 2012.
- RICKLEFS, R.; RELYEA, R. A. Economia da Natureza. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- SALEH, Y.S.; MARIE, M.A.S. Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: a baseline field study. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 106, n. 1-2, p. 308-322, 2016.
- SANTOS, T.G.; BEZERRA JUNIOR, J.L.; COSTA, K.M.P.; FEITOSA, F.A.N. Dinâmica da biomassa fitoplanctônica e variáveis ambientais em um estuário tropical (Bacia do Pina, Recife, PE). *Rev. Bras. Eng. Pesca.*, v. 4, n. 1, p. 95-109, 2009.
- SARDI, A.E.; RENAUD, P.E.; LANA, P.C.; CAMUS, L. Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). *Mar. Pollut. Bull.*, v. 113, n. 1-2, p. 496-508, 2016.
- SOUSA, D.B.P.; ALMEIDA, Z.S.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagre estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.*, v.65, n.2, p.369-376, 2013.
- STENTIFORD, G.D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B.P. et al. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Mar. Environ. Res.*, v.55, n.2 p.137-159, 2003.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES NORMAS DA REVISTA

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
(*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences*)

Política Editorial

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

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

Reprodução de artigos publicados

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

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço www.scielo.br/abmvz

Orientações Gerais

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de Publicação on-line do Scielo – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.

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

Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em “Figure or Image” (Step 2).

É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada

um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no texto submetido.

O ABMVZ comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Conmittee” (Step 2). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

Tipos de artigos aceitos para publicação:

Artigo científico

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

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” – Step 2), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

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

O número de Referências não deve exceder a 30.

Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” - Step 2), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

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

O número de Referências não deve exceder a 12.

Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um artigo científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” - Step 2). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo àquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

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

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês na forma impessoal.

Formatação do texto

□ O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como “Main Document” (Step 2), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **com linhas numeradas**.

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

Seções de um artigo

□ **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

□ **Autores e Afiliação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com o número do ORCID e com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.

□ **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

□ **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco e no mínimo duas*.

* na submissão usar somente o *Keyword* (Step 3) e no corpo do artigo constar tanto *keyword* (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

□ **Introdução.** Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

□ **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados **deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA**. (verificar o Item Comitê de Ética).

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

□ **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1,

2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

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

Nota:

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

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

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

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

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

Como referenciar:

1. Citações no texto

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

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

□ dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

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

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

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

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

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

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

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

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

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

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6a ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

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

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

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

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

Nota:

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

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

5.2 Biomarcadores bioquímicos e histológicos em *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) para o monitoramento de áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Brasil

Sâmea Heloá da Costa Soares^{1,2*}, Débora Batista Pinheiro Sousa^{1,3}, Wanda dos Santos Batista^{1,2}, Raimunda Nonata Fortes Carvalho-Neta^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP/UEMA), Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão, Brasil

²Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (Laboq), Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão, Brasil

³Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - Rede BIONORTE, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, Tirirical, São Luís, Maranhão, Brasil

Autor correspondente^{1*}:

Nome: Sâmea Heloá da Costa Soares

Endereço postal: Rua Nova Jerusalém, nº 06, bairro: Tirirical, cidade de São Luís, estado do Maranhão, CEP: 65055-380

email: sameasoares12@gmail.com

Telefone: +55 (98) 98234-6326

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar biomarcadores bioquímicos (glutathione-S-transferase e catalase) e histológicos (lesões branquiais e hepáticas) em *S. herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) em duas áreas estuarinas distintas da Baía de São Marcos, Maranhão, Brasil. Os peixes foram coletados em dois locais distintos: A1 = região de baixo impacto; e A2 = área potencialmente impactada. Foi realizado exame histológico nas brânquias e fígado, assim com ensaios bioquímicos para investigação de alterações nas respostas das atividades enzimáticas (glutathione-S-transferase e catalase) no fígado. O índice histológico dos órgãos analisados apresentou médias elevadas e significativas para A2, assim como a maior quantidade de prevalência alterações branquiais e hepáticas. Esse resultado é indicativo de exposição dos órgãos dos peixes analisados a xenobióticos presentes na área potencialmente impactada. A atividade da glutathione-S-transferase não exibiu um padrão capaz de diferenciar as duas áreas analisadas. Por outro lado, a atividade da catalase apresentou resposta mais pronunciada nos peixes amostrados na estação seca ($p < 0,05$), demonstrando ser um biomarcador sensível tanto a estressores químicos quanto à temperatura e salinidade do ambiente aquático. Por outro lado, as investigações histológicas demonstram que esses organismos estão submetidos a uma exposição crônica, com alterações histológicas que funcionam como mecanismos de defesa.

Palavras chave: Complexo portuário, peixes, respostas biológicas

1. Introdução

Os estuários são ambientes costeiros reconhecidos por sua considerável importância ecológica e socioeconômica (Lisboa and Fernandes, 2015). Entretanto, são áreas suscetíveis aos impactos antropogênicos, que possuem o potencial de causar efeitos adversos na biota aquática (Gutiérrez et al., 2015). Nesse contexto, o biomonitoramento torna-se uma técnica científica apropriada para investigar os efeitos deletérios da poluição em sistemas biológicos e determinar a condição do ambiente (Ghisi et al., 2017). Essa técnica consiste no uso sistemático de organismos vivos, conhecidos como espécies biomonitoras (Rainbow; Phillips, 1993; Zhou et al., 2008). Os peixes são considerados bons modelos biológicos nos ecossistemas aquáticos, sendo utilizados com frequência em estudos ambientais, pois ocupam diferentes níveis tróficos, bioacumulam substâncias tóxicas e registram o estresse ambiental a longo prazo (Whitfield; Elliott, 2002; Vieira et al., 2014; Calado et al., 2019). Assim, a presença indicativa e mensurável dos danos causados pelos poluentes em compartimentos biológicos dos peixes é caracterizado como uma resposta biológica ou biomarcador (Rautenberg et al., 2015).

Os biomarcadores oferecem uma medida integrada sobre os efeitos da exposição de substâncias tóxicas sobre os organismos vivos (Orbea et al., 2002). Todavia, a mensuração de apenas um tipo de resposta biológica pode não ser suficiente para avaliar esses efeitos deletérios. Desse modo, o uso combinado de biomarcadores tem sido proposto, principalmente, diante de situações de ambientes poluídos cronicamente (Ameur et al., 2015; Saleh; Marie, 2016; Ballesteros et al., 2017).

Os biomarcadores bioquímicos, como a atividade das enzimas relacionadas aos processos de biotransformação e antioxidantes, respondem a uma ampla gama de contaminantes e funcionam como alerta precoce para a poluição aquática (Lam, 2009; Yildirim et al., 2014). Em um nível de organização biológica superior, os biomarcadores histológicos compreendem uma categoria de respostas biológicas confiável para indicar o comprometimento da sanidade dos organismos aquáticos que são induzidos pelos estressores antropogênicos (Faheem and Lone, 2018). Portanto, o emprego de mais de um parâmetro biológico fornece uma avaliação mais abrangente e integrativa das

condições ambientais anormais, especialmente quando se trata de regiões estuarinas, visto que apresentam uma complexidade natural (Santana et al., 2018).

A Baía de São Marcos (Maranhão, Brasil) é uma extensa área estuarina que possui um dos maiores complexos portuários de movimentação de cargas da América Latina (Amaral and Alfredin, 2010). Esse complexo é caracterizado por um intenso trânsito de grandes embarcações com diversos tipos de produtos químicos, como, fertilizantes, bauxita, alumina, ferro, importação e exportação de petróleo (Oliveira et al., 2019; Carvalho Neta et al., 2019). Para essa região, foi registrado a presença de metais pesados em níveis superiores aos permitidos pela legislação nacional, e investigações histológicas e bioquímicas em peixes e caranguejos coletados próximo ao complexo portuário mostraram que os organismos aquáticos apresentaram a sanidade comprometida decorrente da exposição aos xenobióticos (Sousa; Almeida; Carvalho-Neta, 2013; Castro et al., 2018; Carvalho Neta et al., 2019). Existe, portanto, uma situação multi-estressante na Baía de São Marcos que gera respostas em diferentes níveis de organização biológica da biota aquática, em especial dos peixes.

A espécie de peixe *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) é um bagre pertencente à família Ariidae, na qual apresenta ampla distribuição ao longo da costa atlântica da América do Sul (Marceniuk, 2005). Esse táxon é considerado carcinófago com especialização alimentar em crustáceos decápode (Ribeiro et al., 2012). É uma espécie bentônica estuarino-residente abundante no litoral maranhense, em que apresenta relativa importância econômica na pesca artesanal do Estado (Carvalho Neta and Abreu-Silva, 2013). Pesquisas anteriores demonstram que *S. herzbergii* é considerado um biomonitor regional para avaliar efeitos de substâncias tóxicas em ambientes estuarinos nos processos biológicos (Sousa; Almeida; Carvalho-Neta, 2013; Castro et al., 2018). Neste trabalho, objetivou-se analisar biomarcadores bioquímicos (glutathione-S-transferase e catalase) e histológicos (lesões branquiais e hepáticas) em *S. herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) em duas áreas estuarinas distintas da Baía de São Marcos, Maranhão, Brasil.

2. Materiais e Métodos

2.1 Área de estudo

A Baía de São Marcos, Maranhão, Brasil é uma região estuarina produtiva que se encontra inserida no Golfão Maranhense (Silva et al., 2018). É classificada como uma das

mais importantes do litoral brasileiro, pois nela encontra-se instalada o Complexo Portuário do Estado do Maranhão (Amaral and Alfredin, 2010). Esse complexo é formado por portos públicos e terminais privados responsáveis pela movimentação de cargas para o Brasil e mundo (Antaq, 2018). Além da região portuária, a Baía de São Marcos, em sua extensão, abriga regiões protegidas por legislação estadual, como por exemplo, Áreas de Proteção Ambiental (APA). Desse modo, foram selecionadas duas regiões estuarinas dessa Baía para a coleta de *Sciades herzbergii*: a primeira região denominada de Ilha dos Caranguejos (A1), considerada como um local de baixo impacto, pois não recebe interferências humanas diretas em seu entorno, tais como, moradias e atividades portuárias e industriais. Essa área é dominada por extensos manguezais que abriga uma diversidade de organismos aquáticos que utilizam esse ambiente para se alimentar, reproduzir durante seu ciclo de vida (Carvalho Neta and Abreu-Silva, 2013). Além do mais, essa região é legalmente protegida por legislação estadual, fazendo parte da Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense (Carvalho-Neta; Castro, 2008; Maranhão, 2018). A segunda área foi o Terminal de Pesca Industrial de Porto Grande (A2), área potencialmente contaminada, uma vez que encontra-se sob influência do complexo portuário da cidade de São Luís, estando próximo ao porto público do Estado (10km), que apresenta grande fluxo de embarcações e desembarques de cargas em geral (Fig.1).

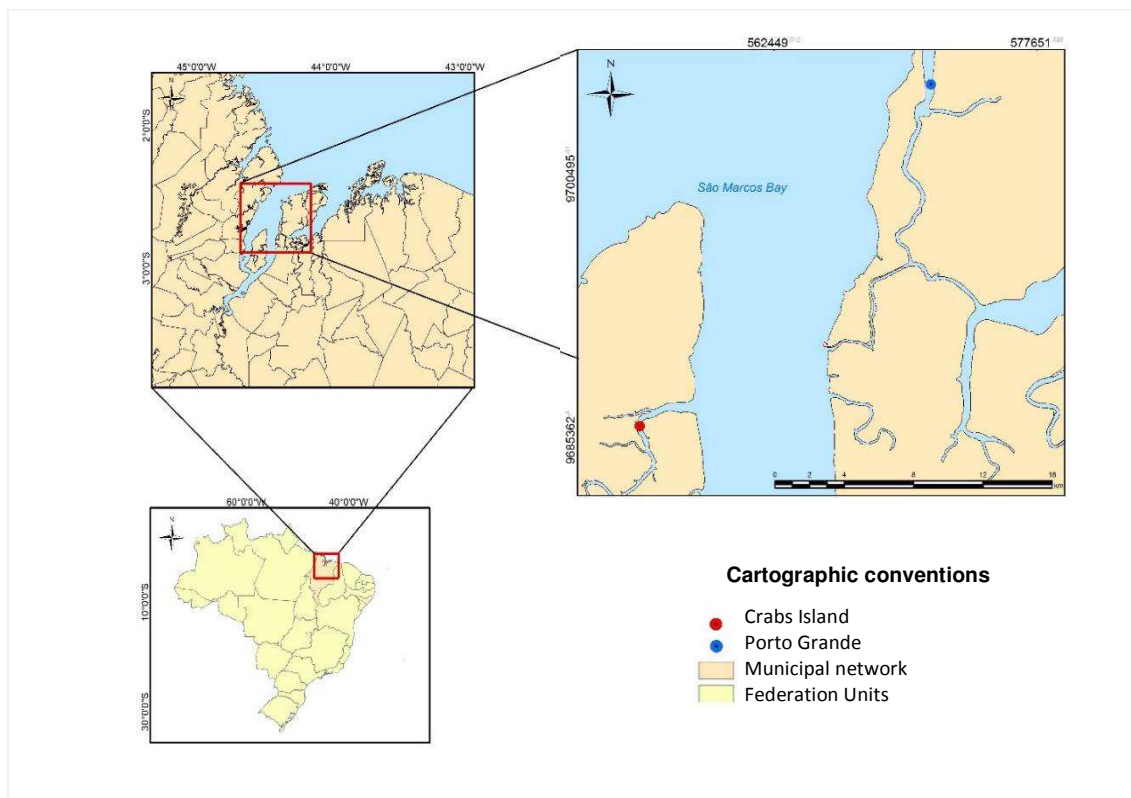


Fig.1. Localização das áreas amostradas na Baía de São Marcos A1 (baixo impacto e A2 (potencialmente contaminada)

2.2 Amostragem de exemplares de *Sciades herzbergii*

Os peixes foram coletados durante o período chuvoso (março) e seco (julho) de 2019 em duas regiões estuarinas brasileiras. Os períodos sazonais chuvoso e seco são definidos como padrão para a região, sendo a estação chuvosa de dezembro a maio e seca nos meses de junho a novembro (Silva et al., 2009; Instituto..., 2018). Em cada área (baixo impacto e potencialmente impactada) foram amostrados 10 espécimes por coleta. No total foram coletados 80 organismos, sendo 38 fêmeas e 42 machos. O protocolo de coleta em campo e procedimentos laboratoriais deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética institucional da Universidade Estadual do Maranhão (01/2018) e cumpriu com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal/ Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório - SBCAL/COBEA (SBCAL/COBEA, <http://www.sbc.org.br>).

Para cada espécime de *S. herzbergii*, registrou-se os dados morfométricos com o auxílio de ictiômetro e balança digital. Tais dados consistiram em: comprimento total

(CT), comprimento padrão (CP), comprimento furcal (CF) em cm, além do peso total (PT) em g. Depois de medidos e pesados, os peixes foram eutanasiados por secção cervical e abertos através de incisão vertical para observação e classificação macroscópica das gônadas, diferenciando em machos e fêmeas (Brown-peterson et al., 2011). Nos locais de coleta dos bagres foram aferidos os dados de salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido com auxílio do multiparâmetro (SX751 – SANXIN).

2.3 Histologia

Para as análises histológicas, brânquias e fígado (parte destinado a histologia) dos peixes foram fixados em formalina a 10% durante 24 horas. Posteriormente, o segundo arco branquial direito foi descalcificado em ácido nítrico a 10% por 6 horas. Em seguida, os órgãos foram desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol e impregnados com parafina líquida. Os tecidos foram corados com Hematoxilina e Eosina. As alterações histológicas branquiais e hepáticas foram avaliadas de forma semi-quantitativa de acordo com o sistema de pontuação de Bernet et al. (1999). Cada alteração histológica foi classificada em um dos quatro padrões de reação: distúrbio circulatório (Rp_1) que correspondem a condições patológicas no fluxo sanguíneo e tecidual; mudanças regressivas (Rp_2) que são processos que causam diminuição funcional ou perda de um órgão; mudanças progressivas (Rp_3) correspondem a processos que levam ao aumento da atividade celular ou tecidual; e resposta inflamatória (Rp_4) que são processos inflamatórios associados a outros padrões de reação. No final, foram gerados índices para cada padrão de reação de um órgão ($IH_{org. Rp}$), nos quais foram utilizados para fornecer um índice geral do órgão ($IH_{brânquias}$ = índice histológico das brânquias; $IH_{fígado}$ = índice histológico de fígado). Para determinar o estado geral da sanidade dos peixes com base nas lesões histológicas, um índice histológico total (IH_{total}) foi calculado pelo somatório de índices branquiais e hepáticos de cada organismo. A prevalência de cada alteração foi calculada como uma ocorrência percentual de uma alteração em todos os peixes amostrados das duas áreas de estudo, segundo Bernet et al. (1999): prevalência de alteração histológica = n° peixes com a alteração/ n° total de peixes de uma amostra, multiplicado por 100. Associado aos índices histológicos calculados, a prevalência de cada alteração permite uma estimativa da ocorrência de lesões em um determinado estoque ou população.

2.4 Ensaio bioquímicos

Um grama do fígado (parte destinada aos ensaios bioquímicos) de cada peixe foi extraído e imediatamente congelado e armazenado em nitrogênio líquido. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas em tampão (Tris-HCl 50 mM, KCl 0,15 M, pH 7,4). O sobrenadante foi utilizado para analisar a atividade enzimática da catalase (CAT) e glutationa-S-transferase (GST).

Os ensaios bioquímicos foram medidos por espectrofotometria. A atividade da catalase (CAT) foi quantificada a 240 μ m pela taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), conforme o método de Beutler (1975). O método é baseado na degradação de H₂O₂ pela ação da CAT contida nas amostras examinadas, sendo expressa como U/mg de proteína. A atividade da glutationa-S-transferase (GST) foi determinada pelo aumento da absorbância a 340 μ m, de acordo com o método de Keen; Habig; Jakoby (1976) e modificado por Camargo; Martinez (2006), utilizando-se glutationa reduzida (GSH) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substratos, em tampão fosfato de potássio (0,1M), pH 7,0. Esse método é baseado na reação de CDBN ao grupo -SH de GSH catalisado pela GST contida nas amostras. O ensaio foi conduzido monitorizando a aparência do complexo conjugado de CDBN e glutationa a 340 μ m. A actividade de GST é expressa como μ mol / min / mg de proteína.

2.5 Proteínas totais

O teor de proteínas foi determinado usando o método de Gornall; Bardawill; David, (1949) utilizando um kit comercial (proteínas totais monoreagente/BIOCLIN). A dosagem foi quantificada em um espectrofotômetro a 540 μ m.

2.6 Tratamento estatístico

Os dados quantitativos foram submetidos ao teste de normalidade através do teste de Kolmogorov- Smirnov ($p < 0,05$) e em seguida foi aplicado o teste *t* de Student, com o uso do software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., 2005, Tulsa, OK, EUA), para determinar diferenças significativas entre os grupos (área de baixo impacto e potencialmente contaminada) e apenas $p < 0,05$ foi considerado significativo.

3. Resultados e Discussão

3.1 Biomarcadores histológicos

Os valores do índice histológico das brânquias não demonstraram diferenças significativas entre as áreas de amostragem dos peixes. Do mesmo modo, resultados semelhantes foram observados para o fígado, exceto quanto ao período sazonal, uma vez que os dados dos índices histológicos correspondente ao padrão de reação 2 (mudanças regressivas) foram estatisticamente maiores no período chuvoso em ambas as áreas de coleta dos peixes. Durante a estação chuvosa, o nível de contaminação em corpos d'água pode aumentar devido ao escoamento de contaminantes, impactando a biota local (Carvalho Neta et al., 2017; Ribeiro et al., 2016). Logo, as alterações regressivas sugerem que as lesões hepáticas identificadas, em sua maioria, são de natureza regenerativas e que os valores mais elevados verificados no período chuvoso podem ser resultados do transporte de substâncias tóxicas do continente para o ambiente aquático (Tabela 1).

Tabela 1. Índices histológicos branquiais e hepáticos de *Sciades herzbergii* coletados em regiões estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil

Índices histológicos	Locais de amostragem			
	A1		A2	
	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
IH brânquias/ Rp.1	0,8 ± 1,014	0,66 ± 0,97	1,33 ± 1,234	1,11 ± 1,05
IH brânquias/ Rp.2	1,12 ± 1,013	1,44 ± 1,08	1,12 ± 1,013	1,86 ± 1,18
IH brânquias/ Rp.3	5,2 ± 4,816	2,8 ± 1,09	7,2 ± 3,346	2,66 ± 1,15
IH brânquias/ Rp.4	NE	NE	NE	NE
IH fígado/ RP.1	1,8 ± 1,01	0,8 ± 1,01	1,6 ± 0,82	1,6 ± 1,15
IH fígado/ Rp.2	1,7 ± 1,97 ^a	1,3 ± 0,96	2,1 ± 1,65 ^b	2,37 ± 0,92
IH fígado/ Rp.3	NE	NE	NE	NE
IH fígado/ Rp.4	0,6 ± 0,96	1,4 ± 1,49	2 ± 0	1,5 ± 1,96
IH brânquias	22 ± 8,717	20 ± 14	28 ± 8	15 ± 11,01
IH fígado	19,3 ± 14,04	17,3 ± 7,57	28,6 ± 11,71	23,3 ± 13,31
IH total	20,8 ± 6,45 ^c	22,4 ± 4,33 ^c	30 ± 5,47 ^d	33,3 ± 6,11 ^d

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada); valores expressos como média ± desvio padrão. IH: índice histológico; Rp1: padrão de reação 1 (distúrbios circulatórios); Rp2: padrão de reação 2 (mudanças regressivas); Rp3: padrão de reação 3 (mudanças progressivas); Rp4: padrão de reação 4 (respostas inflamatórias); NE: não encontrado. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos sazonais (“a”/“b”) e locais de amostragem (“c”/“d”).

O índice histológico total apresentou médias elevadas e significativas para a região portuária, independentemente da sazonalidade. Esse resultado pode ser indicativo de exposição dos órgãos dos peixes analisados a xenobióticos presentes na área potencialmente impactada, uma vez que a contaminação por metais pesados nessa região foi documentada em amostras de sedimentos, confirmando a contaminação química desse

local (Carvalho-Neta et al., 2012). Os metais pesados são um dos poluentes mais nocivos devido sua persistência a longo prazo e sua bioacumulação nos organismos aquáticos, o que pode interferir nos componentes biológicos (Monroy et al., 2014). Sendo assim, foram observadas alterações histológicas em brânquias de peixes e caranguejos amostrados em regiões próxima a área de coleta de *S. herzbergii* (Pinheiro-Sousa et al., 2019; Carvalho Neta et al., 2019; Oliveira et al., 2019). Como as brânquias estão em contato direto com o ambiente circundante, devido a ampla área de superfície, corresponde um dos primeiros órgãos a reagir e apresentar respostas adaptativas, pois torna-se alvo da exposição aos contaminantes (Ameur et al., 2015). Por outro lado, o fígado também é um dos órgãos mais afetados pelos contaminantes na água, haja vista que é alvo para acumulação da maioria dos metais pesados, devido seu papel no armazenamento, desintoxicação e transformação de xenobióticos (Saleh and Marie, 2016).

Estudos realizados em regiões costeiras revelaram alterações histológicas nas brânquias e fígado de organismos de áreas potencialmente contaminadas (Monserrat et al., 2007; Carvalho-Neta; Torres; Abreu-silva, 2012; Abdel-Khalek et al., 2018). As lesões branquiais mais frequentes observadas nos peixes analisados neste estudo também foram relatadas por Azevedo et al. (2013), fusão lamelar; Castro et al. (2018) deslocamento lamelar; hiperplasia Kostić et al. (2017); e do mesmo modo lesões hepáticas foram registradas na literatura por Liu et al. (2015), degeneração vacuolar e Hermenean et al. (2015), dilatação dos sinusóides. Dessa forma, a utilização dos biomarcadores histológicos compreendem metodologias eficazes que podem ser utilizadas para avaliar áreas impactadas. Apesar de não serem biomarcadores específicos para as substâncias tóxicas, as alterações branquiais e hepáticas são sensíveis a uma ampla variedade de contaminantes, sendo consideradas úteis para avaliar efeitos subletais e crônicos (Van der Oost et al., 2003).

A prevalência de alterações branquiais dos peixes coletados na Baía de São Marcos, em geral, apresentou as maiores porcentagens de alterações histológicas na região potencialmente impactada. Aneurisma, hiperplasia e alterações estruturais, tais como, levantamento epitelial, fusão lamelar, desorganização e encurtamento lamelar foram identificadas em todas as amostras de peixes de ambas as regiões de estudo (Tabela 2).

Tabela 2. Prevalência de alterações histológicas nas brânquias de *Sciades herzbergii* coletados em áreas estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil

Lesões histológicas	Percentual dos peixes com lesões %			
	A1		A2	
Brânquias	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
Hemorragia	0%	20%	80%	20%
Aneurisma	100%	80%	100%	100%
Levantamento epitelial	80%	100%	100%	100%
Fusão lamelar	80%	80%	80%	100%
Desorganização lamelar	100%	80%	80%	100%
Encurtamento lamelar	20%	100%	20%	100%
Necrose	0%	0%	0%	20%
Hiperplasia	80%	100%	100%	100%

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada)

O aneurisma lamelar é caracterizado pela ruptura das células pilares, onde ocorre o aumento e acúmulo do fluxo sanguíneo dentro da porção distal das lamelas secundárias, causando a dilatação do canal marginal (Saleh and Marie, 2016). A vasodilatação faz com que essas células percam sua capacidade de suporte, tendo como resultado o extravasamento de sangue para o interior da lamela secundária ou respiratória (Garcia-Santos et al., 2007).

A hiperplasia e alterações estruturais, normalmente, servem como um mecanismo de defesa, pois atuam como barreira contra a entrada de contaminantes (Abdel-Khalek et al., 2018). No entanto, o espaço entre água e sangue é prejudicado devido esse aumento contínuo, resultando em prejuízos do funcionamento normal das brânquias (Camargo and Martinez, 2007). Assim, a diminuição da captação de oxigênio pode levar à morte dos peixes (Rautenberg et al., 2015) (Fig. 2). Nesse sentido, os biomarcadores branquiais identificados nos peixes de ambas as áreas estuarinas deste estudo demonstram ser um mecanismo de adaptação desse órgão frente aos xenobióticos presentes no meio aquático.

Em relação ao tecido hepático foi observada a prevalência de lesões histológicas do padrão de alterações de distúrbios circulatório, seguido pelas mudanças regressivas, em especial a degeneração vacuolar encontrada em 100% das amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Prevalência de alterações histológicas no fígado de *Sciades herzbergii* capturados em áreas estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil

Lesões histológicas	Percentual dos peixes com lesões %			
	A1		A2	
Fígado	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
Hemorragia	20%	0%	40%	50%
Congestão vascular	80%	60%	100%	100%
Dilatação dos sinusóides	80%	60%	100%	75%
Degeneração vacuolar	100%	100%	100%	100%
Desorientação do tecido	60%	60%	100%	100%
Esteatose	60%	20%	40%	75%
Necrose	0%	20%	60%	50%
Hipertrofia	0%	0%	0%	0%
Hiperplasia	0%	0%	0%	0%
Melanomacrófagos isolados	40%	100%	100%	100%
Centros de melanomacrófagos	20%	40%	100%	50%

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada)

A degeneração vacuolar é um dos sinais de dano no fígado, que pode ser atribuída ao acúmulo e infiltração de neutrófilos e linfócitos, mas também ao efeito cumulativo dos metais pesados (Faheem and Lone, 2018). Essa alteração está associada à exposição crônica a uma ampla gama de contaminantes, na qual já foi relatada no tecido hepático de peixes por diversos trabalhos (Zimmerli et al., 2007; Dyk; Cochrane; Wagenaar, 2012; Rautenberg et al., 2015; Saleh; Marie, 2016; Qualhato et al., 2018) (Fig.3).

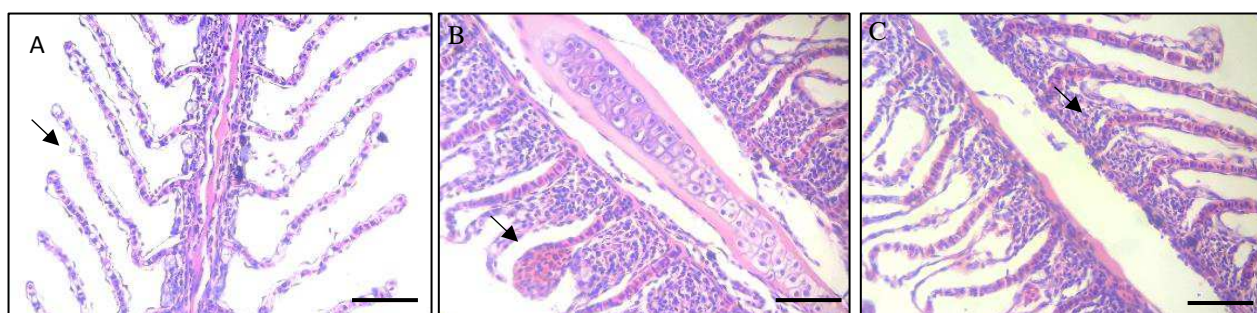


Fig.2. Fotomicrografias do segundo arco branquial direito de exemplares de *S. herzbergii* coletados em duas áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Brasil. A) Lamelas secundárias normais; B) Aneurisma; C) Hiperplasia. Escala= 50µm

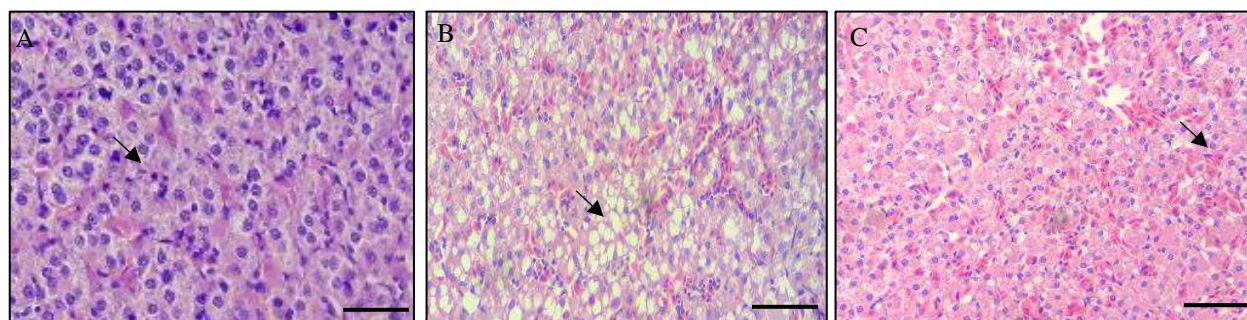


Fig. 3. Fotomicrografias da região intermediária do fígado de *S. herzbergii* coletados em duas áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Brasil. A) Hepatócitos normais; B) Degeneração vacuolar; C) Dilatação dos sinusóides. Escala= 50 μ m.

As análises de porcentagem de alterações hepáticas observadas no presente estudo permitem concluir que os peixes capturados na região potencialmente contaminada apresentaram o estado histológico mais comprometido em relação aos da área de baixo impacto. Tais evidências indicam que os organismos amostrados na região de influência portuária sofrem um maior estresse decorrente à intensa perturbação ambiental, o que reforça, portanto, a eficácia dos biomarcadores histológicos para avaliar o estado de saúde de peixes de ambientes impactados.

3.2 Biomarcadores bioquímicos

A atividade da GST não apresentou diferenças significativas entre as áreas de amostragem. Entretanto, foi observado baixos valores para as duas regiões estuarinas, principalmente na estação chuvosa (Tabela 4).

Tabela 4. Média, desvio padrão, máximo e mínimo dos valores da atividade da glutatona-S-transferase de A1 e A2

Glutationa-S-transferase (GST) $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína						
	A1			A2		
	Mean \pm SD	Maximum	Minimum	Mean \pm SD	Maximum	Minimum
Mar/2018	0,91 \pm 2,02	4,54	0	0,01 \pm 0	0,01	0
Jul/2018	0,04 \pm 0,04	0,09	0	0,01 \pm 0,01	0,03	0
Mar/2019	0,06 \pm 0,10	0,24	0	0,14 \pm 0,14	0,3	0
Jul/2019	2,35 \pm 3,95	9,4	0,18	0,51 \pm 0,43	1,06	0,03

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada)

As glutatona-S-transferases são enzimas multifuncionais envolvidas nos mecanismos de defesa celular contra xenobióticos, em que desempenham papel relevante

nos processos de biotransformação e desintoxicação de uma variedade de produtos químicos (Pham et al., 2017).

A inibição ou indução dos níveis de GST tem sido utilizada como biomarcador após a exposição dos peixes a múltiplos poluentes, uma vez que o mecanismo bioquímico-enzimático é um dos primeiros níveis de organização biológica a refletir os efeitos adversos por contaminantes (Huber; Almeida; Fátima, 2008; Carvalho-Neta; Torres; Abreu-Silva, 2012). Embora, os resultados obtidos neste estudo não apresentaram diferenças entre as áreas de coleta dos peixes, foi observado baixos valores da atividade da GST, o que sugere um padrão alterado desse sistema enzimático.

Valores muito baixos ou não detectados da atividade da GST implica em um efeito adverso que pode estar associado à exposição dos organismos a substâncias tóxicas (Ventura et al., 2002). Carvalho Neta et al. (2019) verificaram em sua pesquisa resultados tanto altos quanto muito baixos dos níveis de GST em uma espécie de crustáceo (*Ucides cordatus*) coletado em uma área próxima à região de Porto Grande (área potencialmente contaminada deste estudo). Isso reforça a ideia de que a biota aquática presente nas proximidades da região portuária de São Luís, Maranhão, está submetida a exposição de inúmeros compostos tóxicos, em especial os metais pesados (Carvalho-Neta et al., 2012). Desse modo, a situação pode se agravar no período chuvoso por conta do transporte de muitas substâncias para o ambiente aquático (Carvalho Neta et al., 2016).

A atividade da catalase foi semelhante entre as áreas de coleta. No entanto, houve diferença estatística quando comparado o mesmo ambiente em diferentes períodos sazonais ($p < 0,05$), sendo significativamente elevada no período seco (Tabela 5).

Tabela 5. Média, desvio padrão, máximo e mínimo dos valores da atividade da catalase da área de baixo impacto e potencialmente contaminada

Catalase (CAT) nmol min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína						
	Mean±SD	A1		A2		
		Maximum	Minimum	Mean±SD	Maximum	Minimum
Mar/2018	817,78±1409,62	3323,27	0,03	102,51±95,83	255,23	14,32
Jul/2018	401,04±242,23	784,13	161,17	2287,13±4666,65	10630,78	41
Mar/2019	0,04±0,04	0,1	0	0,23±0,24	0,63	0,04
Jul/2019	29,43±23,06 ^a	53,59	0,09	59,05±26,49 ^a	85	24,93

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada); ^a Diferenças estatisticamente significativas entre os períodos sazonais (chuvoso e estiagem). ($p < 0,05$)

A CAT é uma das enzimas antioxidantes que compõe o primeiro grupo de defesa no combate as espécies reativas de oxigênio na célula (Ighodaro and Akinloye, 2018). Essa enzima é importante na decomposição do peróxido de hidrogênio em espécies não reativas como água e oxigênio (Atli et al., 2006). Apesar da atividade da CAT não demonstrar um padrão capaz de diferenciar as regiões estuarinas, é necessário a continuidade das análises, visto que as respostas das enzimas antioxidantes variam de acordo com, situações de campo, diferentes espécies, contaminantes e condições ambientais (Livingstone, 2001).

Nesse sentido, os vários sistemas enzimáticos podem ser alterados por diversos fatores, tais como, poluição, estado nutricional, sexo, idade e estação do ano, o que por sua vez, torna difícil associar quais efeitos são responsáveis pelas respostas enzimáticas sob condições naturais (Arnaud et al., 2000; Baudou et al., 2019).

As diferenças sazonais podem interferir nas expressões das enzimas antioxidantes em decorrência das atividades metabólicas (Paital and Chainy, 2013). Em seu estudo, Khessiba; Roméo; Aissa, (2005) relataram que temperaturas e níveis de salinidade elevada foram fatores que afetaram a quantidade de oxigênio consumido e conseqüentemente levou ao aumento da CAT em mexilhões aclimatados sob várias condições ambientais. Orbea et al. (2002) documentaram que a atividade da CAT foi maior nos organismos (mexilhões, ostras e peixes) amostrados no verão em relação aos coletados no inverno. Paital; Chainy (2013), observaram que o aumento da atividade da catalase no caranguejo de lama foi em decorrência dos maiores valores de salinidade do local em que foram amostrados. Khessiba; Roméo; Aissa, (2005) concluíram que a atividade da CAT em peixes, embora responda ao estressor químicos, também é muito sensível à temperatura e salinidade do ambiente aquático.

Em se tratando de espécies estuarinas, a biota aquática está exposta a uma ampla variedade de estressores tanto em escalas temporais quanto espaciais (Samanta et al., 2014). Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) podem aumentar em decorrência do estresse ambiental, como por exemplo, aumento da temperatura e salinidade (Khessiba; Roméo; Aissa, 2005). Portanto, é provável que os resultados da CAT dos peixes observados neste estudo sejam em decorrência da influência de fatores ambientais, como, temperatura e salinidade.

3.3 Dados morfométricos

Os dados de comprimento total e furcal dos espécimes fêmeas de *S. herzbergii* amostrados na estação chuvosa de ambas as áreas de coletas apresentaram medidas mais elevadas ($p < 0,05$) quando comparadas às capturas do período de estiagem (Tabela 6).

Tabela 6. Dados morfométricos (média \pm desvio padrão) dos espécimes fêmeas de *Sciades herzbergii* coletados em áreas estuarinas da Baía de São Marcos, Brasil

Fêmeas Parâmetros	Média \pm Desvio padrão			
	Chuvoso		Estiagem	
	A1	A2	A1	A2
CT (cm)	35,31 \pm 3,53*	30,43 \pm 2,33*	14,2 \pm 1,351	41,75 \pm 14,496
CP (cm)	29,15 \pm 3	24,87 \pm 2,16	28 \pm 13,788	35,75 \pm 13,789
CF (cm)	30,46 \pm 3,25*	25,86 \pm 2,11*	12,58 \pm 1,370	36 \pm 12,72
PT (g)	350,66 \pm 150,4	227,77 \pm 56,33	347,2 \pm 61,75	766,5 \pm 754,48

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada); CT: comprimento total; CP: comprimento padrão; CF: comprimento furcal, PT: peso total; *diferenças significativas entre os locais de amostragem ($p < 0,05$).

Na estação chuvosa ocorre maior incremento de nutrientes que são carregados do solo para os corpos hídricos aumentando a disponibilidade de alimento para as espécies aquáticas (Silva et al., 2012). O suprimento alimentar elevado é um dos fatores exógenos responsáveis pelas variações que ocorrem nos padrões de crescimento dos peixes (Angeles et al., 2000). Além disso, fêmeas de *S. herzbergii* foram coletadas em maiores quantidades nas amostragens realizadas no período chuvoso para ambas as áreas de estudo. Esse período das chuvas, normalmente, coincide com a estação reprodutiva dessa espécie, que segue o padrão observado em bagres tropicais, nos quais se reproduzem na estação chuvosa (Martins-Juras, 1989). Assim, a presença de maiores quantidades de nutrientes no ambiente associado a maiores capturas de indivíduos fêmeas adultas podem ter influenciado nos resultados encontrados.

3.4 Avaliação gonadal

A avaliação macroscópica das gônadas revelou que 61% dos exemplares amostrados foram fêmeas e 39% machos. No geral, houve predomínio de espécimes na fase de desenvolvimento (FII) para as duas regiões de coleta (Tabela 7). Esses achados seguem o mesmo padrão de resultados observados no estudo anterior de Soares et al

(2018) com dados não publicados para a mesma espécie e regiões, em que a maioria dos espécimes de *S. herzbergii* foram encontrados na fase II (desenvolvimento). Isso mostra que esse peixe utiliza as regiões estuarinas analisadas para se reproduzir e que, embora Porto Grande esteja sob influência do Complexo Portuário da cidade de São Luís, essa área indica ser menos impactada para a espécie analisada em comparação com outros locais inseridos nas proximidades desse Complexo, como verificados em estudos anteriores (Carvalho et al., 2012; Sousa; Almeida; Carvalho-Neta, 2013; Carvalho Neta et al., 2016).

Tabela 7. Fases de desenvolvimento gonadal de *S. herzbergii* coletados em regiões estuarinas (A1 e A2) da Baía de São Marcos, Brasil (Brown-Peterson et al., 2011)

Fases de desenvolvimento	A1		A2	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
FI	0%	16%	0%	50%
FII	27%	67%	82%	37%
FIII	73%	17%	18%	0%
FIV	0%	0%	0%	13%

F I: imaturo; F II: desenvolvimento; F III: desova; F IV: regressão.

3.4 Parâmetros abióticos da água

A análise dos parâmetros abióticos apresentou características semelhantes para as duas áreas amostradas, exceto o oxigênio dissolvido que revelou teores mais elevados na região menos impactada (Tabela 8).

Tabela 8. Parâmetros abióticos da água registrados nas duas regiões estuarinas (A1 e A2) durante o período chuvoso e estiagem de 2019

Parâmetros	Chuvoso		Estiagem		Valores Recomendados
	A1	A2	A1	A2	
Temperatura (°C)	28,7	28,2	29,2	30,3	28 - 32 °C
Salinidade (g/kg)	13,3	15,3	14,2	15,5	≥ 30‰
pH	7,51	7,53	7,7	6,79	6,5 - 8,5
O ₂ dissolvido (mg/L)	6,1 ^a	5,7 ^a	6,3 ^b	5,8 ^b	> 4mg/L

A1 (área menos impactada); A2 (área potencialmente impactada);mg: miligramas; L: litros; g:grama; kg:quilograma; (a; b) = dados estatisticamente diferentes entre os locais de coleta $p < 0,05$ (*Teste-t* Student).

O oxigênio dissolvido (O_2) é de fundamental importância na manutenção da vida aquática e da qualidade da água, pois esse parâmetro serve para determinar o impacto de poluentes sobre corpos hídricos (Pinto et al., 2009). Ambientes aquáticos poluídos apresentam baixa concentração dessa variável (Santos et al., 2009). No entanto, foi observado que os valores obtidos de oxigênio dissolvido neste estudo estão de acordo com os permitidos pelos padrões nacionais. Apesar disso, o menor teor desse parâmetro encontrado na região portuária implica inferir que seja resultado da maior quantidade de substâncias químicas advindas dos assentamentos urbano-industriais e atividades portuárias inseridas nas proximidades do local de coleta dos peixes.

4. Conclusões

As diferenças das alterações histológicas dos órgãos analisados de *S. herzbergii* capturados nas duas áreas estuarinas podem ser devido a variação sazonal, uma vez que o fígado apresentou respostas significativas na estação chuvosa. Todavia, quando analisado em conjunto brânquias e fígado através do índice histológico total, os resultados indicam que outros fatores também são responsáveis por essas alterações, o que pode incluir a exposição dos peixes a substâncias tóxicas na área portuária. O entorno dessa região é composto por atividades portuárias e assentamentos urbano-industrial que tem o potencial de liberar concentrações crescentes de poluentes no ambiente aquático. Isso parece explicar as diferenças nos valores do índice histológico total entre os peixes capturados nas duas regiões estuarinas. Os valores obtidos das análises enzimáticas (GST e CAT) sugerem a capacidade dos peixes em regular os processos de desintoxicação e processos antioxidantes, visto que não indicaram efeitos recentes de possíveis exposições às substâncias tóxicas. Apesar dessas respostas não serem significativas do ponto de vista da estatística, não significa necessariamente ausência da ação de múltiplos efeitos xenobióticos nos mecanismos de desintoxicação e antioxidante dos organismos analisados, uma vez que as respostas enzimáticas elevadas são atribuídas, especialmente, quando a exposição a poluentes é recente.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pela concessão da bolsa de estudos, à Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), ao Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca

(PPGRAP/UEMA), ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAQ/UEMA), pelas condições fornecidas para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- Abdel-Khalek, A.A., Elhaddad, E., Mamdouh, S., Marie, M.A.S., 2018. The Chronic Exposure to Discharges of Sabal Drain Induces Oxidative Stress and Histopathological Alterations in *Oreochromis niloticus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 101, 92–98. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2366-9>
- AMARAL, R., ALFREDIN, P., 2010. Modelação Hidrossedimentológica no Canal de Acesso do Complexo Portuário do Maranhão. *Rev. Bras. Recur. Hídricos* 15, 5–14. <https://doi.org/10.21168/rbrh.v15n2.p5-14>
- Ameur, W. Ben, El Megdiche, Y., de Lapuente, J., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Ennaceur, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-López, D., Gonzalez-Linares, J., Touil, S., Driss, M.R., Borràs, M., 2015. 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* 135, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.050>
- Angeles, M.D.L., Lizama, P., Takemoto, M., 2000. Relação entre o padrão de crescimento em peixes e as diferentes categorias tróficas: uma hipótese a ser testada. *Acta Sci. Biol. Sci.* 22, 455–463. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v22i0.2896>
- Arnaud, C., Saint-Denis, M., Narbonne, J.F., Soler, P., Ribera, D., 2000. Influences of different standardised test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Soil Biol. Biochem.* 32, 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00130-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00130-3)
- Atli, G., Alptekin, Ö., Tükel, S., Canli, M., 2006. Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 143, 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.02.003>
- Azevedo, J.S., Braga, E.S., Silva de Assis, H.C., Oliveira Ribeiro, C.A., 2013. Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities.

- Ecotoxicol. Environ. Saf. 96, 220–230.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.021>
- Ballesteros, M.L., Rivetti, N.G., Morillo, D.O., Bertrand, L., Amé, M. V., Bistoni, M.A., 2017. Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess the impact of pollution in rivers with mixtures of environmental contaminants. *Sci. Total Environ.* 595, 711–722. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.203>
- Baudou, F.G., Ossana, N.A., Castañé, P.M., Mastrángelo, M.M., González Núñez, A.A., Palacio, M.J., Ferrari, L., 2019. Use of integrated biomarker indexes for assessing the impact of receiving waters on a native neotropical teleost fish. *Sci. Total Environ.* 650, 1779–1786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.342>
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journaul Fish Dis.* 22, 25–34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x>
- Brown-peterson, N.J., Wyanski, D.M., Saborido-rey, F., Macewicz, B.J., Lowerre-barbieri, S.K., 2011. SPECIAL SECTION: FISHERIES REPRODUCTIVE BIOLOGY A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Mar. and Coast. Fish. Dyn. Manag. Ecosyst. Sci.* 3, 52–70. <https://doi.org/10.1080/19425120.2011.555724>
- Calado, S.L. de M., Santos, G.S., Vicentini, M., Bozza, D.C., Prodocimo, V., Magalhães, V.F. de, Cestari, M.M., Silva de Assis, H.C., 2020. Multiple biomarkers response in a Neotropical fish exposed to paralytic shellfish toxins (PSTs). *Chemosphere* 238, 124616. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124616>
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop. Ichthyol.* 5, 327–336. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000300013>
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R., 2006. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 21, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.07.016>
- Carvalho-Neta, R.N.F., Castro, A.C.L. De, 2008. DIVERSIDADE DAS ASSEMBLÉIAS DE PEIXES ESTUARINOS DA ILHA DOS CARANGUEJOS, MARANHÃO.

- Arq. Ciências do Mar 41, 48–57.
- Carvalho-Neta, R.N.F., Torres, A.R., Abreu-Silva, A.L., 2012. Biomarkers in catfish *Sciades herzbergii* (teleostei: ariidae) from polluted and non-polluted areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 166, 1314–1327. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9519-1>
- Carvalho, C. dos S., Bernusso, V.A., Araújo, H.S.S. de, Espíndola, E.L.G., Fernandes, M.N., 2012. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere* 89, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.013>
- Carvalho Neta, R.N.F., Abreu-Silva, A.L., 2013. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes : Ariidae) for environmental monitoring : the case study of São Marcos Glutathión S-Transferasa como biomarcador en *Sciades herzbergii* (Siluriformes : Ariidae) para el monitoreo 41, 217–225. <https://doi.org/10.3856/vol41-issue2-fulltext-2>
- Carvalho Neta, R.N.F., Barbosa, G.L., Torres, H.S., Pinheiro Sousa, D.B., Castro, J. da S., Santos, D.M.S., Tchaicka, L., Almeida, Z. da S. de, Teixeira, E.G., Torres, A.R., 2017. Changes in Glutathione S-Transferase Activity and Parental Care Patterns in a Catfish (Pisces, Ariidae) as a Biomarker of Anthropogenic Impact in a Brazilian Harbor. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 72, 132–141. <https://doi.org/10.1007/s00244-016-0326-0>
- Carvalho Neta, R.N.F., Mota Andrade, T. de S. de O., de Oliveira, S.R.S., Torres Junior, A.R., da Silva Cardoso, W., Santos, D.M.S., dos Santos Batista, W., de Sousa Serra, I.M.R., Brito, N.M., 2019. Biochemical and morphological responses in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) as indicators of contamination status in mangroves and port areas from northern Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 15884–15893. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04849-0>
- Castro, J., França, C., Fernandes, J.F., Silva, J., Carvalho-Neta, R.N., Teixeira, E., 2018. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 20, 410–418.

- Dyk, J.C. Van, Cochrane, M.J., Wagenaar, G.M., 2012. Chemosphere Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere* 87, 301–311. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.002>
- Faheem, M., Lone, K.P., 2018. Oxidative stress and histopathologic biomarkers of exposure to bisphenol-A in the freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 53, 1–9. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000317003>
- Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Fontainhas-Fernandes, A., 2007. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 59, 376–381. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000200017>
- Ghisi, N.C., Oliveira, E.C., Guiloski, I.C., de Lima, S.B., Silva de Assis, H.C., Longhi, S.J., Prioli, A.J., 2017. Multivariate and integrative approach to analyze multiple biomarkers in ecotoxicology: A field study in Neotropical region. *Sci. Total Environ.* 609, 1208–1218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.266>
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751–766.
- Gutiérrez, J.M., Villar, S., Acuña Plavan, A., 2015. Micronucleus test in fishes as indicators of environmental quality in subestuaries of the Río de la Plata (Uruguay). *Mar. Pollut. Bull.* 91, 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.10.027>
- Hermenean, A., Damache, G., Albu, P., Ardelean, A., Ardelean, G., Puiu Ardelean, D., Horge, M., Nagy, T., Braun, M., Zsuga, M., Kéki, S., Costache, M., Dinischiotu, A., 2015. Histopatological alterations and oxidative stress in liver and kidney of *Leuciscus cephalus* following exposure to heavy metals in the Tur River, North Western Romania. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 119, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.029>
- Huber, P.C., Almeida, W.P., Fátima, Â., 2008. Glutathione e enzimas relacionadas: Papel biológico e importância em processos patológicos. *Quim. Nova* 31, 1170–1179. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500046>
- Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide

- dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J. Med.* 54, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Keen, J.H., Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1976. Mechanism for the Several Activities of the Glutathione. *J. Biol. Chem.* 251, 6183–6188.
- Khessiba, A., Roméo, M., Aïssa, P., 2005. Effects of some environmental parameters on catalase activity measured in the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to lindane. *Environ. Pollut.* 133, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.05.035>
- Kostić, J., Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Aborgiba, M., Gačić, Z., Paunović, M., Višnjic-Jeftić, Ž., Rašković, B., Poleksić, V., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B., 2017. The impact of multiple stressors on the biomarkers response in gills and liver of freshwater breams during different seasons. *Sci. Total Environ.* 601–602, 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.273>
- Lam, P.K.S., 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast. Manag.* 52, 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2009.04.010>
- Lisboa, P.V., Fernandes, E.H., 2015. Anthropogenic influence on the sedimentary dynamics of a sand spit bar, Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil. *J. Integr. Coast. Zo. Manag.* 15, 35–46. <https://doi.org/10.5894/rgci541>
- Liu, Hui, Sun, P., Liu, Hongxia, Yang, S., Wang, L., Wang, Z., 2015. Hepatic oxidative stress biomarker responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to four benzophenone UV filters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 119, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.017>
- Livingstone, D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 42, 656–666. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1)
- Marceniuk, A.P., 2005. Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. *B. Inst. Pesca* 31, 89–101.
- Monroy, M., Maceda-Veiga, A., de Sostoa, A., 2014. Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale

- environmental concern. *Sci. Total Environ.* 487, 233–244.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.134>
- Monserrat, J.M., Martínez, P.E., Geracitano, L.A., Lund, L., Martinez, C., Martins, G., Lopes, G., Pinho, L., Soares, I., Ferreira-cravo, M., Ventura-lima, J., Bianchini, A., 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives ☆. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 146, 221–234.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.08.012>
- Oliveira, S.R.S., Batista, W. dos S., Sousa, J.B.M., Noletto, K.S., Arouche Lima, I.M., Andrade, T.S.O.M., Cardoso, W. da S., Carvalho Neta, R.N.F., 2019. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 102, 802–810.
<https://doi.org/10.1007/s00128-019-02594-1>
- Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Solé, M., Porte, C., Cajaraville, M.P., 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquat. Toxicol.* 58, 75–98.
[https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00226-0)
- Paital, B., Chainy, G.B.N., 2013. Seasonal variability of antioxidant biomarkers in mud crabs (*Scylla serrata*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 87, 33–41.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.10.006>
- Pham, B., Miranda, A., Allinson, G., Nuggeoda, D., 2017. Evaluating the non-lethal effects of organophosphorous and carbamate insecticides on the yabby (*Cherax destructor*) using cholinesterase (AChE, BChE), Glutathione S-Transferase and ATPase as biomarkers. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 143, 283–288.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.035>
- Pinheiro-Sousa, D.B., Torres Junior, A.R., Silva, D., Santos, R.L., Fortes Carvalho Neta, R.N., 2019. A screening test based on hematological and histological biomarkers to evaluate the environmental impacts in tambaqui (*Colossoma macropomum*) from a protected area in Maranhão, Brazilian Amazon. *Chemosphere* 214, 445–451.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.146>

- Pinto, A., Oliveira, G., Pereira, G., 2009. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador da qualidade das águas superficiais da Bacia do Córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. *Rev. Geomae* 1, 69–82. <https://doi.org/10.4136/serhidro.72>
- Qualhato, G., de Sabóia-Morais, S.M.T., Silva, L.D., Rocha, T.L., 2018. Melanomacrophage response and hepatic histopathologic biomarkers in the guppy *Poecilia reticulata* exposed to iron oxide (maghemite) nanoparticles. *Aquat. Toxicol.* 198, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.014>
- Rainbow, P.S., Phillips, D.J.H., 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 26, 593–601. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(93\)90497-8](https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90497-8)
- Rautenberg, G.E., Amé, M.V., Monferrán, M.V., Bonansea, R.I., Hued, A.C., 2015. A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquía River. *Ecol. Indic.* 48, 706–720. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.09.025>
- Ribeiro, E.B., Almeida, Z. da S. de, Carvalho Neta, R.N.F., 2012. Hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos, Maranhão, Brasil. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 64, 1761–1765.
- Ribeiro, E.B., Bastos, L.S., Galeno, L.S., Mendes, R.S., Garino, F., Carvalho-Neta, R.N.F., Costa, F.N., 2016. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 182–186. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.013>
- Saleh, Y.S., Marie, M.A.S., 2016. Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: A baseline field study. *Mar. Pollut. Bull.* 106, 308–322. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.030>
- Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, A.K., Ghosh, A.R., 2014. Biochemical effects of glyphosate based herbicide, Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 107, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.025>

- Santana, M.S., Yamamoto, F.Y., Sandrini-neto, L., Filipak, F., Ortolani-machado, C.F., Oliveira, C.A., Mela, M., 2018. Ecotoxicology and Environmental Safety Diffuse sources of contamination in freshwater fish: Detecting effects through active biomonitoring and multi-biomarker approaches. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 149, 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.036>
- Santos, T.G. dos, Bezerra Junior, J.L., Costa, K.M.P. da, Feitosa, F.A. do N., 2009. Dinâmica da Biomassa Fitoplanctônica e Variáveis Ambientais em um Estuário Tropical (Bacia do Pina, Recife, PE). *Rev. Bras. Eng. Pesca* 4, 95–109.
- Silva, J.J.F., Nascimento, W.S., Araújo, A.S., Hirachy, N., Barros, C., 2012. Reprodução do peixe piau preto *Leporinus piau* (Fowler, 1941) e as variáveis ambientais do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte. *Biota Amaz.* 2, 10–21.
- Silva, M.H.L., Torres Júnior, A.R., Castro, A.C.L., Azevedo, J.W.J., Ferreira, C.F.C., Cardoso, R.L., Nunes, J.L.S., Carvalho-Neta, R.N.F., 2018. Fish assemblage structure in a port region of the Amazonic coast. *Iheringia - Ser. Zool.* 108, 1–11. <https://doi.org/10.1590/1678-4766e2018018>
- Sousa, D.B.P., Almeida, Z.S., Carvalho-Neta, R.N.F., 2013. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 65, 369–376.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Ventura, E.C., Gaelzer, L.R., Zanette, J., Marques, M.R.F., Bainy, A.C.D., 2002. Biochemical indicators of contaminant exposure in spotted pigfish (*Orthopristis ruber*) caught at three bays of Rio de Janeiro coast. *Mar. Environ. Res.* 54, 775–779. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00137-X](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00137-X)
- Vieira, C.E.D., Almeida, M. da S., Galindo, B.A., Pereira, L., Martinez, C.B. dos R., 2014. Integrated biomarker response index using a Neotropical fish to assess the water quality in agricultural areas. *Neotrop. Ichthyol.* 12, 153–164. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252014000100017>
- Whitfield, A.K., Elliott, M., 2002. Fishes as indicators of environmental and ecological

changes within estuaries: A review of progress and some suggestions for the future. *J. Fish Biol.* 61, 229–250. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2079>

Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring : An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta* 606, 135–150. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>

Zimmerli, S., Bernet, D., Burkhardt-Holm, P., Schmidt-Posthaus, H., Vonlanthen, P., Wahli, T., Segner, H., 2007. Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. *Aquat. Sci.* 69, 11–25. <https://doi.org/10.1007/s00027-006-0844-3>

Normas da revista Environmental Science and Pollution Research

Instructions for Authors

Types of Papers

Peerreviewed contributions:

- Research Articles (full papers)
- Short Original Communications and Discussion Articles
- Review Articles
- Research Communications

Please ensure that the length of your paper is in harmony with your research area and with the science presented.

All papers – excluding Editorials, Letters to the Editor, Book Reviews, Conference Reports – are subject to peerreview by a minimum of two and a maximum of three experts.

While submitting your paper you will be asked for three potential reviewers. Indicating three reviewers is mandatory.

To authors from nonEnglish language countries:

To have the best possible prerequisite for the review process, please ask a native speaker to check the quality of the English, before you submit the complete paper.

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

TITLE PAGE

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

Please avoid acronyms in the title of your article

For local studies, please indicate the name of the region and country in the title.

The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

The email address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of about 10 to 15 lines.

Keywords

Please provide 6 to 8 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

REFERENCES

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).

This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Order multiauthor publications of the same first author alphabetically with respect to second, third, etc. author. Publications of exactly the same author(s) must be ordered chronologically.

Language

References should be in English with an appropriate title in English. If it's in a different language the language should be indicated

Zhu J, Wu FC, Deng QJ, Shao SX, Mo CL, Pan XL, Li W, Zhang RY (2009)

Environmental characteristics of water near the Xikuangshan antimony mine. *Acta Scientiae Circumstantiae* 29:655661 (in Chinese)

TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF 50

format. MSOffice files are also acceptable

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps. Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi. Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line

drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your finalized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8pt type on an axis and 20pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and booksized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Please note:

Color art is free of charge for online and print publication.

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and email address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that largesized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for longterm viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk).

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.

Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.

Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing

Service and American Journal Experts.

English language tutorial

Nature Research Editing Service

American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire

scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the reuse of material to avoid the hint of textrecycling (“selfplagiarism”)).

A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g.

“salamipublishing”). No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions

No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

Consent to submit has been received explicitly from all coauthors, as well as from the responsible authorities tacitly or explicitly at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.

Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

Changes in authorship, or in the order of authors, are not accepted after the acceptance for publication of a manuscript.

Requesting to add or delete authors at revision stage, proof stage, or after publication is a serious matter and may be considered when justifiably warranted.

Justification for changes in authorship must be compelling and may be considered only after receipt of written approval from all authors and a convincing, detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. In case of changes at revision stage, a letter must accompany the revised manuscript. In case of changes after acceptance for publication, the request and documentation must be sent via the Publisher to the EditorinChief. In all cases, further documentation may be required to support your request. The decision on accepting the change rests with the EditorinChief of the journal and may be turned down. There for authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the

COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to: If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.

If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note.

The author's institution may be informed.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or nonfinancial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest Research involving Human Participants and/or Animals

Informed consent Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline.

Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the abovementioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the abovementioned guidelines.

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests that are

directly or indirectly related to the research may include but are not limited to the following:

Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)

Honoraria for speaking at symposia

Financial support for attending symposia

Financial support for educational programs

Employment or consultation

Support from a project sponsor

Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships

Multiple affiliations

Financial relationships, for example equity ownership or investment interest

Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)

Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (nonfinancial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

- Os valores dos índices histológicos dos órgãos analisados refletiram diferentes níveis de estresse dos peixes em pontos distintos da Baía de São Marcos, Maranhão, sendo que os exemplares amostrados na região portuária experimentaram danos teciduais maiores.
- Os biomarcadores nas brânquias e fígado de *S. herzbergii* revelaram uma metodologia adequada para detectar efeitos decorrentes da exposição crônica a poluentes, tendo as brânquias apresentado maiores valores dos índices histológicos entre as áreas de estudo, indicando ser o órgão mais afetado.
- As respostas bioquímicas não demonstraram diferenças entre os locais de amostragem. Porém, esse resultado não implica afirmar que os organismos coletados nas duas áreas de estudo estão livres da exposição de substâncias tóxicas, pois os dados histológicos revelaram que os mesmos foram afetados sugerindo uma exposição crônica. Desse modo, infere-se que o resultado dos parâmetros bioquímicos dos peixes analisados nas duas áreas pode estar relacionado com a existência de um eficiente sistemas de reparo bioquímico nos organismos.
- Apesar de inespecíficas, as alterações identificadas mostraram-se relevantes e ratifica as descobertas encontradas para a espécie estudada para o estado do Maranhão, Brasil. Além disso, o uso de biomarcadores em diferentes níveis da organização biológica se mostrou eficiente para avaliar de forma mais abrangente os efeitos biológicos dos xenobióticos sobre organismos analisados. Sendo assim, foram empregadas metodologias repetíveis, previsíveis, como os parâmetros bioquímicos, e rápidos para detectar os efeitos crônicos em tecidos dos organismos aquáticos.

- Portanto, os resultados deste estudo poderão subsidiar programas futuros relacionados ao monitoramento ambiental do complexo portuário de São Luís, Maranhão.

REFERÊNCIAS

ADAMS, S. M. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. **American Fisheries Societies**, v. 8, 1990.

ANTAQ. **Portos brasileiros**. Disponível em: <http://www.antaq.gov.br/Portal/pdf/Portos/Itaqui.pdf>. Acesso em: 27 de nov. 2018.

ABDEL-KHALEK, A. A. et al. The Chronic Exposure to Discharges of Sabal Drain Induces Oxidative Stress and Histopathological Alterations in *Oreochromis niloticus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 92–98, 2018.

ABDEL-MONEIM, A. M.; AL-KAHTANI, M. A.; ELMENSHAWY, O. M. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. **Chemosphere**, v. 88, n. 8, p. 1028–1035, 2012.

AL-GHAIS, S. M. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 183–186, 2013.

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.

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.

AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 6, n. 1, p. 1–13, 2003.

ANGELES, M. D. L.; LIZAMA, P.; TAKEMOTO, M. Relação entre o padrão de crescimento em peixes e as diferentes categorias tróficas: uma hipótese a ser testada. **Acta Scientiarum : Biological Sciences**, v. 22, p. 455–463, 2000.

ARAÚJO, F. G. Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 5, n. 4, 1988.

ARNAUD, C. et al. Influences of different standardised test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 1, p. 67–73, 2000.

ATLI, G. et al. Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 143, n. 2, p. 218–224, 2006.

AZEVEDO, J. S. et al. Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 96, p. 220–230, 2013.

BALLESTEROS, M. L. et al. Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess the impact of pollution in rivers with mixtures of environmental contaminants. **Science of the Total Environment**, v. 595, p. 711–722, 2017.

- BAMIDELE, O. S.; KOLAWOLE, A. O.; AJELE, J. O. Some physicochemical properties of two major soluble hepatic glutathione transferases of tilapia (*Tilapia zilli*). **Aquatic Toxicology**, v. 112–113, p. 39–45, 2012.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BATISTA, M. T. O. et al. Tissue levels of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in fish *Astyanax bimaculatus* from the Una River Basin. **Revista Ambiente e Agua**, v. 9, n. 3, p. 445–458, 2014.
- BAUDOU, F. G. et al. Use of integrated biomarker indexes for assessing the impact of receiving waters on a native neotropical teleost fish. **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 1779–1786, 2019.
- BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25–34, 1999.
- BLABER, S. J. . **Tropical estuarine fishes: ecology, exploitation and conservation**. Oxford: Blackwell Science, 2008.
- BROWN-PETERSON, N. J. et al. SPECIAL SECTION: FISHERIES REPRODUCTIVE BIOLOGY A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v. 3, p. 52–70, 2011.
- 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, 2003.
- CALADO, S. L. DE M. et al. Multiple biomarkers response in a Neotropical fish exposed to paralytic shellfish toxins (PSTs). **Chemosphere**, v. 238, p. 124616, 2020.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 61–69, 2006.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327–336, 2007.
- CANTANHÊDE, S. M. et al. Evaluation of environmental quality of two estuaries in Ilha do Maranhão, Brazil, using histological and genotoxic biomarkers in *Centropomus undecimalis* (Pisces, Centropomidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 20, p. 21058–21069, 2016.
- CARDOSO, C. M. et al. Common snook juveniles, *Centropomus undecimalis*, as biomonitor organisms to evaluate cytogenotoxicity effects of surface estuarine water from Southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, p. 110513, 2019.
- CARVALHO-NETA, R. N. F.; CASTRO, A. C. L. DE. DIVERSIDADE DAS ASSEMBLÉIAS DE PEIXES ESTUARINOS DA ILHA DOS CARANGUEJOS, MARANHÃO. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 41, n. 1, p. 48–57, 2008.
- 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, 2012.
- CARVALHO, C. DOS S. et al. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, n. 1, p. 60–69, 2012.
- 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. 1–7, 2014.
- CARVALHO NETA, R. N. F. et al. Changes in Glutathione S-Transferase Activity and Parental Care Patterns in a Catfish (*Pisces*, *Ariidae*) as a Biomarker of Anthropogenic Impact in a Brazilian Harbor. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, n. 1, p. 132–141, 2017.
- CARVALHO NETA, R. N. F. et al. Biochemical and morphological responses in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) as indicators of contamination status in mangroves and port areas from northern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 16, p. 15884–15893, 2019.
- CARVALHO NETA, R. N. F.; ABREU-SILVA, A. L. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes : *Ariidae*) for environmental monitoring : the case study of São Marcos Glutathion S-Transferasa como biomarcador en *Sciades herzbergii* (Siluriformes : *Ariidae*) para el monitoreo. v. 41, n. 2, p. 217–225, 2013.
- CASTRO, A. C. L.; CASTRO, K. D. D.; RIBEIRO-PORTO, H. L. DISTRIBUIÇÃO DA ASSEMBLÉIA DE PEIXES NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DE UMA INDÚSTRIA DE ALUMÍNIO NA ILHA DE SÃO LUIS – MA. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 43, n. 2, p. 71–78, 2010.
- CASTRO, J. . 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. 20, n. 2, p. 410–418, 2018.
- CHATZINIKOLAOU, E. et al. Spatio-temporal benthic biodiversity patterns and pollution pressure in three Mediterranean touristic ports. **Science of the Total Environment**, v. 624, p. 648–660, 2018.
- COGO, A. J. D. et al. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line**, v. 7, n. 1, p. 37–42, 2009.
- 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.
- DALZUCHIO, T. et al. Water quality parameters, biomarkers and metal bioaccumulation in native fish captured in the Ilha River, southern Brazil. **Chemosphere**, v. 189, p. 609–618, 2017.
- DUARTE, I. A. et al. Short-term variability of fish condition and growth in estuarine and shallow coastal areas. **Marine Environmental Research**, v. 134, p. 130–137, 2018.
- DYK, J. C. VAN; COCHRANE, M. J.; WAGENAAR, G. M. Chemosphere Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. **Chemosphere**, v. 87, n. 4, p. 301–311, 2012.
- FAHEEM, M.; LONE, K. P. Oxidative stress and histopathologic biomarkers of exposure

to bisphenol-A in the freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 3, p. 1–9, 2018.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61–69, 1997.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS OBSERVADAS NO FÍGADO DO LAMBARÍ *Astyanax jacuhiensis* (COPE , 1894) (TELEOSTEI , CHARACIDAE) SOB INFLUÊNCIA DE EFLUENTES PETROQUÍMICOS. **Biociências**, v. 15, n. 2, p. 166–172, 2007.

FONSECA, V. F. et al. Modeling fish biological responses to contaminants and natural variability in estuaries. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 45–55, 2014.

FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. The Use of Biomarkers in Aquatic Toxicology Studies. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 1, n. 1, p. 67–86, 2005.

FREIRE, M. M. et al. Biomarcadores Na Avaliação Da Saúde Ambiental Dos Ecossistemas Aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 03, p. 347–354, 2008.

GARCIA-SANTOS, S. et al. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 376–381, 2007.

GHISI, N. C. et al. Multivariate and integrative approach to analyze multiple biomarkers in ecotoxicology: A field study in Neotropical region. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 1208–1218, 2017.

GUTIÉRREZ, J. M.; VILLAR, S.; ACUÑA PLAVAN, A. Micronucleus test in fishes as indicators of environmental quality in subestuaries of the Río de la Plata (Uruguay). **Marine Pollution Bulletin**, v. 91, n. 2, p. 518–523, 2015.

HERMENEAN, A. et al. Histopathological alterations and oxidative stress in liver and kidney of *Leuciscus cephalus* following exposure to heavy metals in the Tur River, North Western Romania. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 198–205, 2015.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. Glutathione e enzimas relacionadas: Papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287–293, 2018.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES EM PEIXES COMO FERRAMENTA PARA AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR MERCÚRIO (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 04, p. 680–693, 2008.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the Several Activities of the Glutathione. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183–6188, 1976.

KHESSIBA, A.; ROMÉO, M.; AÏSSA, P. Effects of some environmental parameters on

catalase activity measured in the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to lindane. **Environmental Pollution**, v. 133, n. 2, p. 275–281, 2005.

KOSTIĆ, J. et al. The impact of multiple stressors on the biomarkers response in gills and liver of freshwater breams during different seasons. **Science of the Total Environment**, v. 601–602, p. 1670–1681, 2017.

KROON, F.; STRETEN, C.; HARRIES, S. **A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review**. [s.l: s.n.]. v. 12

KUMAR, N. et al. Cellular stress and histopathological tools used as biomarkers in *Oreochromis mossambicus* for assessing metal contamination. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 49, p. 137–147, 2017.

LAM, P. K. S. Use of biomarkers in environmental monitoring. **Ocean and Coastal Management**, v. 52, n. 7, p. 348–354, 2009.

LAM, P. K. S.; GRAY, J. S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 2, p. 182–186, 2003.

LIMA, L. B. D. DE et al. Use of biomarkers to evaluate the ecological risk of xenobiotics associated with agriculture. **Environmental Pollution**, v. 237, p. 611–624, 2018.

LINS, J. A. P. N. et al. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 4, p. 469–484, 2010.

LISBOA, P. V.; FERNANDES, E. H. Anthropogenic influence on the sedimentary dynamics of a sand spit bar, Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 15, n. 1, p. 35–46, 2015.

LIU, H. et al. Hepatic oxidative stress biomarker responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to four benzophenone UV filters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 116–122, 2015.

LIU, Q. et al. Assessment of heavy metal pollution, distribution and quantitative source apportionment in surface sediments along a partially mixed estuary (Modaomen, China). **Chemosphere**, v. 225, p. 829–838, 2019.

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, 2001.

LU, Y. et al. Major threats of pollution and climate change to global coastal ecosystems and enhanced management for sustainability. **Environmental Pollution**, v. 239, p. 670–680, 2018.

LUPI, C. et al. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe On Line**, n. 3, p. 1–6, 2007.

LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 13–30, 2011.

MADEIRA, D. et al. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 166, n. 2, p. 237–243, 2013.

- MAGALHÃES, D. DE P.; FERRÃO FILHO, A. DA S. A Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008.
- MARCENIUK, A. P. Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. **B. Inst. Pesca**, v. 31, n. 2, p. 89–101, 2005.
- MONROY, M.; MACEDA-VEIGA, A.; DE SOSTOA, A. Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale environmental concern. **Science of the Total Environment**, v. 487, n. 1, p. 233–244, 2014.
- MONSERRAT, J. M. et al. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives ☆. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 1–2, p. 221–234, 2007.
- O'CALLAGHAN, I. et al. The freshwater isopod *Asellus aquaticus* as a model biomonitor of environmental pollution: A review. **Chemosphere**, v. 235, p. 498–509, 2019.
- OJOPAGOGO, Y. A. et al. Some novel features of glutathione transferase from juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to lindane-contaminated water. **Perspectives in Science**, v. 4, p. 62–65, 2015.
- 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, 2019.
- ORBEA, A. et al. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). **Aquatic Toxicology**, v. 58, n. 1–2, p. 75–98, 2002.
- PAITAL, B.; CHAINY, G. B. N. Seasonal variability of antioxidant biomarkers in mud crabs (*Scylla serrata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 87, p. 33–41, 2013.
- PHAM, B. et al. Evaluating the non-lethal effects of organophosphorous and carbamate insecticides on the yabby (*Cherax destructor*) using cholinesterase (AChE, BChE), Glutathione S-Transferase and ATPase as biomarkers. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, n. January, p. 283–288, 2017.
- PINHEIRO-SOUSA, D. B. et al. A screening test based on hematological and histological biomarkers to evaluate the environmental impacts in tambaqui (*Colossoma macropomum*) from a protected area in Maranhão, Brazilian Amazon. **Chemosphere**, v. 214, p. 445–451, 2019.
- PINTO, A.; OLIVEIRA, G.; PEREIRA, G. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador da qualidade das águas superficiais da Bacia do Córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Revista Geomae**, v. 1, n. 1, p. 69–82, 2009.
- PIVETTA, F. et al. Biological monitoring: concepts and applications in public health. **Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 545–554, 2001.
- POLEKSIC, V. .; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and

chronic effects of pollution. In: **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Oxford: Fishing News Books, 1994.

PRABHAKARAN, K. et al. Biomonitoring of Malaysian aquatic environments: A review of status and prospects. **Ecohydrology and Hydrobiology**, v. 17, n. 2, p. 134–147, 2017.

QUALHATO, G. et al. Melanomacrophage response and hepatic histopathologic biomarkers in the guppy *Poecilia reticulata* exposed to iron oxide (maghemite) nanoparticles. **Aquatic Toxicology**, v. 198, p. 63–72, 2018.

QUEIROGA, F. R. et al. Reproductive biology of *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) in a tropical estuary in Brazil. **Zoologia**, v. 29, n. 5, p. 397–404, 2012.

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

RAINBOW, P. S.; PHILLIPS, D. J. H. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 11, p. 593–601, 1993.

RAUTENBERG, G. E. et al. A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquía River. **Ecological Indicators**, v. 48, p. 706–720, 2015.

RIBEIRO, E. B. et al. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1–2, p. 182–186, 2016.

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

RODRIGUES, C. A. L. et al. Padrões de distribuição de moluscos em manguezais da Baía de São Marcos, costa do Estado do Maranhão, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 4, p. 391–400, 2016.

SADAUSKAS-HENRIQUE, H. et al. Validation of a suite of biomarkers of fish health in the tropical bioindicator species, tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Ecological Indicators**, v. 73, p. 443–451, 2017.

SAKURAGUI, M. M.; SANCHES, J. R.; FERNANDES, M. N. Gill chloride cell proliferation and respiratory responses to hypoxia of the neotropical erythrinid fish *Hoplias malabaricus*. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 173, n. 4, p. 309–317, 2003.

SALEH, Y. S.; MARIE, M. A. S. Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: A baseline field study. **Marine Pollution Bulletin**, v. 106, n. 1–2, p. 308–322, 2016.

SAMANTA, P. et al. Biochemical effects of glyphosate based herbicide, Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 107, p. 120–125, 2014.

SAMARAWEERA, A. V. et al. Molecular characterization and functional analysis of

glutathione S-transferase kappa 1 (GST κ 1) from the big belly seahorse (*Hippocampus abdominalis*): Elucidation of its involvement in innate immune responses. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 92, p. 356–366, 2019.

SANTANA, M. S. et al. Ecotoxicology and Environmental Safety Di ff use sources of contamination in freshwater fi sh : Detecting e ff ects through active biomonitoring and multi-biomarker approaches. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 149, p. 173–181, 2018.

SANTOS, T. G. DOS et al. Dinâmica da Biomassa Fitoplanctônica e Variáveis Ambientais em um Estuário Tropical (Bacia do Pina, Recife, PE). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 1, p. 95–109, 2009.

SILVA, J. J. F. et al. Reprodução do peixe piau preto *Leporinus piau* (Fowler , 1941) e as variáveis ambientais do açude Marechal Dutra , Rio Grande do Norte. **Biota Amazônia**, v. 2, n. 1, p. 10–21, 2012.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 04, p. 565–573, 2007.

SILVA, M. H. L. et al. Fish assemblage structure in a port region of the Amazonic coast. **Iheringia - Serie Zoologia**, v. 108, p. 1–11, 2018.

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

SOUZA, I. C. et al. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. **Environmental Pollution**, v. 180, p. 136–144, 2013.

STENTIFORD, G. D. et al. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, v. 55, n. 2, p. 137–159, 2003.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57–149, 2003.

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.

VIEIRA, C. E. D. et al. Integrated biomarker response index using a Neotropical fish to assess the water quality in agricultural areas. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, n. 1, p. 153–164, 2014.

WHITFIELD, A. K.; ELLIOTT, M. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: A review of progress and some suggestions for the future. **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 229–250, 2002.

WHITFIELD, A. K.; HARRISON, T. D. **Fishes as Indicators of Estuarine Health**. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.

ZHOU, Q. et al. Biomonitoring : An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, n. 2, p. 135–150, 2008.

ZIMMERLI, S. et al. Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. **Aquatic Sciences**, v. 69, n. 1, p. 11–25, 2007.