



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

LORENA DOS SANTOS KOSTEK

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Lutjanus chrysurus* BLOCH (1791)
CAPTURADOS NA ILHA DE ITAMARACÁ AFETADA PELO DERRAMAMENTO
DE ÓLEO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

São Luís – MA

2022

LORENA DOS SANTOS KOSTEK

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Lutjanus chrysurus* BLOCH (1791)
CAPTURADOS NA ILHA DE ITAMARACÁ AFETADA PELO DERRAMAMENTO
DE ÓLEO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual do Maranhão.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Rosângela Paula Teixeira Lessa

Co- Orientador (a) Prof^a. Dr^a. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta

Grande Área: Recursos Pesqueiros; Área: Biomonitoramento; Subárea: Ecologia; Especialidade Biomarcadores aquático.

**São Luís – MA
2022**

Kostek, Lorena dos Santos.

Biomarcadores histológicos em *Lutjanus chrysurus* BLOCH (1791) capturados na ilha de Itamaracá afetada pelo derramamento de óleo no estado de Pernambuco, Brasil / Lorena dos Santos Kostek. – São Luís, 2023.

... f

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Estadual do Maranhão, 2023.

Orientadora: Profa. Dra. Rosângela Paula Teixeira Lessa.

1.Histologia. 2.Peixes. 3.Contaminação. 4.Região costeira. I.Título

CDU: 639.2.053.3(813.4)

Elaborado por Giselle Frazão Tavares - CRB 13/665

LORENA DOS SANTOS KOSTEK

**BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS EM *Lutjanus chrysurus* BLOCH (1791)
CAPTURADOS NA ILHA DE ITAMARACÁ AFETADA PELO DERRAMAMENTO
DE ÓLEO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada em cumprimento às exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual do Maranhão.

Defesa em: 20/12/2022

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosângela Paula Teixeira Lessa
(Orientadora/ Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade-PPGECB/ UEMA)

Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta
(Co- Orientadora/ Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade- PPGECB UEMA)

Profa. Dra. Débora Batista Pinheiro-Sousa
1ª Examinador (UFMA)

Profa. Dra. Eliane Braga Ribeiro
2ª Examinadora
(UEMA)

Dedico este trabalho à minha
família e amigos que muito
contribuíram para a realização
dessa pesquisa!

AGRADECIMENTOS

Hoje, quero registrar toda minha gratidão a todas as pessoas que contribuíram com esse trabalho e dizer o quanto foram importantes para mim nessa caminhada durante os dois anos de mestrado.

Primeiramente, gostaria de agradecer a **Deus** que guiou meus passos me dando proteção e força em todos os momentos dessa jornada.

Minha **família Kostek**, por estar mesmo de longe sempre me apoiando e desejando boas energias. Obrigada, vocês são as pessoas mais importantes da minha vida.

À minha querida orientadora, **Rosângela Paula Teixeira Lessa**. Obrigada pelos ensinamentos, orientações e pela oportunidade durante essa jornada. Foram experiências inesquecíveis!

À minha querida co-orientadora Profa. Dra. **Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta** que me apoiou durante esses dois anos de orientação. Obrigada, por todas as orientações, conhecimentos compartilhados, experiências adquiridas e confiança

Aos meus amigos da turma de mestrado **Wallacy Borges e Amanda Marques**, pelas conversas descontraídas e pela amizade. Obrigada, por vocês fazerem parte dessa história!

Ao meu querido amigo **Gregório Naziazeno**, por toda a ajuda, conselhos e energia positiva para eu conseguir alcançar mais essa conquista, obrigada por tudo.

A minha amiga **Elida Jesana Santana, cunha**, pela companhia e pela aventura de encarar esses dois anos longe de casa.

À minha querida **Maria Fabiene Sousa Barros**, por desde o início ter me ajudado em toda essa trajetória, sem você o caminho seria mais difícil, grata pela sua vida na minha vida. Obrigada por todo apoio espiritual e emocional.

Ao **Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia e Monitoramento de Ambientes Aquáticos** (GPEMAAq) e ao **Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos**, pelas grandiosas contribuições, que me ajudaram muito a crescer em conhecimentos. Obrigada!

À **Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão** (FAPEMA) pelo apoio financeiro. Ao **Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade** da Universidade Estadual do Maranhão pela formação acadêmica.

Ao **Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas**, da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo envio das amostras, obrigada a todos os colaboradores.

OBRIGADA

RESUMO

Este estudo teve como objetivo analisar biomarcadores histológicos em brânquia, fígado, rim e gônada na espécie *Lutjanus chrysurus* em um dos trechos mais afetados pelo derramamento de óleo no estado de Pernambuco. Os peixes foram adquiridos pela compra comercial na ilha de Itamaracá, Pernambuco. Em Laboratório foram obtidos os dados biométricos de cada exemplar e feita a dissecação dos espécimes, para remoção e fixação das brânquias, rins, gônadas e fígado, quando estes foram fixados em formol a 10% por 24 horas. Em seguida as brânquias foram descalcificadas por 9hs. As amostras dos tecidos foram submetidas à técnica histológica padrão, sendo desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Em seguida cortes transversais de 5 micrômetros de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e as lâminas foram analisadas em microscópio de luz. Os dados biométricos dos peixes da área de estudo foram expressos em médias e desvio-padrão. Para verificar a normalidade utilizou-se o (Teste Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Teste de Levene). O teste t de *student* foi utilizado para verificar possíveis diferenças entre as médias. O teste t de *student* foi utilizado para comparar os dados das lesões branquiais e hepáticas encontradas. Os dados mostraram lesões branquiais e hepáticas significativas nos peixes da área de estudo. As principais lesões encontradas para as brânquias foram fusão, hiperplasia, necrose e desorganização lamelar, os dados estatísticos demonstra haver diferenças significativas apenas para a lesão desorganização lamelar. As lesões hepáticas mais observadas foram fibrose, necrose e esteatose para a coleta 1, já para a coleta 2 as lesões mais frequentes foram necrose, centro melanomacrofágos (CMMs) e células em diferenciação. O teste t demonstrou haver diferenças apenas para as lesões fibrose e necrose ($p < 0,05$). Para o tecido renal as alterações observadas foram espaçamento do endotélio capilar, aumento do lúmen tubular, aumento na capsula de Bowman, necrose, CMMs, oclusão da luz tubular e dilatação do vaso sanguíneo. Para as gônadas as alterações observadas foram CMMs, necrose e folículo atrésico. A biometria indicou para os peixes que não houve diferenças significativas entre os sexos ($p > 0,05$). O estudo indicou que as respostas biológicas alteradas (alterações branquiais, hepáticas, renais e gonodais) comprovam que esses animais estão submetidos a níveis de estresse que estão comprometendo as suas atividades biológicas.

Palavras-chaves: Histologia, Peixes, Contaminação; Região Costeira

ABSTRACT

This study aimed to analyze histological biomarkers in gills, liver, kidney and gonad in the species *Lutjanus chrysurus* in one of the stretches most affected by the oil spill in the state of Pernambuco. The fish were acquired by purchasing trade on the island of Itamaracá, Pernambuco. In the laboratory, biometrics of each specimen and dissection for removal and fixation gills, kidneys, gonads and liver was carried out when they were fixed in 10% formalin for 24 hours. Then the gills were decalcified for 9 hours. The tissue samples were submitted to the standard histological technique, when they were dehydrated in crescents series of alcohols, cleared in xylene, impregnated and embedded in paraffin in then cross-sections of 5 micrometers thick were stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and slides were analyzed under a light microscope. Biometric data of the fish in the study area were expressed as means and standard deviations. To verify normality, the Shapiro-Wilk test was used and for homoscedasticity we used the Levene test. Student's t test was used to verify possible differences between means. Student's t test was used to compare the data of branchial and hepatic lesions found. The data showed significant lesions in gill and liver in fish from the study area. The main injuries found for the gills were fusion, hyperplasia, necrosis and lamellar disorganization, the statistical data show that there are significant differences only for the lamellar disorganization injury. The most observed liver lesions were fibrosis, necrosis and steatosis for sample collection 1, while for sample collection 2 the most frequent lesions were necrosis, center melanomacrophages (MMCs) and differentiating cells. The t-test showed that differences only for fibrosis and necrosis lesions ($p < 0.05$). For kidney tissue changes observed were spacing of the capillary endothelium, increased lumen tubular lumen, Bowman's capsule enlargement, necrosis, CMMs, tubular lumen occlusion, and blood vessel dilation. For the gonads, the changes observed were CMMs, necrosis and atretic follicle. The biometrics indicated for the fish that there were no differences significant between sexes ($p > 0.05$). The study indicated that biological responses alterations (branchial, hepatic, renal and gonadal alterations) prove the existence of that these animals are submitted to levels of stress that are inhibiting the biological activities of the fish.

Keywords: Biomarkers; Histology, Fish, Coastal Region

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de <i>Lutjanus chrysurus</i> capturado em Pernambuco, PE.....	28
Figura 2. Área de captura da espécie <i>L. chrysurus</i> , Pernambuco, mapa da Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil uma das áreas mais afetada pelo derramamento de óleo em 2019.....	29
Figura 3 Esquema das medidas CT, CF dos espécimes de <i>L. chrysurus</i> capturados na Ilha de Itamaracá	30
Figura 4. Esquema e fotomicrografia do arco branquial de <i>L. chrysurus</i> (A) esquema do filamento branquial e suas estruturas (B) lamelas secundárias normais (círculo).....	35
Figura 5. Imagem das lesões branquiais observadas em <i>L. chrysurus</i> na Ilha de Itamaracá (área mais impactada pelo derramamento de óleo)	38
Figura 6. Percentuais de lesões branquiais dos peixes (<i>L. chrysurus</i>) capturados na região de Itamaracá, Pernambuco.....	39
Figura 7. Dendograma da similaridade, índice Bray-curtis das lesões branquiais em <i>L. chrysurus</i> capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	42
Figura 8. Frequência das lesões hepáticas dos peixes (<i>L. chrysurus</i>) capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	47
Figura 9. Fotomicrografia das lesões hepáticas observadas em <i>L. chrysurus</i> na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	49
Figura 10. Dendograma da similaridade, do índice Bray-curtis das lesões hepáticas de <i>L. chrysurus</i> capturados em Itamaracá.....	50
Figura 11. Fotomicrografias das alterações renais observadas em <i>L. chrysurus</i> na região de Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil. visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	53
Figura 12. Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões renais em <i>L. chrysurus</i> capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	54
Figura 13. Corte histológico de gônadas de <i>L. chrysurus</i> . A – Corte de ovário mostrando oócitos em diferentes estágios de maturação. B – Corte de testículo apresentando estrutura normal com diferentes estágios de desenvolvimento dos espermatozoides. Visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	56
Figura 14. Corte histológico de gônadas de <i>L. chrysurus</i> . A – Corte de ovário mostrando folículo atresico. B – Corte de testículo apresentando áreas de necrose (setas) visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	57
Figura 15. Corte histológico de gônada de macho <i>L. chrysurus</i> apresentando centros melanomacrofágos (ponta das setas), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.....	57
Figura 16. Gráfico comparando o total de lesões encontradas em brânquias, fígado, gônada e rins de <i>L. chrysurus</i> na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros da relação peso-comprimento para machos e fêmeas de <i>L. chrysurus</i> , no período de maio/2021 e setembro/2021, capturados na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil...	33
Tabela 2. Média, desvio-padrão e teste T de student das alterações branquiais de peixes (<i>L. chrysurus</i>) coletados em Itamaracá, Pernambuco.....	36
Tabela 3. Médias das lesões histopatológicas observadas nos cortes fígado dos peixes da região de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.....	44
Tabela 4. Média e desvio-padrão das alterações observadas nos rins dos peixes (<i>L. chrysurus</i>) coletados em Itamaracá, Pernambuco.....	51
Tabela 5: Patologias observadas, fator de importância (w) e índice de órgão para <i>L. chrysurus</i> capturados na Ilha de Itamaracá, Pernambuco.....	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 Monitoramento ambiental	16
3.2 Monitoramento ambiental em regiões costeiras	17
3.3 Monitoramento ambiental em regiões afetadas por contaminação de petróleo	18
3.4 Os peixes como bioindicador para monitoramento ambiental aquático	20
3.4.1 Biomarcadores histológicos em brânquias	21
3.4.2 Biomarcadores histológicos em Fígado.....	22
3.4.3 Biomarcadores histológicos em rim.....	23
3.4.4 Biomarcadores histológicos em gônadas.....	24
3.5 Biomarcadores para monitoramento ambiental	25
3.6 <i>Lutjanus chrysurus</i> como bioindicador para avaliação de impactos na Ilha de Itamaracá, Pernambuco	27
4 METODOLOGIA.....	28
4.1 Área de estudo	28
4.2 Obtenção das amostras.....	29
4.3 Procedimento Laboratorial	30
4.3.1 Dados Biométricos	30
4.3.2 Retirada dos tecidos e fixação	31
4.3.3 Análise histológica	31
4.4 Índice de pontuação de órgão das brânquias, fígado e rim de <i>L. chrysurus</i>	31
4.6 Tratamento estatístico dos dados	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 Dados biométricos de <i>Lutjanus chrysurus</i>	32
5.2 Estrutura e Histopatologia nas brânquias de <i>L. chrysurus</i>	34
5.3.1 Dendograma e similaridade entre as lesões branquiais de <i>L. chrysurus</i> na área estudada	41
5.4 Lesões hepáticas observadas em <i>L. chrysurus</i>	43
5.4.1 Dendograma e similaridade entre as lesões hepáticas de <i>L. chrysurus</i> na área de Itamaracá	50

5.5 Histologia das lesões observadas nos rins dos peixes da espécie <i>L. chrysurus</i>	51
5.5.1 Dendograma e similaridade entre as lesões observadas nos rins dos peixes da espécie <i>L. chrysurus</i> na área de Itamaracá	54
5.6 Histologia das gônadas	55
5.7 Índice de lesões branquiais, hepáticas e renais de <i>L. chrysurus</i>	58
5.8 Comparação das alterações brânquias, hepáticas, renais e gonadais de <i>L. chrysurus</i> capturados na ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.	59
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

O petróleo é uma fonte de energia essencial e não renovável, sendo a principal fonte de energia primária na atualidade (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2020). O tráfego marítimo contribuiu para o número de acidentes e derramamentos registrados com petroleiros na costa brasileira nos últimos 20 anos (MUSK, 2012), o Brasil é um dos países mais vulneráveis aos impactos socioeconômicos e ambientais da poluição por petróleo bruto em ambientes costeiros (MAGRIS; GIARRIZZO, 2020).

Existem vários compostos impactantes que podem gerar danos aos organismos aquáticos e esses compostos podem variar de acordo com sua origem, sendo que os de origem petrogênica, por exemplo, podem ocorrer por derramamento, acidente e/ou vazamentos de petróleo e óleo bruto ou cru nos oceanos e plataformas continentais (MARTINS et al., 2020).

Em um ambiente degradado, particularmente onde poluentes ocorrem em concentrações crônicas e subletais, mudanças na estrutura e função de organismos aquáticos são mais frequentes que mortalidade em massa. Nesse contexto, podemos destacar os peixes enquanto modelos para biomonitoramento, visto que são animais extremamente sensíveis a poluentes aquáticos e que por meio do processo de biomagnificação, entram na alimentação humana (LUPI et al., 2007). Outro fato é que o ambiente que estes organismos estão inseridos são ecossistemas vulneráveis às questões ecológicas e impactos socioeconômicos da poluição por petróleo bruto em ambientes marinhos (ESCOBAR, 2019).

Além disso, os peixes estão sujeitos a duplo perigo de contaminação por poluentes, pois podem absorver os contaminantes através da absorção direta de substâncias do meio, pelas brânquias, pele ou pelo alimento ingerido (ODUM, 1988). Outro fato é que devido aos fatores biológicos e populacionais (maturidade sexual tardia, crescimento lento, alta longevidade e fecundidade), os peixes apresentam uma alta vulnerabilidade a atividade humana (STEVENS et al., 2000).

Em agosto de 2019 foi identificado no litoral Nordeste do Brasil o início de um derramamento de óleo que seria, posteriormente, considerado o maior desastre ambiental da história do país (ARAÚJO et al., 2020). Os estados de Pernambuco e da Paraíba receberam as primeiras manchas de óleo, as quais em novembro do mesmo ano afetaram 400 localidades e posteriormente alcançou a região sudeste do país, atingindo estados como o Espírito Santo, Rio de Janeiro e região Norte, atingindo a costa do Maranhão, tornando-se, assim, um evento de grande extensão geográfica e ocasionando enormes danos ambientais de curto, médio e longo prazo (CARMO; TEIXEIRA, 2020).

Em situações de derramamento de petróleo, caracterizados como eventos agudos, é

importante entender os processos que ocorrem com os compostos para compreender a mecânica de exposição crônica e processos de bioacumulação, para analisar a estrutura da população marinha e a possibilidade de transferência de contaminantes para os seres humanos (MEADOR et al., 1995).

Esse tipo de contaminação, gera riscos de perda séria de biodiversidade e de serviços ambientais, os quais aumentam progressivamente à medida que o óleo liberado no mar chega à costa e em ecossistemas costeiros levando em conta o consumo de pescado (MAGRIS; GIARRIZZO, 2020).

A Guaiúba (*Lutjanus chrysurus*) é uma espécie que possui uma alta importância econômica e como fonte geradora de renda, a fim de subsidiar programas de manejo e de vigilância sanitária. Na literatura, não existem informações aprofundadas e as poucas disponíveis são incipientes sobre a qualidade do pescado capturado que chega ao consumidor, pois, as pesquisas realizadas para o tipo de petróleo envolvido neste incidente, ainda são escassas, com origem ainda desconhecida. Esse fato aponta para a necessidade de monitoramento ambiental capaz de detectar os efeitos do óleo e dos xenobióticos em peixes capturados nessa região.

Nesse contexto, nos ambientes costeiros e em estuários os efeitos dos contaminantes agem de forma mais brusca por serem ambientes mais sensíveis e os peixes demersais estão ali cada vez mais expostos a poluentes químicos (metais traços, óleo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, compostos halogenados, etc.) por conta dos efeitos atóxicos (CELANDER, 2011).

Segundo Gold-Bouchot (2017) a avaliação e o monitoramento de ambientes marinhos é importante para a proteção ambiental e as abordagens para avaliar os efeitos ocasionados nas espécies, estudadas como biomarcadores, permitem estabelecer interrelações entre os contaminantes e o organismo. Para o autor o uso desse método fornece respostas biológicas mais rápidas sobre as condições que influenciam o ciclo normal do ecossistema.

No contexto atual da situação da costa brasileira, é importante avaliar os diferentes níveis de impactos ocasionados pelo óleo cru que chegou nos diferentes ambientes. O petróleo é uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos com grande predominância de hidrocarbonetos cuja composição depende da sua origem (Patin, 1999). Nos casos de hidrocarbonetos é importante avaliar diferentes regiões e períodos do ano, devido ao seu potencial cancerígeno e prejudicial para consumidores (GOLD-BOUCHOT et al., 2017). Com a ocorrência deste desastre ambiental tão recente no país, é possível que se tenham aumentado a exposição dos animais a esses compostos orgânicos oriundos do petróleo, podendo ocasionar efeitos deletérios para diversas comunidades.

Atualmente poucos estudos retratam as consequências e os impactos desses compostos de

hidrocarbonetos nas respostas fisiológicas, genéticas e/ou comportamentais de peixes no Brasil. Informações desta natureza são importantes, uma vez que espécies comerciais ocupam áreas frequentemente contaminadas e com alta incidência de compostos químicos, durante diferentes fases da vida (GELSLEICHTER et al., 2008).

As consequências a curto e médio prazo dos óleo cru que chegou nas praias brasileiras, e sua composição e seu agente causador, são extremamente preocupantes, por serem de origem desconhecida, e impactos como esse alteram características essenciais dos ecossistemas, muitas vezes irreversíveis (SOARES et al., 2020). Identificar as consequências e entender como os organismos são afetados torna-se crucial para as populações.

Nesse contexto, este trabalho visa contribuir com conhecimento científico relacionado à validação de biomarcadores histológicos em *Lutjanus chrysurus*, destacando-se a seguinte hipótese: os peixes da espécie *L. chrysurus* das regiões costeiras em Itamaracá impactados pelo derramamento de óleo ocasionado em 2019, desenvolvem respostas biológicas em brânquias, fígado, rim e gônada que podem ser utilizadas como biomarcadores de contaminação aquática na Ilha de Itamaracá (PE). Ao se testar essa hipótese, busca-se subsidiar políticas públicas que visem o biomonitoramento da região e à conservação da espécie. Portanto, analisar a resposta dos biomarcadores histológicos sobre a biologia da espécie *L. chrysurus* é de extrema importância para determinar possíveis efeitos negativos nas populações desses animais que habitam ambientes afetados pelo derramamento de óleo. Este estudo é particularmente importante nas espécies do Nordeste onde ocorreu o derramamento de óleo em 2019.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar biomarcadores histológicos em brânquias, fígado, rim e gônada na espécie *Lutjanus chrysurus* em um dos trechos mais afetados pelo derramamento de óleo no estado de Pernambuco.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Detectar os efeitos da possível contaminação por meio de análises histológicas no fígado da espécie *L. chrysurus*, capturada no estado de Pernambuco
- ✓ Quantificar alterações nas brânquias dos peixes analisados;
- ✓ Analisar alterações histológicas nas gônadas dos peixes;
- ✓ Investigar modificações nos rins da espécie que sejam indicativas de contaminação;

- ✓ Comparar as alterações histológicas analisadas na espécie, indicando o órgão mais sensível para detecção de estresse causado por impactos antrópicos na área de estudo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Monitoramento ambiental

O avanço industrial e tecnológico das últimas décadas, oriundo das atividades antropogênicas, está causando a lenta extinção da fauna, flora e microrganismos associados ao ambiente natural através da emissão de contaminantes (AGORAMOORTHY et al., 2008).

A interferência e ação antrópica nos ecossistemas aquáticos vem desencadeando uma série de impactos diretos e indiretos nos ambientes, modificando o cenário natural, aumentando de forma gradativa e fazendo com que as explorações ambientais aumentem desenfreadamente, o que resulta em mudanças muitas vezes irreversíveis, levando a processos de degradação do meio (CARNEIRO, 2016).

Dessa forma, o biomonitoramento ou monitoramento ambiental, tem sido objeto de interesse nos últimos anos, devido a preocupação com os níveis elevados de xenobióticos que podem ter efeitos prejudiciais sobre vários organismos aquáticos e também por serem utilizados como alimento para os seres humanos (REPULA, 2012).

O monitoramento ambiental é uma importante ferramenta na administração dos recursos naturais, pois favorece o conhecimento e informações básicas na avaliação da presença de contaminantes, e na compreensão os sistemas ambientais e assim dar suporte as políticas ambientais (NEVES, 2006).

Observa-se a crescente necessidade de se avaliar e monitorar as alterações ambientais e seus possíveis efeitos sobre os recursos hídricos, principalmente no que diz respeito ao desenvolvimento de metodologias usadas como instrumentos que medem a sanidade de um ecossistema aquático (TORRES, 2015).

O monitoramento ambiental envolve uma ampla gama de análises que identificam os impactos dos poluentes em diferentes níveis e compartimentos ambientais. Assim, o biomonitoramento auxilia de forma mais rápida nos diagnósticos de áreas impactadas, e na identificação de efeitos iniciais de contaminação sobre os organismos de determinada região (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

Para o Ministério do Meio Ambiente - MMA (2009) o monitoramento ambiental é o conhecimento e acompanhamento sistemático da situação dos recursos ambientais do meio físico e biótico, visando a recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental. Essa por sua

vez, está relacionada às variáveis ambientais, que se alteram, seja em função das ações antrópicas, seja em função de transformações naturais.

Assim, o monitoramento como atividade preventiva, desenvolvida para evidenciar ou medir um risco têm fornecido subsídios para uma análise mais detalhada sobre a situação desses ambientes (RODRIGUES et al., 2008). O que tem se tornado uma importante ferramenta de avaliação dos efeitos tóxicos de substâncias e poluentes em ecossistemas aquáticos, esses estudos de monitoramento são extremamente importantes pois auxiliam para à elucidação da relação causa-efeito na avaliação de risco à qualidade desses ambientes (JESUS et al., 2008). Assim, percebe-se que o uso dessas técnicas de avaliação da saúde ambiental, pode trazer resultados satisfatórios no monitoramento dos ambientes.

3.2 Monitoramento ambiental em regiões costeiras

Os estuários são ecossistemas de elevada importância biológica e socioeconômica (PEREIRA FILHO et al., 2003). Esses ecossistemas litorâneos e costeiros são habitats de uma grande parte dos recursos biológicos marinhos, pois são áreas de criação, de refúgio permanente ou temporário de inúmeras espécies de peixes, crustáceos e moluscos capturados pela pesca industrial e artesanal (DIEGUES, 2001).

A região costeira, espaço que abriga variados ecossistemas de grande riqueza ecológica e relevância ambiental, encontra-se numa fase de degradação e fragilidade definida por formas de ocupação do solo e manifestação das mais diferentes atividades humanas (MELO; COSTA; OLIVEIRA, 2008).

Ao constituir-se de ambientes de formação geológica recente e de grande variabilidade natural, a Zona Costeira apresenta ecossistemas em geral fisicamente inconsolidados e ecologicamente imaturos e complexos. Essas circunstâncias conferem características de vulnerabilidade e fragilidade que, aliadas a um consumo de recursos sempre crescente e aos impactos previstos de mudanças climáticas e do aumento do nível do mar, tendem a uma situação de desequilíbrio (CARVALHO, 1994).

A região costeira comporta inúmeros ambientes (baías, estuários, praias, igarapés e manguezais) que são diariamente impactados por diferentes contaminantes, oriundos de fontes pontuais e difusas (atividades agrícolas, domésticas, industriais e portuárias) lançados nos diferentes compartimentos (CAPPARELLI; MCNAMARA; GROSELL, 2017; RAGUNATHAN, 2017). Estudos realizados com biomarcadores para avaliação de impactos antrópicos sobre o ambiente e principalmente sobre a biota aquática, têm sido relatados com frequência em estudos de monitoramento ambiental em regiões costeiras do Brasil (CARVALHO

NETA et al., 2019; DA SILVA et al., 2018; DUARTE et al., 2016; DAVANSO et al., 2013; SOUSA et al., 2013; CARVALHO-NETA et al., 2010).

Estas regiões possuem uma elevada importância ecológica e socioeconômica o que torna esse ambiente um local onde os riscos de poluição são submetidos a um ritmo preocupante decorrente da emissão de vários estressores antropogênicos liberados por fontes industriais e domésticas (STENTIFORD et al., 2003). Revelando para estas regiões a necessidade de um monitoramento contínuo para avaliar a situação de contaminação nesses locais, 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 nessas regiões 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). Assim, nessa perspectiva, o monitoramento ambiental contribui para o diagnóstico prévio da situação dos impactos antrópicos e/ou naturais no ambiente (WANG; SINGHASEMANON; GOH, 2016).

Portanto, os estudos de biomonitoramento e a compreensão das respostas do ecossistema a diferentes perturbações é essencial para apropriar o sistema de manejo em regiões costeiras (LERCARI et al., 2002). Esse entendimento da dinâmica funcional deste ecossistema litorâneo poderá servir de subsídio para a sua utilização a favor do uso sustentável dos recursos naturais (MEDEIROS, 2016).

Além disso, o uso de ferramentas biológicas, como os biomarcadores, pode auxiliar na avaliação dos estressores e seus efeitos sobre os organismos presentes nesses locais contaminados (TORRES, 2015). Segundo Valdez Domingos (2006), faz-se necessário uma padronização nessas metodologias com biomarcadores que possam contribuir para a avaliação e diagnósticos dos impactos a que estão sujeitas estas regiões específicas do Brasil, necessitando de investigações mais aprofundadas sobre os impactos que estão interferindo na sanidade desses organismos nessa região.

3.3 Monitoramento ambiental em regiões afetadas por contaminação de petróleo

Na atualidade, o mundo está cada vez mais dependente do petróleo e de seus derivados para a manutenção da atividade industrial (ANDRADE et al., 2010). A mistura de hidrocarbonetos em forma de óleo constitui uma das principais fontes de energia para o mundo das indústrias, as atividades de transporte, explorações, armazenamento, podem ocasionar o

derramamento de óleo accidental, contaminando assim os solos, rios e mares, (AISLABIE et al., 2004; MARÍN et al., 2006).

Dentre os variados tipos de poluentes, os derivados do petróleo são dos mais relevantes para a ecotoxicologia aquática (PACHECO; SANTOS, 2001) pois, essas substâncias têm causado preocupação, tanto pela frequência dos eventos de contaminação como pelo elevado potencial poluidor dos seus compostos (SIMONATO, 2006). A contaminação do ecossistema aquático por essas substâncias representa sérios riscos à saúde pública e ao ambiente (TIBURTIUS et al., 2004).

Em regiões continentais, que abrigam um dos ecossistemas mais complexos e com uma alta sensibilidade a contaminantes, a inter-relação de processos físicos, químicos e a variabilidade de tempo dos fenômenos oceânicos, apresenta um grande desafio para o monitoramento ambiental eficiente nessas regiões (BENTZ et al., 2005).

A exposição ao petróleo bruto e/ ou cru pode desencadear uma variedade de sintomas tóxicos em animais expostos a esse contaminante (ACHUBA; OSAKWE, 2003). As soluções fracionadas em água do petróleo, formam uma mistura tóxica de hidrocarbonetos, que pode ser encontrada em casos de derramamentos de óleo. Os hidrocarbonetos exercem um papel importante na toxicidade do petróleo bruto para os organismos aquáticos (LARI et al., 2016).

A contaminação excessiva dos ecossistemas aquáticos trouxe grandes preocupações ambientais e para a saúde mundial (MCNEIL; FREDBERG, 2011). A poluição ambiental, especialmente a contaminação da água, é um grave problema que engloba todos os países do mundo. A poluição aquática não afeta apenas a sobrevivência, desenvolvimento e reprodução de espécies, mas também prejudica a saúde humana através do processo de bioconcentração (DIGHIESH et al., 2019).

Portanto a contaminação dos corpos hídricos por petróleo e seus derivados podem promover sérios distúrbios no ecossistema aquático uma vez que suas frações solúveis em água (FSA) podem alcançar águas naturais, tornando-se biologicamente disponíveis aos organismos aquáticos (SIMONATO, 2006). Componentes presentes nas FSA do petróleo e seus derivados, como os hidrocarbonetos aromáticos monocíclicos do grupo BTEX (benzeno, tolueno, etil benzeno e xileno) e os hidrocarbonetos poliaromáticos ou policíclicos (PAHs), são tóxicos e potencialmente mutagênicos e/ou carcinogênicos para as espécies (KHAN, 1998), demonstrando assim, a necessidade de estudos para a avaliação dos efeitos da poluição por esses compostos (ZHANG et al., 2003).

3.4 Os peixes como bioindicador para monitoramento ambiental aquático

O conceito de bioindicador é reconhecido como sendo de espécies que são utilizadas como primeiros indicadores de efeito da contaminação de seu habitat, ou seja, espécies sentinelas (ADAMS, 2015).

No ambiente aquático vários são os organismos considerados bioindicadores como plantas aquáticas, algas, crustáceos, moluscos, peixes, mamíferos, aves, entre outros (LINS et al., 2010) e ao se escolher um bioindicador, devem ser observadas algumas características importantes, o ideal são espécies que sobrevivem em ambientes saudáveis, apresentam resistência relativa a contaminantes que está sendo exposto, devem ser espécies abundantes no ambiente e possuir a facilidade em adaptar-se aos ensaios laboratoriais (AKAISHI et al., 2005).

Os peixes na literatura vêm sendo descritos como excelentes organismos sentinelas no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos, pois estão diretamente expostos a contaminantes e estressores ambiental, reagindo sensivelmente a quaisquer alterações no meio (LEMOS et al., 2007).

Nestes indivíduos os efeitos dos contaminantes podem se manifestar em vários níveis de organização biológica, incluindo disfunções fisiológicas, alterações estruturais em órgãos e tecidos e modificações comportamentais que levam ao prejuízo do crescimento e da reprodução (ADAMS, 1990).

Dessa forma, a utilização de peixes como bioindicadores de contaminação se dar pelo fato de que estes organismos são capazes de trazer respostas semelhantes aos grandes vertebrados (SCALON et al., 2010). Além disso, bioacumulam substâncias tóxicas, assim como mamíferos respondendo a agentes mutagênicos mesmo em baixas concentrações (SASAKI et al., 1997)

Essas alterações, provocadas pela ação de poluentes, podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes e podem ser denominadas biomarcadores. Estes biomarcadores são importantes ferramentas que auxiliam para monitoramento da saúde do ecossistema aquático e têm sido incluídos em vários programas modernos de monitoramento ambiental de países desenvolvidos (ABDALLA 2015; WINKALER et al., 2001; WALKER et al., 1996).

É muito comum vertebrados serem utilizados como objeto de estudo em trabalhos com biomonitoramento, sendo assim, os peixes têm sido crescentemente inseridos nesses estudos de qualidade dos ecossistemas aquáticos, por serem de grande importância comercial e apresentarem uma alta abundância populacional (SÁNCHEZ-GALÁN et al., 1998). Sendo assim, a espécie *Lutjanus chrysurus* (Guaiuba) é um organismo que pode ser muito bem utilizado nos estudos de genotoxicidade, pois é uma espécie com ampla área de ocorrência, de médio porte,

é carnívora, de grande importância econômica em toda sua área de ocorrência e tem demonstrado na presente pesquisa ser sensível a poluentes.

3.4.1 Biomarcadores histológicos em brânquias

Os biomarcadores têm sido utilizados como metodologias eficientes, uma vez que auxiliam na avaliação de possíveis consequências causadas pelos contaminantes aos peixes, sendo definidos como respostas biológicas ocasionadas por poluentes presentes no ambiente aquático (MARTINEZ et al., 2004).

As alterações histológicas, nos tecidos dos peixes são consideradas como Biomarcadores de efeito a exposição de estressores do meio ambiente, e tem sido reconhecida como uma ferramenta valiosa na avaliação de poluentes ambientais (TEH; ADAMS; HINTON, 1997). As lesões branquiais em peixes têm sido frequentemente estudadas em ambientes naturais poluídos com o intuito de avaliar a degradação e o estado de poluição do ambiente aquático (CANTANHÊDE et al., 2014).

Dessa forma, as brânquias dos peixes têm demonstrado ser um ótimo biomarcador eficiente e seguro para constatar ambientes impactados devido às atividades antrópicas (TORRES, 2015). Sendo responsáveis por várias funções, como trocas gasosas, osmorregulação, excreção de produtos nitrogenados e balanço ácido-base. Portanto, se este órgão for comprometido, a saúde do organismo estará em risco (CENGIZ; UNLU, 2005).

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

Além disso, muitos estressores podem afetar diretamente e indiretamente a estrutura branquial afetando processos importantes e essenciais como as trocas gasosas e o balanço hídrico. As alterações branquiais também podem ser indicativos da qualidade do ambiente em que os peixes residem (TORRES, 2015). Essas alterações das brânquias segundo Laurent; Perry, (1991), podem representar estratégias adaptativas para a conservação de funções fisiológicas importantes e podem indicar que os peixes estão respondendo aos poluentes presentes no ambiente aquático.

A brânquia é um órgão chave para a detecção de poluentes existentes no meio aquático e nesse sentido, as alterações histológicas nesse tecido são reconhecidas como um método rápido e válido para determinar os danos causados pela exposição a diferentes poluentes nos peixes (ARELLANO et al., 1999).

Os efeitos dos poluentes sobre a estrutura branquial têm sido muito estudados em peixes expostos a ambientes naturais poluídos, no estado do Maranhão vários estudos validaram e descrevem as alterações branquiais em peixes como excelentes biomarcadores de contaminação aquática (CARVALHO-NETA et al., 2012; PINHEIRO-SOUSA et al., 2013; SOUSA et al., 2013; CANTANHÊDE et al., 2014; PEREIRA et al., 2014; SANTOS et al., 2014; TORRES, 2015; OLIVEIRA et al., 2016; CASTRO et al., 2018).

Portanto, as mudanças estruturais e morfológicas ocasionadas por xenobióticos nas brânquias tem se mostrado como biomarcadores sensíveis ao estresse ambiental em populações de peixes naturais, e o exame histopatológico tem sido reconhecido por vários investigadores como uma valiosa ferramenta para avaliação de impactos ambientais em populações de peixes (TEH; ADAMS; HINTON, 1997).

3.4.2 Biomarcadores histológicos em Fígado

O fígado é considerado o maior órgão interno e a maior glândula dos vertebrados, é um componente ativo do sistema digestivo, atuando em processos de armazenagem de nutrientes, síntese e secreção de proteínas e bile, além de ser o órgão responsável pela metabolização tanto de substâncias endógenas quanto exógenas (BRUSLÉ; ANADON, 1996; SEGNER, 1998; MATOS et al., 2007; NETO et al., 2007).

É considerado um órgão chave quando se relaciona com a ação dos poluentes químicos sobre os peixes, pois esse órgão atua na biotransformação dos xenobióticos e na excreção de metais (HEATH, 1987). O tecido hepático é responsável por várias funções, além da secreção da bile e metabolização dos xenobióticos, devido sua alta capacidade de absorver poluentes do ambiente e apresentar modificações morfológicas devido a presença de agentes tóxicos na água (BRAUNBECK, 1990).

Além disso, o fígado é o órgão responsável pela desintoxicação dos organismos a produtos endógenos e exógenos (ZELIKOFF, 1998; ROBERTS, 2001). Dessa forma, funciona como sítio de armazenamento, biotransformação e excreção de agentes químicos (CENGIZ; UNLU, 2006; CUÑA et al., 2011; AGAMY, 2012). Em peixes teleósteos existem estudos que descrevem alterações morfológicas no processo histopatológicos no fígado em relação a exposição de agentes agressores em ensaios experimentais (RABITTO et al., 2005; FISHELSON, 2006; VANDYK et al., 2006; MELA et al., 2007).

Os efeitos hepatotóxicos dos diversos agentes químicos podem ser utilizados como biomarcadores de contaminação aquática (HINTON et al., 1992; GUNDERSEN et al., 2000). Contudo, a avaliação histopatológica do fígado possibilita uma visão geral do animal, auxiliando

na avaliação das condições ambientais (RIBEIRO, 2011). Nesse sentido, estudos são analisados em nível celular, tecidual e em órgãos-alvos causados pela exposição dos peixes a poluentes (ALBINATI et al., 2009; PAL et al., 2011; AGAMY, 2012), o fígado é caracterizado como um importante órgão alvo em testes de toxicidade, devido a sua função no metabolismo de xenobióticos e sua sensibilidade a poluentes do ambiente, o fígado funciona como um ótimo órgão para estudos toxicológicos relacionados à contaminação de diferentes espécies de peixes por agentes químicos orgânicos e inorgânicos (HINTON et al., 1992).

Portanto, para avaliar a saúde destes peixes, a Histopatologia do fígado pode ser um biomarcador eficiente, pois é uma abordagem capaz de demonstrar diferentes patógenos que potencialmente estão relacionadas aos contaminantes presentes no ambiente aquático (TRIEBSKORN, 2008; VAN DYK 2007).

3.4.3 Biomarcadores histológicos em rim

O rim de peixes teleósteos é dividido em duas porções (anterior e posterior). A porção anterior é integrada ao sistema endócrino, sendo importante na resposta ao estresse (WENDELAAR BONGA 1997). A posterior, assim como o intestino e as brânquias, é responsável pela excreção e pela homeostase dos fluídos corporais (EVANS 1993).

A estrutura morfológica do rim dos peixes teleósteos é em geral, caracterizada por apresentar néfrons com corpúsculo renal (glomérulo e cápsula de Bowman) e túbulos renais (SILVA 2004). Cada estrutura do rim dos teleósteos realiza uma função específica na produção de urina, regulação osmótica e hormonal no animal (SANTOS 2005).

Os rins constituem a principal rota de excreção para os metabólitos de vários xenobióticos aos quais o peixe tenha sido eventualmente exposto (HINTON et al., 1992). O rim elimina produtos químicos durante o processo de formação da urina, alguns através da filtração glomerular, outros por reabsorção ou ainda pelos processos de secreção tubular (JOBLING, 1995; EVANS, 1993).

A função dos rins nos peixes ósseos na osmoregulação, síntese de cortisol e eliminação de resíduos pode ser afetada por danos celulares induzidos através de xenobióticos, uma diminuição na eficiência de qualquer um desses processos renais pode sucessivamente, ter um significativo efeito nos processos de crescimento, reprodução e sobrevivência dos organismos expostos (CASTRO et al., 2016).

Portanto, o rim de peixes pode ser um importante órgão-alvo de ação tóxica para alguns xenobióticos (LARSEN; PERKINS Jr., 2001). Segundo Veiga et al. (2002) alterações morfológicas renais podem induzir mudanças no sistema de defesa, prejudicando a homeostase

e saúde do animal. Este órgão, assim como o fígado, tende a acumular substâncias tóxicas em concentrações superiores às da corrente sanguínea, em função do alto grau de vascularização e importância fisiológica e toxicocinética (PEDROZO et al., 2002).

3.4.4 Biomarcadores histológicos em gônadas

Como todos os outros vertebrados, os peixes possuem reprodução sexuada e na maioria dos casos, a fertilização é externa ocorrendo no meio aquático, a reprodução nos peixes ósseos é complexa, o que se reflete na grande variedade de estruturas constituintes da gônada (TRAMUJAS, 2005).

No entanto, a morfologia das células germinativas e os elementos somáticos constituintes do tecido da gônada são semelhantes nas várias espécies, todas essas estruturas desenvolvem-se no sentido de produzir gametas férteis (ovócitos e espermatozoides) necessários para a reprodução (HOAR et al., 1983).

Os testículos de peixes são órgãos pares localizados na cavidade celômica e sustentados dorsalmente pelo mesórquio. Apresentam uma porção central e contínua que se comunica com o ducto espermático, o qual se abre no exterior através da papila urogenital. A forma, o volume, a coloração e a irrigação sanguínea também variam nos diferentes estádios do ciclo reprodutivo. Durante a espermatogênese, as células germinais primordiais (espermatogônias) sofrem mitoses, originando os espermatócitos, os quais se dividem meioticamente, originando as espermatídes que, ao sofrerem espermiogênese, darão origem às células reprodutoras masculinas os espermatozoides (COSTA, 2004). O testículo é revestido externamente por uma fina cápsula fibrosa de tecido conjuntivo que se estende para o interior, delimitando os túbulos seminíferos (RIBEIRO, 2005).

Nas fêmeas os ovários, quanto à sua morfologia, são órgãos pares, saciformes e sustentados dorsalmente na cavidade celômica pelo mesovário. Os ovários direito e esquerdo unem-se na extremidade caudal para formar o ducto ovariano, que se comunica com a papila urogenital. A forma, o volume, a coloração e a irrigação sanguínea dos ovários variam, nos diferentes estádios do ciclo reprodutivo (COSTA, 2004).

O desenvolvimento das células germinativas femininas e masculinas denomina-se gametogênese e decorre de processos meióticos, que se designam, por ovogênese e espermatogênese (COSTA, 2004).

Cada espécie apresenta, dentro do período reprodutivo, exigências particulares relacionadas às condições do ambiente, relativas à qualidade de água, à disponibilidade de

alimento adequado e aos refúgios, que garantem o crescimento e sobrevivência dos indivíduos nas fases iniciais do desenvolvimento (VAZZOLER, 1996).

As espécies ictícas mostra uma periodicidade em seu processo reprodutivo, no momento em que as condições ambientais são adequadas à fecundação e desenvolvimento de sua prole (VAZZOLER, 1996).

Portanto as análises histopatológicas em gônadas são ferramentas úteis no estudo de efeitos agudos e crônicos de poluentes em peixes, uma vez que as características histológicas de desse órgão-alvo pode expressar diversas alterações decorrentes de condições ambientais adversas e períodos de exposição prolongados, revelando assim órgãos mais afetados e diferenças de sensibilidade dos organismos em relação aos níveis tóxicos de contaminantes (AKAISHI et al., 2004; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2005).

As gônadas assim como as brânquias e o fígado são capazes de absorver poluentes orgânicos, em sua maioria de origem antropogênica, que atuam como desreguladores endócrinos e são capazes de inibir ou mimetizar a função de um hormônio natural nos seres vivos, alterando as funções e morfologia desses órgãos (JOHNSON et al., 1993).

3.5 Biomarcadores para monitoramento ambiental

O crescimento populacional nas últimas décadas, unido ao aumento do avanço tecnológico e ao aumento na geração de produtos industriais, tem levado a economia global a uma expansão do nível de compostos xenobióticos no ecossistema aquático (JESUS; CARVALHO 2008). O que vem contribuindo para uma redução da qualidade dos diversos compartimentos ambientais (água, sedimento, ar e solo), bem como para o comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam esses ecossistemas (CAJARAVILLE et al., 2000).

A biota aquática está em constante exposição a contaminantes que são lançados no ambiente de fontes diversas como lixos tóxicos provenientes de efluentes industriais, drenagem agrícola, derrames acidentais de lixos químicos e dos esgotos domésticos lançados em rios e mares o que contribuem para a contaminação dos ecossistemas aquáticos (ARIAS 2007). Assim, a exposição constante da biota aquática a substâncias tóxicas lançadas no ambiente, é capaz de interagir com o organismo vivo causando inúmeras alterações e que como consequências geram graves problemas em populações, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (JESUS; CARVALHO 2008).

Dessa forma, destacamos os biomarcadores que são respostas biológicas adaptativas a estressores, evidenciadas como alterações bioquímicas, celulares, histológicas, fisiológicas ou comportamentais (DEPLEDGE, 1994). Huggett et al. (1992) destaca que os biomarcadores são

comumente usados como indicadores bioquímicos, fisiológicos, e histológicos de exposição à xenobióticos ou de efeitos de contaminantes químicos.

Assim, os biomarcadores são considerados “sinais de alerta” devido a resposta rápidas e válidas dadas sobre os efeitos biológicos nos organismos aquáticos (MARIGÓMEZ et al., 2006). E Considerando uma definição mais ampla, os biomarcadores ou marcadores biológicos são definidos como mudanças celulares, bioquímicas, moleculares ou fisiológicas, que são medidas em células, fluidos corporais, tecidos ou órgãos dentro de um organismo e que são indicativos da exposição e/ou doses de substâncias xenobióticas que levam a efeitos biológicos (HULKA et al., 1990; LAN; GRAY 2001). Para Jesus; Carvalho, (2008) os biomarcadores podem ser classificados em três tipos: de exposição, efeito ou suscetibilidade.

Os biomarcadores de exposição são alterações biológicas mensuráveis que evidenciam a exposição dos organismos a um poluente (JESUS; CARVALHO, 2008). Podem ser usados para confirmar e avaliar a exposição individual ou de um grupo, para uma substância em particular, estabelecendo uma ligação entre a exposição externa e a quantificação da exposição interna (AMORIM, 2003).

Os biomarcadores de efeitos, não são específicos e não fornecem informações sobre a sua natureza, mas são característicos da ocorrência de um estresse que poderá ser reversível (JESUS; CARVALHO, 2008). São caracterizados pela indução de mecanismo de defesa celular, que se iniciam sempre como uma resposta adaptativa em nível molecular/ bioquímico. Mas, no entanto, se este mecanismo falhar ou se sua capacidade de resposta é ultrapassada, poderão ser desencadeadas alterações fisiológicas ou histológicas, podendo ser irreversíveis, dependendo da capacidade do sistema ou órgão em responder ao estressor (WINZER et al., 2001).

Os biomarcadores de suscetibilidade podem ser definidos como indicadores de processos que causam variações de repostas ao longo do tempo e entre exposição e efeito (BARRETT et al., 1997). Permitem elucidar o grau de resposta da exposição provocada nos indivíduos (AMORIM, 2003).

Portanto, de acordo com o grau e o histórico de contaminação, existem vários tipos de biomarcadores que podem ser utilizados para monitorar os ambientes aquáticos (TORRES, 2015). Assim, esses biomarcadores em áreas de risco podem indicar o efeito dos poluentes a partir de um determinado nível de exposição e possibilitar a realização de um biomonitoramento envolvendo a determinação e a predição dos níveis de contaminantes nos corpos aquáticos (AZEVEDO; CHASIN, 2003). E dessa forma auxiliar em programas de monitoramento ambiental pelos gestores locais, já que metodologias baseadas em parâmetros biológicos apresentam muitas vantagens, tais como alta sensibilidade e rapidez (CANTANHÊDE, 2016).

3.6 *Lutjanus chrysurus* como bioindicador para avaliação de impactos na Ilha de Itamaracá, Pernambuco

Os lutjanídeos constituem um importante recurso pesqueiro em águas tropicais e subtropicais; seus indivíduos são capturados pela pesca comercial, artesanal e recreativa por meio de espinhéis, redes de emalhe de fundo, anzóis com linha de mão, armadilhas, pesca submarina e, ocasionalmente, por redes de arrasto (REZENDE et al., 2003). Por sua vez, a família Lutjanidae é composta por cerca de 125 espécies, sendo tipicamente tropical, com a distribuição de seus representantes ocorrendo principalmente em formações recifais (MACHADO, 2003). É uma espécie pioneira nos estudos de biomarcadores histológicos. O *L. chrysurus* é uma espécie, possui um elevado valor nutricional, e bastante apreciado do ponto de vista comercial (CARRILO, 1988).

A gaiaúba (Figura 2), *Lutjanus chrysurus*, (BLOCH, 1791) é um peixe teleósteo, da família Lutjanidae, bem distribuída na Costa Ocidental do Oceano Atlântico, desde a Carolina do Norte nos EUA até a região Sudeste do Brasil; é típica de ambiente de águas costeiras dos oceanos tropicais e subtropicais, costuma formar cardumes ao redor de recifes de corais, podendo viver de 17 a 18 anos e atingir cerca de 70 cm de comprimento máximo (ALLEN 1985; MANOOCH; DRENNON, 1987; DIEDHIOU, 2000).

Estudos apontam que seu comprimento varia de acordo com a profundidade de captura sendo menores em águas mais rasas e maiores em águas mais profundas (LESSA et al., 2009). *Lutjanus chrysurus* alimenta-se, preferencialmente, de peixes, crustáceos, poliquetas e moluscos (gastropodes e cefalópodes), no Nordeste do Brasil os registros para a espécie apontam a partir do final da década de 1970, entretanto nos estados da Bahia, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco, o registro data a partir de 1986 sendo um dos recursos pesqueiros de maior produção no estado do Rio Grande do Norte (LESSA et al., 2009).

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

Reino Animalia

Filo Chordata

Subfilo Vertebrata

Classe Actinopterygii

Ordem Perciformes

Família Lutjanidae

Gênero Lutjanus

Espécie *Lutjanus chrysurus* Bloch, 1971

Figura 1. Exemplar de *Lutjanus chrysurus* capturado em Pernambuco, PE



Fonte: *Lutjanus chrysurus* – Discover Fishes (ufl.edu). Imagem (John Soward).

A espécie *Lutjanus chrysurus* para região de Itamaracá ainda não havia sido utilizada, nos estudos monitoramento de impactos ambientais, no presente trabalho o táxon foi proposto como biomonitor, especialmente pela importância econômica e relação com consumo humano.

4 METODOLOGIA

4.1 Área de estudo

O estado de Pernambuco (Figura 2) está localizado na região Nordeste do Brasil, é uma região caracterizada pelas temperaturas elevadas, predominado o litoral com tipo climático tropical úmido e quente (IBGE, 2019), é dividido em três grandes regiões conhecidas como Zona da Mata, Agreste e Sertão, com uma geografia marcada pela diferença entre o litoral, com vegetação tropical e clima úmido, e o interior, com vegetação xerófila e clima seco (IBGE, 2019).

A ilha de itamaracá (Figura 2), é um município que se estende por 66,7 km² e possui cerca de 26 258 habitantes, situado a 19 metros de altitude, tem as coordenadas geográficas: Latitude: 7° 45' 0" Sul, Longitude: 34° 51' 0" Oeste (CIDADEBRASIL,2021). Se localiza no litoral norte do estado de Pernambuco, a uma distância de 50 km da capital Recife (SANTANA;SEVERI, 2009 (7°44'48.97"S ; 34°49'24.76"O)).

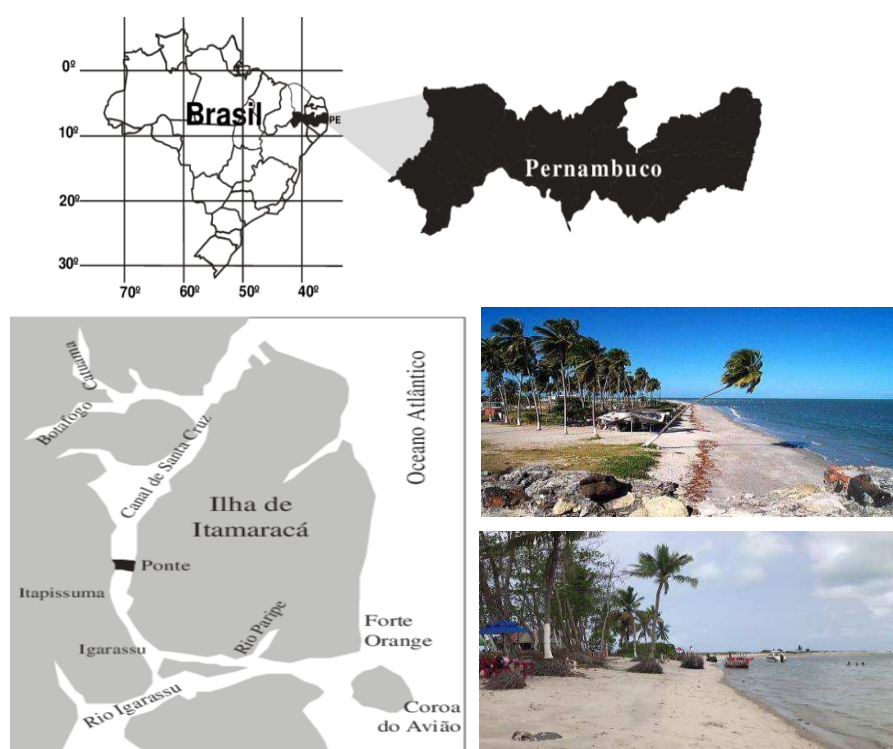
O complexo estuarino de Itamaracá apresenta ilhas, reentrâncias, baías e manguezais. Esta

região pode ser considerada uma das áreas estuarinas mais ricas do país em recursos naturais e beleza paisagística, o que a torna muito apropriada à pesca e ao turismo (LEITÃO et al., 2007).

A zona costeira de Itamaracá é delimitada por uma linha recifal composta, paralela e contínua à costa, característica de formações coralíneas mortas ou pouco ativas e algas calcárias incrustantes, apoiadas sob um embasamento arenítico, conhecido localmente como “mar de dentro” (MEDEIROS; KJERFVE, 1993). Os fundos constam essencialmente de recifes, fragmentos de algas calcárias, especialmente do gênero *Halimeda*, e areias, ocasionalmente colonizados por manchas de fanerógamas marinhas (KEMPF, 1969; LIRA, 1975).

A ictiofauna é composta por uma ampla gama de espécies de peixes, principalmente no estágio juvenil, o que indica a importância deste local como um berçário (ROBERTSON; LENANTON, 1984; GODEFROID et al., 2001), área de alimentação e proteção contra predadores (BLABER; BLABER, 1980; LASIAK 1984)

Figura 2. Área de captura da espécie *L. chrysurus*, Pernambuco, mapa da Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil uma das áreas mais afetada pelo derramamento de óleo em 2019.



4.2 Obtenção das amostras

Os exemplares de *L. chrysurus*, foram adquiridos de pescadores em maio e setembro de 2021. Nas coletas foram adquiridos 35 indivíduos adultos machos e fêmeas. Os animais coletados no local de amostragem foram acondicionados em sacos plásticos devidamente

etiquetados, identificados e lacrados, colocados em caixas de isopor contendo gelo e transportados ao Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para a identificação a partir do método taxonômico de Gomes et al. (2020) e para a aferição dos dados biométricos.

4.3 Procedimento Laboratorial

4.3.1 Dados Biométricos

Em laboratório os espécimes de *L. chrysurus*, foram imediatamente processados para a aferição dos dados biométricos (Figura 3) com auxílio de uma régua, foram registrados o comprimento total (CT) e comprimento furcal (CF) em centímetros. O peso total (PT) de cada indivíduo foi registrado com auxílio de uma balança digital de precisão em gramas, além disso, foram retirados também o peso das gônadas (PG) e peso do fígado em gramas. Depois de pesados e medidos, os exemplares foram abertos para observação e classificação macroscópica das gônadas quanto ao sexo (machos e fêmeas). Toda essa etapa foi realizada no Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas em Pernambuco.

Figura 3. Esquema das medidas CT, CF dos espécimes de *L. chrysurus* capturados na Ilha de Itamaracá



Legenda: Comprimento total (CT), Comprimento furcal (CF)

FONTE: *Lutjanus chrysurus* – Discover Fishes (ufl.edu). Imagem (John Soward).

4.3.2 Retirada dos tecidos e fixação

Logo após a retirada dos dados biométricos, as amostras foram dissecadas com auxílio de tesoura esterilizada e pinças para a remoção dos tecidos do fígado e da brânquia de cada exemplar, que foram fixados em formal 10% durante 24 h e acondicionadas em potes totalmente identificados e lacrados. Após as 24 h os tecidos foram lavados e mantidos em álcool 70% até o processamento histológico usual.

4.3.3 Análise histológica

Para a análise dos tecidos, as amostras de brânquias foram primeiramente descalcificadas por nove horas. Tecidos de brânquia, fígado, rim e gônadas foram desidratados em série crescente de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Logo em seguida cortes transversais, de aproximadamente 5µm de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

Em microscopia de luz, foram analisados dois cortes para cada órgão. As alterações observadas foram identificadas de acordo com a literatura (HINTON; LAURÉN, 1990, BERNET *et al.*, 1999, THOPHON, 2003; OJHA, 1999) e foram fotomicrografadas com auxílio de microscópio AXIOSKOP – ZEIS, com objetiva de 40x.

As lesões branquiais foram contabilizadas através da contagem do número de lamelas afetadas por cada patologia, e a contagem dos hepatócitos identificando o número total de hepatócitos afetados por cada patologia. Para os rins e gônadas foi realizado uma contagem do número total de patologias observadas nos tecidos.

Todo esse procedimento foi realizado nos Laboratórios de Biomarcadores de Organismos Aquáticos e no Laboratório de Biologia e Ambiente Aquático da Universidade Estadual do Maranhão.

4.4 Índice de pontuação de órgão das brânquias, fígado e rim de *L. chrysurus*

As alterações histológicas observadas nas brânquias, fígado e rim foram ordenadas em três padrões de reações e segundo o fator de importância (w): 1 patologia mínima; 2 patologia moderada; 3 patologia acentuada, adaptada a partir de Bernet *et al.* (1999). Os valores de pontuação, avaliaram a extensão da lesão de cada órgão. Foram gerados índices para cada padrão de reação de um órgão os quais forneceram um índice geral do órgão (Iorg para brânquias, fígado e rim).

4.6 Tratamento estatístico dos dados

Para os dados biométricos, foi utilizado o programa Statística 7.0 e para avaliar se as diferenças entre os sexos foram significativas em relação ao comprimento e peso foi utilizado o teste t de Student com os pressupostos de normalidade (Teste Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (Teste de Levene) com um nível de significância de $p < 0,05$ (ZAR, 1999).

Os dados histológicos foram submetidos à análise multivariada de Bray-Curtis para verificação de dissimilaridade entre as lesões branquiais e hepáticas encontradas na área. Para a comparação dos valores médios das lesões entre as coletas, foi aplicado o teste t de Student utilizando-se o programa estatístico PAST 4.03.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dados biométricos de *Lutjanus chrysurus*

Os resultados da análise biométrica de *L. chrysurus* capturados em Itamaracá, em relação ao peso e comprimento de machos e fêmeas podem ser observados na tabela 1. Foram analisados 35 exemplares de *L. chrysurus* onde obteve-se 21 fêmeas e 14 machos. O comprimento total teve mínima e máxima de 25-34,10 cm para os machos enquanto as fêmeas apresentaram mínima de 25,00 cm e máxima de 33,50 cm. Para o peso total os machos apresentaram mínima de 150g e máxima de 430g, já as fêmeas tiveram mínima de 175g e máxima de 400g.

Diante dos resultados obtidos observa-se que os machos foram maiores e mais pesados se comparados as fêmeas. O teste estatístico demonstrou que não houve diferença estatística para o comprimento total (t-value= 0,23, df=33, p=0,80) e peso total (t-value= 0.23, df= 33, p=0,81), sendo ambos os dados normais e homocedástico.

Tabela 1. Parâmetros da relação peso-comprimento para machos e fêmeas de *L. chrysurus*, no período de maio/2021 e setembro/2021, capturados na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.

Medidas biométricas	Machos				Fêmeas			
	N	Min	Máx	Média ± SD	N	Min	Máx	Média ± SD
CT (cm)	14	25,00	34,10	28,86±2,74	21	25,00	33,50	28,67±2,07
CF (cm)	14	21,10	29,70	24,46±2,23	21	20,00	29,30	24,10±1,95
PT (g)	14	150	430	244,64±69,88	21	175,00	400,00	239±57,87
PTG (g)	14	2,86	9,92	6,36±2,33	21	1,17	6,95	4,18±1,52

Legenda (N= número de indivíduos, Min= mínimo, Máx=máximo, SD=desvio padrão, CT= comprimento total, CF= comprimento furcal, PT= Peso total). PTG = Peso total das gônadas

Os parâmetros da relação entre peso e comprimento de peixes podem ser afetada por diversos fatores como condições ambientais, maturidade gonadal, sexo, condição de saúde, estação o ano, e as próprias diferenças dentro das espécies (FROESE, 2006).

Diferentemente dos resultados obtidos nesta pesquisa, entre os teleósteos é natural as fêmeas serem maiores que os machos, isso ocorre porque a fertilidade das fêmeas aumenta com o tamanho do corpo (CLUTTON-BROCK et al., 1985; PARKER 1992; BIAZZA; PILASTRO 1997; LIMA, 2018; SOUSA et al., 2021). Outra causa para essa divergência no comprimento de ambos os sexos pode estar relacionada a seleção dos espécimes na captura e pela quantidade do número amostral de machos e fêmeas (PIXER; PETRERE JR, 2007).

Outro fato relacionado ao comprimento dos peixes, é que peixes recifais apresentam distribuição ontogênica por profundidade (HILBORN; WALTERS, 1992). O que implica dizer que indivíduos dessas espécies migram para regiões mais profundas e distante à medida que ficam maiores (DIEDHIU, 2004). Portanto a comparação em termos de tamanho está diretamente relacionada a profundidade e local da pesca (FERREIRA; REZENDE, 1999).

Essa variação de medidas pode estar relacionada ao período de desova dos peixes (PETRY, 2005). Experimentos realizados com morfometria em outras espécies apontam para o

maior desenvolvimento dos espécimes machos, podendo atingir medidas que podem dobrar em relação a medida das fêmeas, considerando a mesma idade (RUTTEN, KOMEN; BOVENHUIS, 2005, OLIVEIRA et al., 2016)

Resultados semelhantes foram descritos por Grimes; Humtsman, (1980); Freitas et al. (2011), estudando uma espécie de lutjanídeos, *Rhomboplites aurorubens*, e que descrevem também não ter encontrado diferenças significativas para o total de machos e fêmeas, para estes autores a desigualdade da proporção sexual pode estar relacionada a mortalidade e a longevidade das espécies.

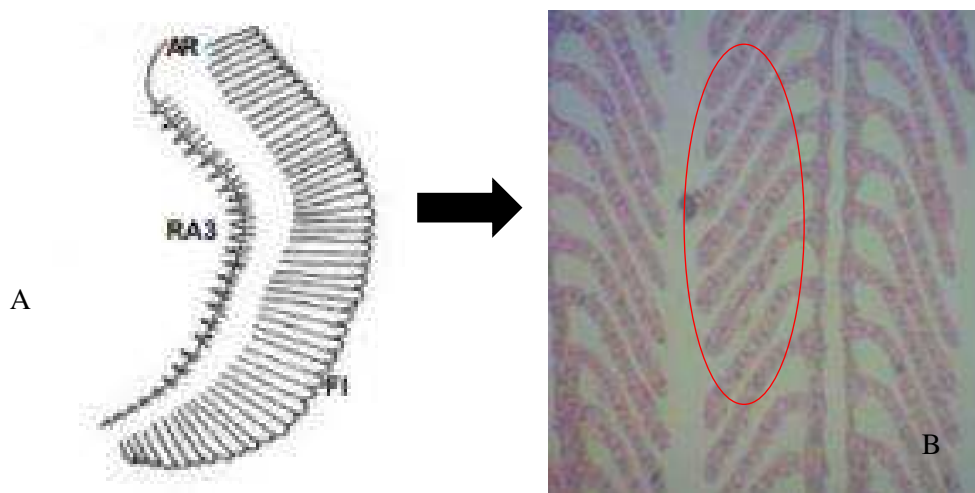
Em relação ao peso das gônadas na Tabela 1 para os peixes coletados na região de Itamaracá os dados apontaram maiores médias para os machos. Os resultados da análise para o peso das gônadas em relação aos machos de *L. chrysurus* foram mais significativos do que para o peso total das gônadas das fêmeas.

5.2 Estrutura e Histopatologia nas brânquias de *L. chrysurus*

A histologia da estrutura branquial da presente pesquisa em *L. chrysurus* apresentou um padrão semelhante ao já exposto na literatura para peixes teleósteos (MALLATT, 1985; SANTOS et al., 2007) (Figura 4).

As brânquias são compostas por arcos branquiais em cada lado da cavidade bucal e cada arco é formado por muitos filamentos branquiais. As lamelas secundárias são sobrepostas às lamelas primárias, com intervalos regulares, e são constituídas por células pavimentosas apoiadas na membrana basal que revestem as células pilares (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995).

Figura 4. Esquema e fotomicrografias do arco branquial de *L. chrysurus*. A) Esquema do filamento branquial e suas estruturas; B) Lamelas secundárias normais (círculo).



As brânquias atuam como órgão-alvo dos peixes para os poluentes, por estarem em contato permanente e serem a principal superfície de contato com o ambiente aquático e ainda apresentarem uma área superficial muito grande, representada pelas lamelas (POLEKSIĆ; MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, 1994). Elas atuam e exercem funções vitais nos teleósteos, tais como respiração, osmorregulação e excreção e ainda constituem o sítio de tomada e depuração de contaminantes e o local onde a detoxificação e o metabolismo destes agentes tóxicos podem ocorrer (SILVA, 2004).

Nesse contexto, dada a função e importância deste órgão as brânquias sofrem alterações morfológicas que podem ocorrer em razão da introdução de poluentes na água e, portanto, estas alterações podem ser utilizadas como parâmetros para o monitoramento ambiental (SCHWAIGER, 2001; PACHECO; SANTOS, 2002; VEIGA et al., 2002; MELETTI et al., 2003).

As lesões encontradas em *L. chrysurus* na região de Itamaracá- PE, estão expressas na Tabela 2. Foram encontrados alguns tipos de lesões que se mostraram mais frequentes como fusão, hiperplasia, necrose e desorganização lamelar, para as quais foi possível estimar diferença significativa apenas para a lesão desorganização lamelar ($P < 0,05$).

Tabela 2. Média, desvio-padrão e teste T de student das alterações branquiais de peixes (*L. chrysurus*) coletados em Itamaracá, Pernambuco.

LESÕES BRANQUIAIS	COLETA I	COLETA II	Teste t de student significância de $P < 0,05$
FUSÃO	48,2 ± 18,8	55,2 ± 19,7	0,38
HIPERPLASIA	40,8 ± 32,9	32,5 ± 15,1	0,43
NECROSE	31,8 ± 9,92	36,2 ± 10,8	0,31
HEMORRAGIA	11,4 ± 4,31	12,8 ± 8,28	0,61
CONGESTÃO	9,38 ± 5,86	11,0 ± 9,91	0,63
DESL. DO EPITÉLIO	14,33 ± 12,6	8,23 ± 6,59	0,15
DESORG. LAMELAR	35,5 ± 11,4	49,0 ± 15,7	0,02
ANEURISMA	0,0 ± 0,0	0,08 ± 0,27	0,33

Legenda: DESL. EPITÉLIO (deslocamento do epitélio), DESORG. LAMELAR (desorganização lamelar).

Essas alterações também foram descritas no trabalho de Domingos (2006), estudando as espécies *Lutjanus synagres* e *Cathorops spixii* em três regiões do Brasil (Itamaracá PE, Baía de

Paranaguá PR e Piraquê ES). Para esse autor a presença dessas lesões como deslocamento do epitélio e fusão das lamelas, causam o aumento da distância entre as células epiteliais e os capilares sanguíneos causando distúrbios na osmorregulação, nas trocas gasosas que são mecanismos essenciais para a sobrevivência dos peixes.

Pesquisas com peixes ósseos vêm demonstrando que essas lesões são os principais efeitos observados nesses organismos, que estão expostos a contaminantes por efluentes industriais, ocupação urbana e por atividade portuária conforme resultados apresentados por Domingos (2006); Sousa et al. (2013); Castro et al. (2018); Viana et al. (2021). Lesões histopatológicas tem sido descritas frequentemente e esses resultados têm auxiliado nos estudos de biomonitoramento devido a facilidade de compreensão e leitura tanto em situações de exposição crônica quanto aguda (GUL et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2005). Essas alterações morfológicas das brânquias podem ocorrer durante mudanças ambientais e surgem como tentativas adaptativas de conservar funções fisiológicas (LAURENT; PERRY, 1991).

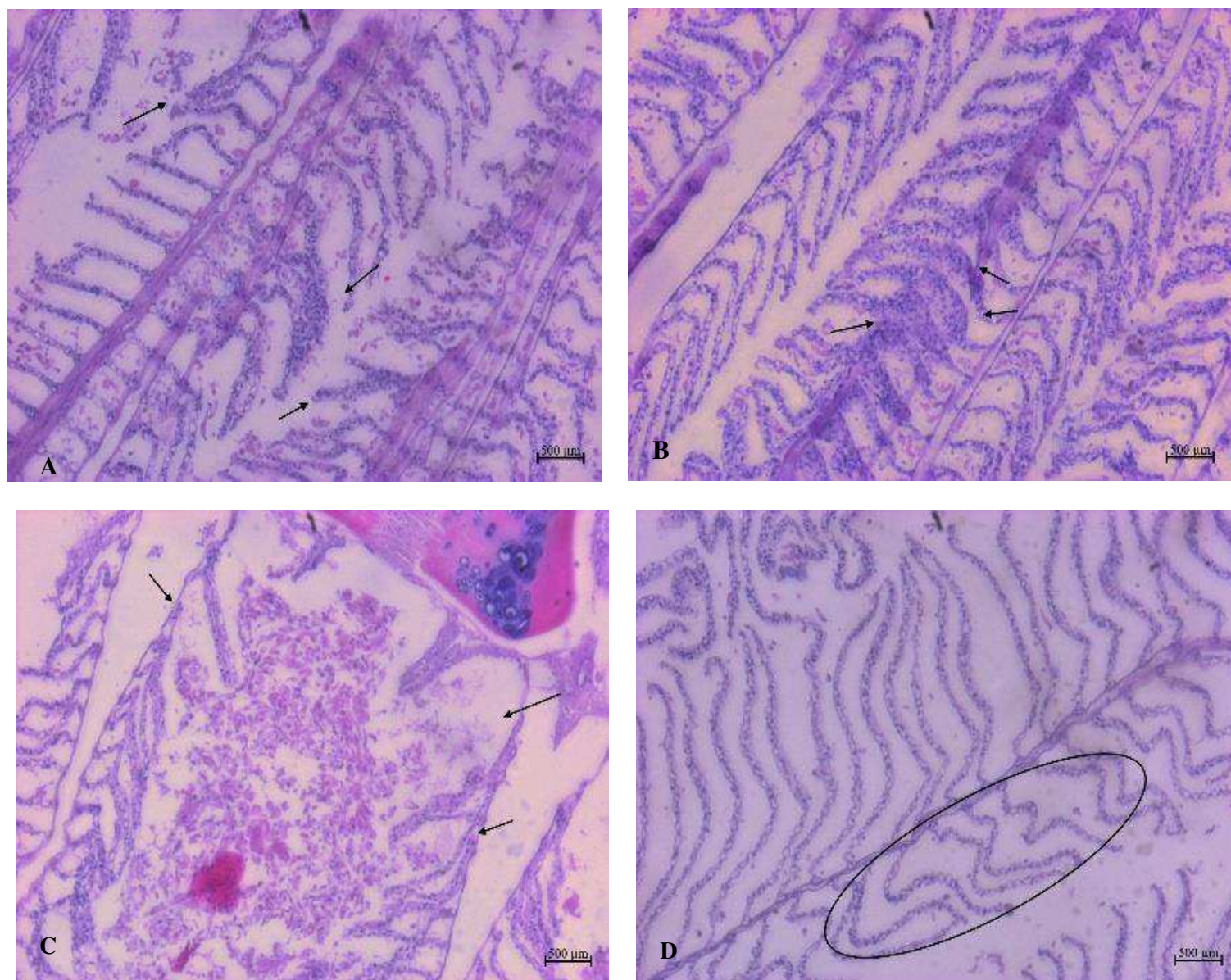
As alterações do tipo fusão (Figura 5 A), hiperplasia (Figura 5 B) desorganização lamelar (Figura 5 D) são consideradas lesões leves, pois, permitem a recuperação da estrutura e da função dos tecidos branquiais em caso de melhoria das condições ambientais (BERNET et al., 1999). Entretanto tais alterações podem progredir para o segundo estágio sob condições ambientais inalteradas e exposição dos peixes em longo prazo a poluentes e contaminantes (POLEKSIC; MITROVIC – TUTUNDZIC, 1994). Já necrose (Figura 5 E) é uma alteração considerada irreversível, onde o estado morfológico da célula tem a perda total da sua função, sendo uma lesão considerada severa afetando de forma mais evidenciada a sanidade dos indivíduos (BERNET et al., 1999).

O autor Simonato (2006), trabalhando com a espécie *Prochilodus lineatus* expostos à frações solúveis do diesel (FSD) também encontrou diferentes tipos de lesões brânquias nos peixes expostos a estes contaminantes. As lesões branquiais mais relevantes descritas por este mesmo autor foram: descolamento epitelial, hiperplasia com descolamento epitelial e aneurisma, alterações também observadas na presente pesquisa.

Segundo Khan (1998), contaminação por derivados do petróleo podem comprometer várias funções e assim causar distúrbios funcionais nos peixes. Para Simonato (2006) a ocorrência de alterações histológicas pode ser considerada adaptativa, pois protegem o organismo da entrada dos xenobióticos, como é o caso do descolamento epitelial. Já o aneurisma representa uma lesão que pode resultar do rompimento das células pilares e, portanto, corresponde a um efeito deletério do xenobiótico sobre o tecido branquial (MARTINEZ et al., 2004).

Dessa forma, derivados do petróleo provocam danos estruturais nas lamelas respiratórias das brânquias (DIMICHELE; TAYLOR, 1978; ENGELHARDT et al., 1981; CORREA; GARCIA, 1990; PRASAD, 1991, NERO et al., 2006), comprometendo as trocas gasosas do organismo com o meio e levando a hipóxia, sendo está a principal causa de morte em massa de peixes (DOMINGOS, 2006).

Figura 5. Imagem das lesões branquiais observadas em *L. chrysurus* na Ilha de Itamaracá (área impactada com derramamento de óleo). Visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.

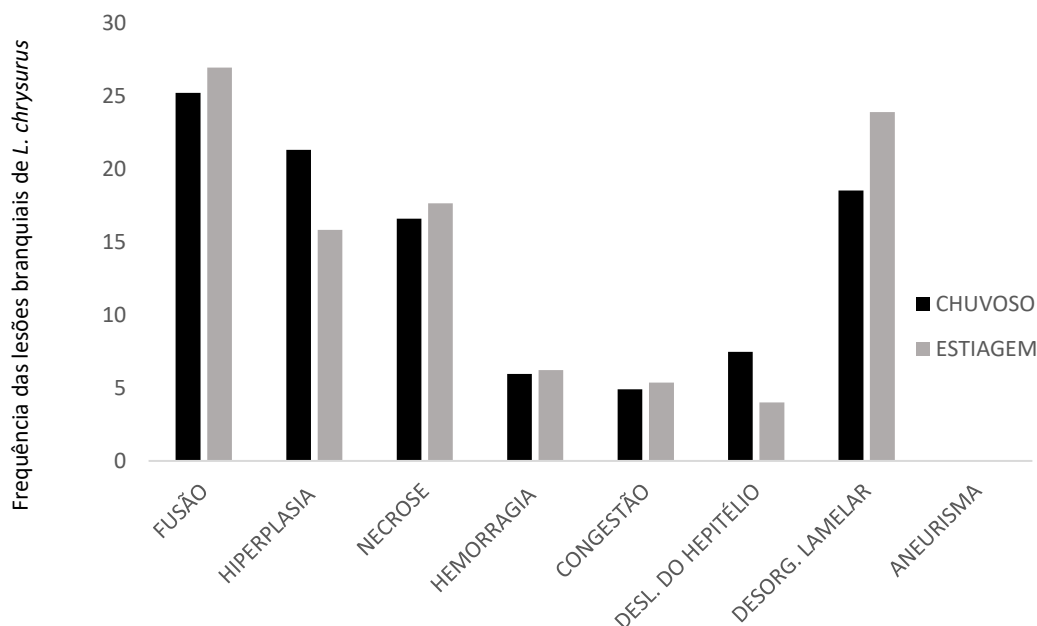


Legenda: (A) Fusão (seta), (B) Hiperplasia (setas) (C) Necrose (setas), (D) Desorganização Lamelar (círculo).

Dentre as lesões em peixes encontradas neste estudo, foi possível observar que houve prevalência de quatro tipos de lesões branquiais segundo gráfico de frequência (Figura 6), tanto para o período chuvoso quanto para o de estiagem, as quais foram consideradas mais frequentes. Estas foram fusão (25,2%) no chuvoso e (26,9%) na estiagem, hiperplasia que apareceu com frequência de (21,3%) no chuvoso e (15,8%) para a estiagem, necrose que obteve frequência de (16,6%) para o chuvoso, e (17,6%) para a estiagem e desorganização lamelar com (18,5%) para o chuvoso e (23,9%) na estiagem. Além dessas lesões, foram encontradas lesões que se expressaram em menores proporções nas estruturas respiratórias de *L. chrysurus* sendo

hemorragia, congestão, deslocamento do epitélio e aneurisma que juntas obtiveram uma frequência de 18,3% para o chuvoso e 15,6% para a estiagem.

Figura 6. Percentuais de lesões branquiais dos peixes (*L. chrysurus*) capturados na região de Itamaracá, Pernambuco.



As lesões mais frequentes neste estudo também foram descritas nos trabalhos de (SANTOS et al., 2012; CARVALHO-NETA, et al., 2012; LUPI et al., 2007, NOGUEIRA, 2008; PEREIRA et al., 2014). Essas alterações morfológicas são resposta a mudanças ambientais e podem representar estratégias adaptativas para conservação de algumas funções fisiológicas, dessa forma, os tipos de lesões histopatológicas observadas neste estudo indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e sedimento (WINKALER et al., 2001; LAURENT; PERRY, 1991).

A lesão do tipo fusão é causada pela proliferação celular encontrada nos peixes, esse tipo de lesão pode ser um mecanismo de defesa que é utilizado pelo organismo para diminuir a passagem de poluentes às brânquias (PEREIRA et al., 2014). Pesquisas mostram que a proliferação e a presença desses edemas podem reduzir e até mesmo impedir a passagem da água entre as lamelas secundárias (LUPI et al., 2007), dificultando o acesso do poluente ao sangue, entretanto prejudicando, contudo, a realização das trocas gasosas (SANTOS, 2007).

Desorganização lamelar foi descrita na pesquisa de (AKAISHI, 2003; OLIVEIRA-RIBEIRO, 2005; NERO et al., 2006; KODO-FILHO, 2006) sendo caracterizada pela perda e

desprendimento do epitélio de revestimento nas lamelas secundárias, e acúmulo dos restos celulares desprendidos nos espaços interlamelares (MARCELINO, 2021).

Estudos recentes como de Cantanhêde et al. (2016); Castro et al. (2018) em regiões distintas do Nordeste destacam também a presença da lesão hiperplasia em suas pesquisas, assim como no presente estudo. Esse tipo de lesão se caracteriza pelo aumento na proliferação das células, podendo levar à fusão das lamelas e, mais raramente, dos filamentos (HEATH, 1987; HINTON et al., 1992). A hiperplasia é considerada uma alteração inespecífica que pode ser causada por uma variedade de estressores, tais como metais, amônia, fenóis, infecções por microrganismos, entre outros (HINTON; LAURÉN, 1990; HINTON et al., 1992).

Lesões como necrose refletem o efeito direto dos poluentes (TEMMINK et al., 1983) e ocorrem em condições de maior toxicidade (ABEL et al., 1976). Essa patologia é causada por contato direto e constante com contaminantes que causam a morte celular na estrutura branquial do peixe (ZAKERI; LOCKSHIN, 2002). Esse tipo de lesão causa comprometimento acentuado das estruturas branquiais de forma irreversível (POLEKSIC; MITROVIC – TUTUNDZIC, 1994) levando a danos irreparáveis na morfologia e função da brânquia comprometendo processos vitais como respiratórios, na manutenção da homeostase e na excreção de compostos (PAULINO et al., 2012).

As lesões como hemorragia, aneurisma, congestão e deslocamento do epitélio observadas nesta pesquisa foram as menos frequentes como nas pesquisas de (WINKALER et al., 2001; SANTOS et al., 2007; PEREIRA, 2014; MARCELINO, 2021).

O aneurisma por exemplo, se caracteriza pelo extravasamento de sangue no interior da lamela, causando rompimento das células pilares e conseqüentemente dilatação dos canais sanguíneos (WINKALER et al., 2001). Assim, um aumento do fluxo sanguíneo para o interior da lamela ou mesmo a ação direta dos contaminantes pode desestruturar as células pilares ou até mesmo rompê-las (HEATH, 1987).

Deslocamento do epitélio funciona como um mecanismo de defesa diminuindo a área de superfície aumentando a barreira de difusão ao poluente (ERKMEN; KOLANKAYA, 2000), diminuindo a vulnerabilidade da área superficial das brânquias. Entretanto, pode prejudicar a eficiência das trocas gasosas e transporte iônico (WINKALER et al., 2001). A congestão é uma lesão que leva danos na função respiratória, sendo considerada reversível em caso de controle do ambiente aquático (POLEKSIC; MITROVIC-TUDUNDZIA, 1994).

Resultados similares foram observados por Dighiesh et al. (2019), ao estudar a toxicidade de frações solúveis em água do petróleo cru e os efeitos histopatológicos em tilápias vermelha (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis*). Os autores verificaram que as espécies expostas a

contaminação a frações solúveis em água do óleo cru, apresentaram lesões significativas como vasos sanguíneos severamente congestionados, hiperplasia e adesão de lamelas branquiais secundárias.

Os peixes da espécie *Tilapia zillii* e *Mugil cephalus* expostos à contaminação hidrossolúvel de óleo de motor queimado, apresentaram leve congestão nas lamelas branquiais e leve atrofia e encurtamento no revestimento epitelial das lamelas secundárias (DESSOUKI et al., 2013). A exposição ao petróleo bruto e seus derivados pode desencadear uma variedade de sinais tóxicos, portanto, a utilização de biomarcadores histopatológicos mostraram ser um indicador eficiente de toxicidade nos órgãos de peixes (SCHWAIGER et al., 1996, TEH et al., 1997).

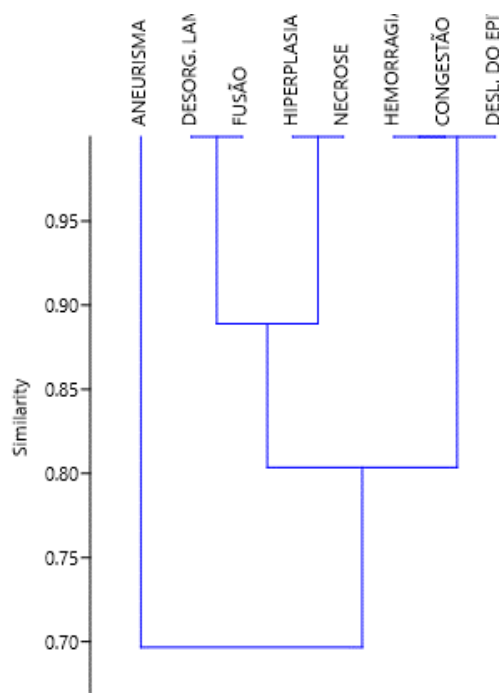
Como as brânquias desempenham papel fundamental para as trocas gasosas e regulação osmo-iônica, estas alterações histopatológicas ocasionadas por diferentes tipos de poluentes, podem afetar diretamente os mecanismos de respiração e osmorregulação (MEYERS; HENDRICKS, 1985).

Portanto, as brânquias, num contexto geral, têm um papel importante para a respiração e atuam como interface entre o animal e seu ambiente e constituem o sítio de tomada e depuração de contaminantes e local onde a detoxificação e metabolismo destes agentes tóxicos podem ocorrer (STAGG et al., 1992) e frequentemente são os primeiros órgãos a serem afetados por poluentes (HEATH, 1987) assim, quando estas precisam desempenhar uma atividade maior do que aquelas que já foram realizadas, como por exemplo, a desintoxicação, elas acabam sofrendo dano em sua funcionalidade (KASPER et al., 2019) e prejuízo no seu funcionamento o que pode levar o peixe à morte (THOPHON et al., 2003).

5.3.1 Dendograma e similaridade entre as lesões branquiais de *L. chrysurus* na área estudada

Para o índice de Bray-Curtis, as alterações branquiais de *L. chrysurus* na área estudada estão representadas na Figura 7, a similaridade entre as lesões encontradas mostra um comportamento semelhante entre a frequência das lesões no histograma, que são reunidos em três grupos principais.

Figura 7. Dendrograma da similaridade, índice de Bray-Curtis das lesões branquiais em *L. chrysurus* capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.



O índice indicou três agrupamentos com 100% de similaridade, o primeiro reunindo as alterações hemorragia, congestão e deslocamento do epitélio, em seguida nesse mesmo cluster com 100% de similaridade as lesões necrose e hiperplasia e o terceiro agrupando as lesões fusão e desorganização lamelar, todas essas alterações se distanciam de aneurisma.

Essas lesões branquiais já foram descritas em outros trabalhos, para distintas regiões, do Brasil com diferentes espécies de peixes, onde os autores verificaram nas brânquias esse mesmo padrão de variação entre áreas impactadas (SANTOS, 2005; CARVALHO NETA et al., 2012; CASTRO et al., 2018; CARDOSO et al., 2018; PEREIRA, 2019; CARVALHO et al., 2020; PEREIRA et al., 2021). Assim, a ocorrência dessas lesões no tecido desses organismos compromete as funções desempenhadas pelo órgão e o equilíbrio iônico nos parâmetros sanguíneos e glóbulos vermelhos dos peixes, levam também à insuficiência respiratória, hipóxia e desequilíbrios iônicos, ácido-base (HAWKINS et al., 1984; ALAZEMI et al., 1996; YASSER; NASER, 2011). Além disso, os organismos tornam-se mais suscetíveis a infecções secundárias e morte (CORREIRA et al., 2019).

Estudos realizados com juvenis de tainha, da espécie *Mugil platanus*, no Rio Grande do Sul, revelaram diferentes tipos de anomalias nas brânquias causadas pela exposição à fração solúvel do petróleo em água (FSA), este órgão apresentou uma série de histopatológicas associadas aos hidrocarbonetos constituintes do petróleo (MOREIRA, 2010).

Essas alterações branquiais também foram descritas em juvenis de *O. gorboscha* (BRAND et al., 2001) expostos ao petróleo bruto e para juvenis de *Prochilodus Lineatus* expostos à FSA do diesel (SIMONATO et al., 2008). De acordo com Mazon et al. (2002), tais alterações podem causar mudanças na regulação osmótica alterando o transporte ativo iônico. Para Sidermann (1979), essas mudanças nas lamelas afetam as trocas gasosas, osmorregulação, bem como alteraram a suscetibilidade a uma variedade de organismos patogênicos causadores de doenças.

Portanto, verificou-se no presente trabalho através dos dados que *L. chrysurus* está exposto a contaminantes tendo em vista que os resultados corroboram e evidenciam alterações registradas na análise branquial desses organismos, reafirmado pelo agrupamento dessas alterações registradas na presente pesquisa.

5.4 Lesões hepáticas observadas em *L. chrysurus*

As alterações hepáticas observadas em *L. chrysurus* estão apresentadas na Tabela 3. A avaliação dos dados demonstrou que para as lesões no fígado as maiores médias na coleta 1 foram para as patologias como fibrose, necrose e esteatose já para a coleta 2 as lesões mais representativas foram necrose, centro melanomacrofágo e diferenciação dos tecidos, a análise estatística demonstrou haver diferenças significativas ($p < 0,05$) nas duas coletas apenas para as lesões fibrose e necrose.

Tabela 3. Médias das lesões histopatológicas observadas nos cortes fígado dos peixes da região de Itamaracá, Pernambuco, Brasil

LESÕES HEPÁTICAS	COLETA 1	COLETA 2	Teste t de student significância de P<0,05
FIBROSE	52,2 ± 51,2	11,9 ± 3,38	0,02
NECROSE	62,9 ± 50,1	24,8 ± 7,16	0,02
HEMORRAGIA	22,3 ± 21,8	10,2 ± 3,56	0,08
ESTEATOSE	33,6 ± 52,7	8 ± 17,4	0,14
INFILTRAÇÃO LEUCOCITÁRIA	17 ± 13,1	11,8 ± 7	0,25
DIFERENCIAÇÃO DOS TECIDOS	20,8 ± 14,9	14,5 ± 5,3	0,2
CENTRO MELANOMACROFÁGO	16,3 ± 12,2	13,8 ± 19,1	0,7
DEGENERAÇÃO TECIDUAL	11,9 ± 3,97	10,5 ± 2,75	0,3

As alterações hepáticas observadas nesta pesquisa coincidem com os estudos realizados por Oliveira (2016); Dighiesh et al. (2019); Silva et al. (2009); Pinheiro-Sousa (2021), com peixes ósseos em regiões distintas do Brasil. O tecido hepático desempenha diversas funções vitais como já mencionado na literatura, tais como: metabolismo de carboidratos, armazenamento de lipídios, tendo um papel crucial na síntese e oxidação de ácidos graxos (HINTON; LAURÉN, 1990; STEVENS; LOWE, 1995).

Além disso, fora a sua função digestiva e armazenamento de glicogênio as células hepáticas possuem a capacidade de sintetizar proteínas plasmáticas (HEATH, 1987) e também constituem o principal centro de detoxificação do organismo (HEATH, 1987; HINTON et al., 1992; LANDIS; YU, 1995; TAKASHIMA; HIBIYA, 1995). Portanto as lesões ocasionadas por xenobióticos a este órgão podem acarretar complicações severas para o metabolismo dos peixes (SILVA, 2004).

Lesões como a necrose, causa prejuízos funcionais e estruturais no fígado dos peixes (STENTIFORD et al., 2003), diminui a funcionalidade deste órgão, podendo levar a falência e consequentemente afetar maiores níveis de organização biológica (RABITTO et al., 2005). Essa lesão é causada pela inibição e danos à integridade da membrana celular além de distúrbios na síntese do metabolismo de proteínas e carboidratos (PINHEIRO-SOUSA, 2021).

A lesão hepática como fibrose considerada frequente neste estudo é condizente com os dados observados nas pesquisas de Rautenberg et al. (2015), trabalhando com *Ganbusia affinis* em um rio na Argentina, Soares et al. (2020), e Viana et al. (2021) estudando *Sciades herzbergii* na baía de São Marcos. Esses autores descrevem em menores proporções das observadas na presente pesquisa a presença da lesão fibrose. Esses tipos de lesões encontradas no tecido hepático de peixes normalmente são em decorrência da poluição da água por compostos orgânicos e representam contaminação crônica (SANTOS et al., 2012). Essa lesão segundo Figueiredo (2013), evidencia um quadro de hepatite crônica alteração histopatológica severa que pode levar os peixes a morte.

A incidência de centros melanomacrófagos já é bastante descrita na literatura e foram evidenciados nas pesquisas de Oliveira et al. (2016), trabalhando com a espécie *Oreochromis niloticus*, Pinheiro-Sousa et al. (2021) com a espécie *Sciades herzbergii*, Novaes (2019), com *Danio rerio*. A presença e aumento da quantidade dos centros de melanomacrófagos no organismo indica a presença de contaminantes no ambiente aquático, sendo assim essas alterações podem ser consideradas como biomarcadores (QUATALHO et al., 2018).

Os Centros de Melanomacrófagos (CMMs) são defesas naturais dos peixes e acumulam pigmentos no interior de suas células, tal como a hemossiderina (BOMBONATO et al., 2007), e está relacionada a um aumento na atividade fagocítica como resposta imune a lesões em indivíduos expostos a contaminantes (COUILLARD et al., 1999; MONDON et al., 2001; OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2005; RABITTO et al., 2005). A baixa incidência CMMs em fígados especialmente nos alterados sugere um dano agudo que compromete o mecanismo de defesa, levando o organismo a morte (PINHEIRO et al., 2017).

A esteatose é uma lesão bastante observada nesta pesquisa sendo caracterizada pela presença de vacúolos citoplasmáticos redondos e claros, com hepatócitos de volume aumentado (VIDEIRA et al., 2014), pode ser consequência de distúrbios metabólicos decorrentes da ação de produtos tóxicos e de vários processos que antecedem a necrose (ROBBINS; COTRAN, 2005). A esteatose é um distúrbio na disposição do metabolismo lipídico, e pode auxiliar no aumento da biossíntese de lipídios que induz a uma degeneração gordurosa dos hepatócitos (WOLF; WOLFE, 2005).

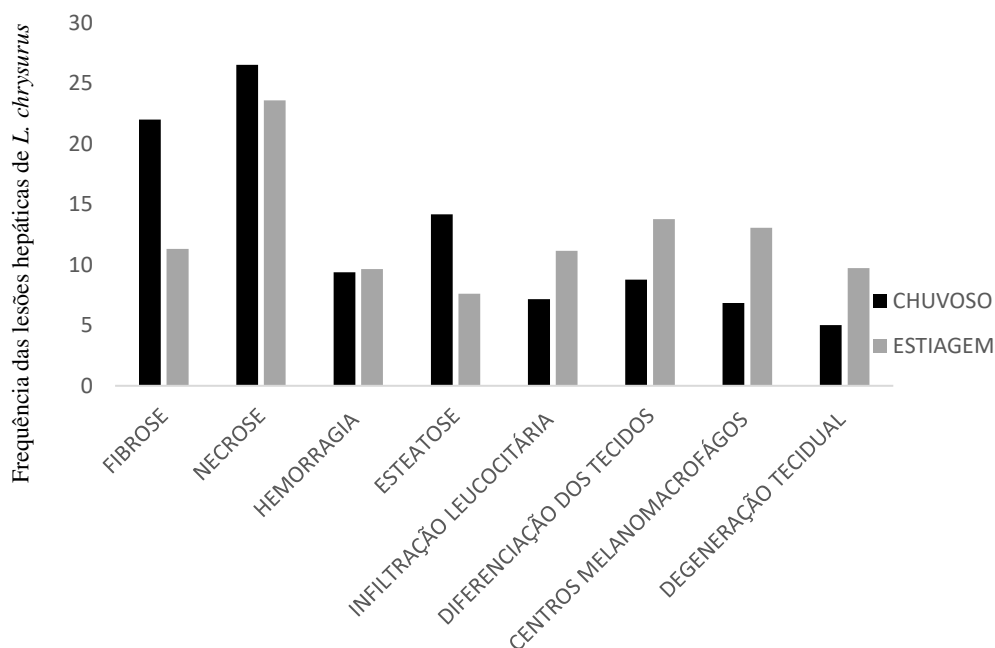
As alterações histopatológicas hepáticas observadas nessa pesquisa, como hemorragia e necrose, já foram citadas nos experimentos laboratoriais realizadas com tilápias-vermelhas, expostas a frações solúveis de óleo de motor queimado (DESSOUKI et al., 2013). Assim como nos estudos de Brand et al. (2001) com a espécie *Oncorhynchus gorbuscha* e Khan (2003) trabalhando com as espécies *Hippoglossoides platessoides*, *Limanda ferrugínea*, *Glyptocephalus*

cynoglossus e *Pleuronectes americanus*, avaliando peixes expostos a contaminação por óleo, no qual encontrou alterações consideradas graves nos tecidos dos peixes. Essas alterações morfo-funcionais já vêm sendo bastante citada na literatura e tem sido bastante utilizada como biomarcadores, com o intuito de indicar tanto exposição quanto os efeitos de poluentes ambientais (MARTINEZ; SOUZA, 2002; ALMEIDA et al., 2005).

Portanto, o fígado nos peixes desempenha inúmeras funções associadas ao metabolismo de xenobióticos (JIMENEZ; STEGEGEMAN, 1990). Sendo considerado órgão alvo e de grande importância para os peixes, pois participa de processo vitais como biotransformação e eliminação de poluentes e por isso é um órgão importante nos estudos de monitoramento devido sua alta sensibilidade a esses compostos (THOPHON et al., 2003). Sendo assim, a presença das alterações descritas nos fígados de *L. chrysurus* são indicativos de que os peixes da região de Itamaracá estão sob influência de contaminantes que contribuem para o aparecimento dessas patologias observadas na espécie deste estudo.

A Figura 8 apresenta a frequência das lesões hepáticas de *L. chrysurus* coletados na região de Itamaracá em Pernambuco. Os dados demonstram que para o período chuvoso as lesões de maiores porcentagens foram fibrose com 22,1%, necrose com frequência de 26,5% e esteatose com 14,1%. Para o período de estiagem as lesões de maiores prevalências foram necrose com 26,6%, células em diferenciação 13,7% e centro melanomacrofágos com 13%. Entretanto também foi possível observar lesões como menores frequências em ambos os períodos como hemorragia, degeneração tecidual e infiltração leucocitária.

Figura 8. Frequência das lesões hepáticas dos peixes (*L. chrysurus*) capturados Itamaracá, Pernambuco, Brasil.



Através do gráfico de ocorrência verificou-se que a espécie *L. chrysurus* proveniente de Itamaracá apresentaram lesões hepáticas significativas, todas essas lesões são respostas importantes devido a exposição a contaminantes. A incidência de alterações histológicas e fisiológicas são indicativos de comprometimento da saúde dos peixes e da má qualidade da água, provavelmente em função de uma maior concentração de agentes tóxicos (WINKALER et al., 2001).

Portanto pesquisas com fígado de peixes, vem demonstrando que as alterações em número, tamanho e forma dos hepatócitos pode ser devido a contaminantes (FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2007). Portanto alterações histológicas em tecidos de peixes são ferramentas sensíveis para detectar os efeitos tóxicos de compostos químicos em órgãos-alvo e, portanto, são indicadores potentes da exposição destes organismos a estressores ambientais (HINTON et al., 1992; SCHWAIGER et al., 1997).

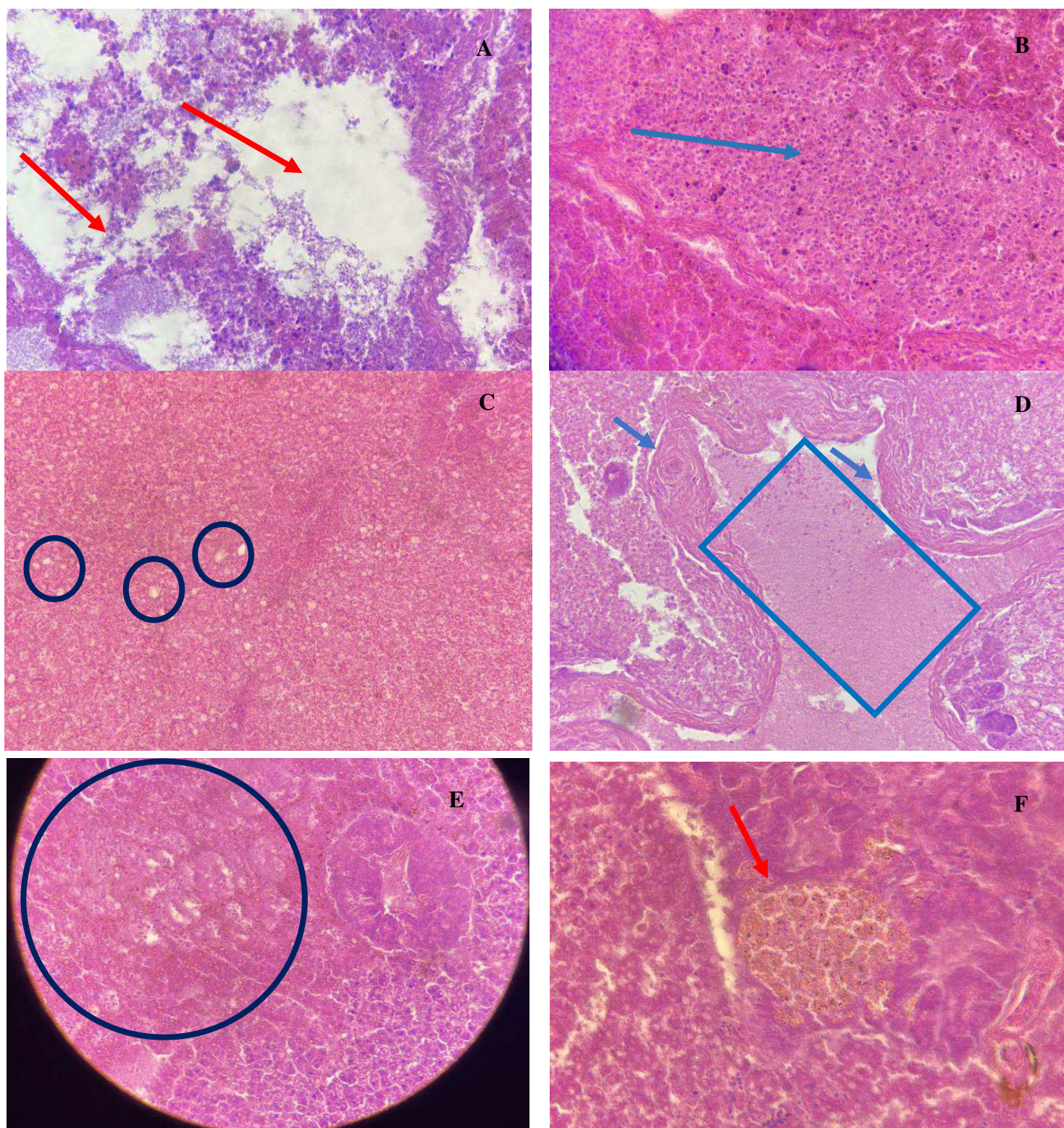
As lesões hepáticas encontradas na região da Ilha de Itamaracá podem ser observadas nas imagens, (Figura 9 A necrose – seta vermelha), (Figura 9 B diferenciação dos tecidos – seta azul) (Figura 9 C esteatose – círculos azuis escuro) (Figura 9 D necrose – quadrado azul; fibrose – seta azul) (Figura 9 E hemorragia – círculo azul) além das células de defesa (Figura 9 F centro melanomacrofago – seta vermelha).

Todas essas patologias constituem uma resposta comum de peixes em ambientes aquáticos degradados (HINTON; LAURÉN, 1990; HINTON et al., 1992; TAKASHIMA;

HIBIYA, 1995; SCHWAIGER et al., 1997; BROWN et al., 1998; LEADLEY et al., 1998; JOHNSEN et al., 1998; CHANG et al., 1998; GUNDERSEN et al., 2000; SCHWAIGER, 2001; PACHECO; SANTOS, 2002; THOPHON et al., 2003; FANTA et al., 2003).

Uma das mais importantes funções do fígado é limpar o sangue que vem do intestino, de diferentes substâncias estranha ou poluente (SALEH, 1982). A descoberta das lesões neste órgão entre populações de teleósteos marinhos demonstra a necessidade da utilização destes peixes como modelos para o desenvolvimento de estudos toxicológicos (KRANZ; PETERS, 1985),

Figura 9. Fotomicrografias das lesões hepáticas observadas em *L. chrysurus* na região de Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil, visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.

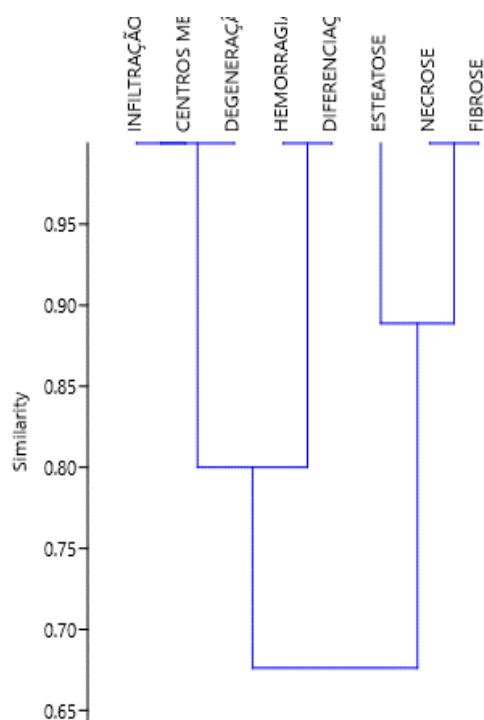


Legenda: necrose – seta vermelha, B) diferenciação dos tecidos – seta azul, C) esteatose – círculos azuis escuro, D) necrose – quadrado azul; fibrose – seta azul, E) hemorragia – círculo azul, F) centro melanomacrofago – seta vermelha.

5.4.1 Dendograma e similaridade entre as lesões hepáticas de *L. chrysurus* na área de Itamaracá

A Figura 10 apresenta a similaridade das variáveis das lesões hepáticas de *L. chrysurus* coletados na área de Itamaracá. Os dados do “cluster” para a região mostram três agrupamentos, com 100% de similaridade, o primeiro formado pelas lesões fibrose e necrose, distanciando-se de esteatose o segundo agrupando as lesões infiltração leucocitária, centros melanomacrófagos, degeneração e o terceiro reunindo hemorragia e células em diferenciação. As lesões hepáticas encontradas para *L. chrysurus* capturados na Ilha de Itamaracá, também foram encontradas por outros autores para peixes de ambientes contaminados (ALBINATI *et al.*, 2009; PEIXOTO, 2020; NASCIMENTO, 2021).

Figura 10. Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões hepáticas em *L. chrysurus* capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.



Portanto, a análise multivariada da relação entre os biomarcadores no presente estudo, confirmou a importância dessas lesões, sendo uma ferramenta importante e útil para identificar padrões de respostas múltiplas em peixes de ambientes contaminados e sendo um recurso importante para os estudos de biomonitoramento (PINHEIRO-SOUSA *et al.*, 2021). A exposição dos organismos aquáticos aos contaminantes pode levar à redução ou à perda de vários sistemas

biológicos, sejam bioquímico, fisiológico ou comportamental, além de demandar energia necessária para processos de detoxificação (LAM, 2009).

Dessa forma, as informações aqui discutidas confirmam que os achados histopatológicos são bons biomarcadores para avaliação, em particular de áreas que estão naturalmente sujeitas a uma multiplicidade de variações ambientais. Assim, é importante ressaltar que a histopatologia é capaz de avaliar os efeitos precoces e as respostas à exposição aguda a estressores ambientais. (CAMARGO; MARTINEZ, 2007).

5.5 Histologia das lesões observadas nos rins dos peixes da espécie *L. chrysurus*

As alterações dos rins observadas em *L. chrysurus* estão apresentadas na tabela 5. A avaliação dos dados demonstrou que para as lesões no rim as maiores médias para as patologias estão representadas pelas alterações como espaçamento do endotélio capilar, aumento do lúmen tubular, necrose, oclusão da luz tubular; centro melanomacrofágo, aumento do espaço da capsula de Bowman, somente a alteração do tipo dilatação do vaso sanguíneo apresentou menores médias. Todas as outras alterações demonstram ser bem representativas no órgão.

Tabela 4. Média e desvio-padrão das alterações observadas nos rins dos peixes (*L. chrysurus*) coletados em Itamaracá, Pernambuco.

LESÕES nos RINS	VERÃO	INVERNO
EEC	24,4 ± 12,3	-
ALT	22,9 ± 9,0	-
ACB	15,1 ± 8,0	-
NE	20,6 ± 7,6	-
CMM	16,5 ± 9,4	-
OLT	21,5 ± 10,3	-
DVS	4,8 ± 2,5	-

Legenda: EEC (Espaçamento do endotélio capilar); ALT (Aumento do lúmen tubular); ACB (Aumento do espaço da capsula de Bowman); NE (Necrose); CMM (Centro melanomacrofágo); OLT (Oclusão da luz tubular); DVS (Dilatação do vaso sanguíneo)

As alterações histopatológicas observadas neste estudo para os rins indicam que os peixes estão respondendo morfológicamente à agentes toxicológicos presentes na água, estando assim de acordo com a literatura (MARTINEZ, 2007; ALBINATI, 2009; SANTOS, 2010; CAMARGO; AREOSE, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2018).

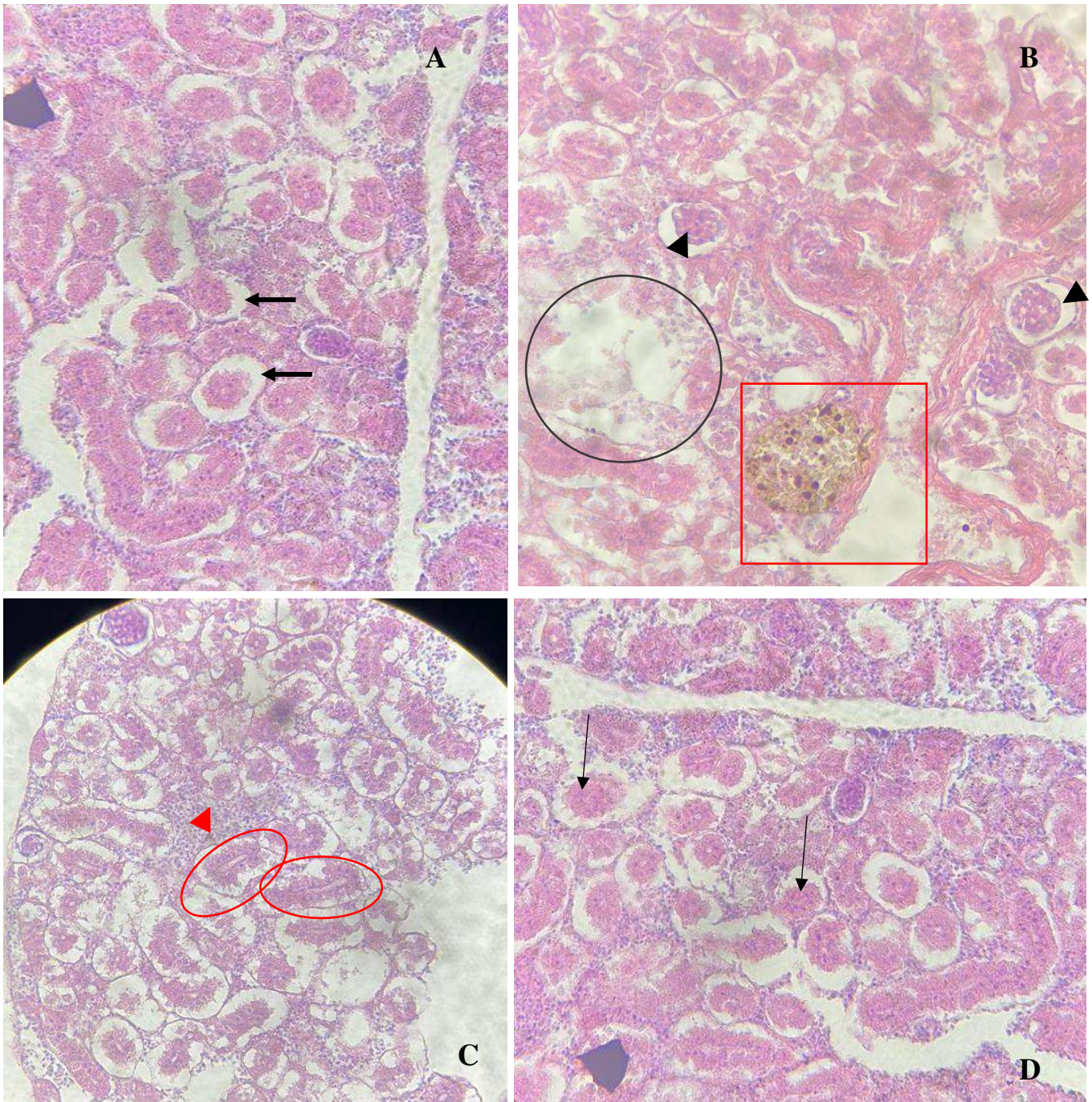
O rim dos teleósteos é um dos primeiros órgãos a ser afetado por contaminantes da água (THOPHON *et al.*, 2003). As lesões renais podem ser indicativos de toxinas podendo ser utilizados como indicadores para o monitoramento de efeitos de contaminantes (HINTON; LAURÉN, 1990).

Silva (2004), estudando a espécie *Astyanax scabripinnis* em Ribeirão Cambé – Cidade de Londrina buscando avaliar os efeitos da exposição crônica aos poluentes encontrou resultados semelhantes ao da presente pesquisa alterações como necrose, oclusão da luz tubular, redução do espaço de Bowman foram também descritas por este autor. Para ele o fato de o rim ser um órgão que recebe grande fluxo sanguíneo a presença de compostos químicos no sangue pode levar a algumas mudanças patológicas na cápsula de Bowman, como proliferação anormal das células epiteliais e o espessamento da lâmina basal, que leva a redução do espaço de Bowman.

Thomson (1978), descreve que é comum - em determinados graus de contaminação e exposição a presença de degenerações e necroses nos tecidos. Para esse mesmo autor estas alterações podem ocorrer em função do aumento das necessidades funcionais das células ou mesmo por exposição aos xenobióticos. As lesões renais podem seguir padrões diferentes dependendo do agente químico envolvido no processo, por isso, esses estudos têm se tornado importante nas pesquisas com biomarcadores histopatológicos em peixes, mesmo que em uma menor frequência se comparado com outros tecidos (FAHEEM; JAHAN; LONE, 2018).

Todas as patologias encontradas na região da Ilha de Itamaracá para o rim podem ser observadas nas imagens, (Figura 11 A espaçamento do endotélio capilar – seta preta), (Figura 11 B) aumento da capsula de Bowman – ponta da seta preta) (Figura 11 B necrose – círculo) (Figura 11 B centro melanomacrofágo – quadrado vermelho) (Figura 11 C aumento do lúmen tubular – círculo vermelho) (11 C dilatação do vaso sanguíneo – ponta da seta vermelha). (Figura 11 D oclusão da luz tubular – seta preta).

Figura 11. Fotomicrografias das alterações renais observadas em *L. chrysurus* na região de Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil. visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



Legenda: **A:** EEC (Espaçamento do endotélio capilar – seta preta); **B:** ACB (Aumento do espaço da capsula de Bowman – ponta da seta); NE (Necrose – círculo preto); CMM (Centro melanomacrofágo – quadrado vermelho); **C:** DVS (Dilatação do vaso sanguíneo – ponta da seta vermelha); ALT (Aumento do lúmen tubular – círculo vermelho); OLT (Oclusão da luz tubular – seta fina preta)

De acordo com Thophon et al. (2003), o rim de peixes teleósteos, por processar um grande volume sanguíneo, junto com as brânquias, é um dos primeiros órgãos a serem afetados por

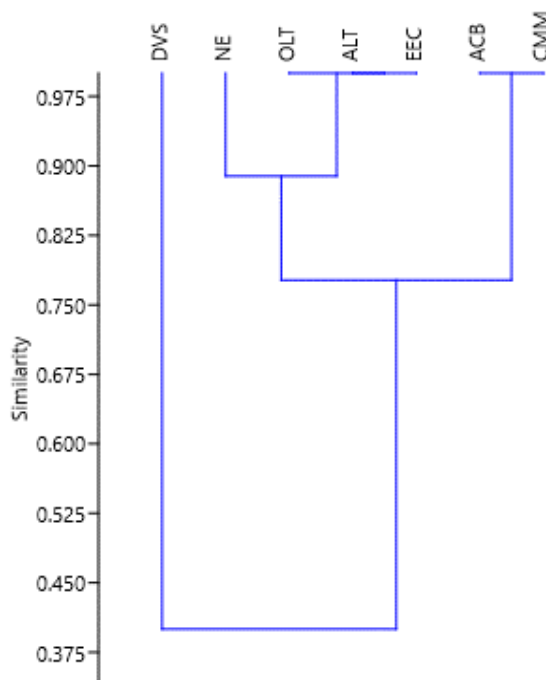
contaminantes. Dessa forma em vários estudos, o rim vem sendo considerado um órgão-alvo nos estudos dos efeitos de poluentes para os peixes (HINTON *et al.*, 1992).

As lesões encontradas em diferentes tecidos podem ser consequência de interferências decorrentes da atividade humana no ambiente aquático e nas suas vizinhanças, a poluição química ou biológica pode gerar alterações teciduais por ação direta ou indireta, assim como causar estresse nos peixes aumentando a susceptibilidade para infecções e contribuindo de forma significativa para limitar a atividade metabólica desses organismos (SANTOS, 2010).

5.5.1 Dendograma e similaridade entre as lesões observadas nos rins dos peixes da espécie *L. chrysurus* na área de Itamaracá

O índice de Bray-Curtis para as alterações nos rins de *L. chrysurus* na área indicou um forte agrupamento com 100% de similaridade das alterações oclusão da luz tubular, aumento do lúmen tubular, espaçamento do endotélio capilar, aumento do espaço da capsula de Bowman e centro melanomacrofágico distanciando-se das alterações necrose e dilatação do vaso sanguíneo.

Figura 12. Dendograma da similaridade do índice de Bray-Curtis das lesões renais em *L. chrysurus* capturados em Itamaracá, Pernambuco, Brasil.



Legenda: EEC (Espaçamento do endotélio capilar); ALT (Aumento do lumen tubular); ACB (Aumento do espaço da capsula de Bowman); NE (Necrose); CMM (Centro melanomacrofágico); OLT (Oclusão da luz tubular); DVS (Dilatação do vaso sanguíneo)

As alterações encontradas no rim de *L. chrysus* na região de Itamaracá, Pernambuco indicam que os organismos ali coletados estão sob influência de contaminantes no ambiente. No presente estudo foi identificado a presença de centro de melanomacrófagos, a presença de melanomacrófagos é encontrada de forma natural neste órgão, todavia o grande acúmulo está relacionado aos efeitos de materiais poluentes absorvidos por este órgão (CASTRO, 2016).

Manera et al. (2000) descreve que a intensidade e a prevalência de acúmulos de melanomacrófagos no rim de peixes tem sido proposto como um biomarcador útil da degradação ambiental e da poluição aquática.

O aumento do espaço da cápsula de Bowman pode causar o desprendimento da cápsula e disfunções na filtração do sangue dentro do rim (CAMARGO, MARTINEZ, 2007). A obstrução tubular e o aumento do lúmen tubular podem intensificar as disfunções na filtração, a reabsorção e secreção nos túbulos (RATN *et al.*, 2018). A dificuldade em realizar esses processos pode ser agravada ainda pela dilatação dos vasos sanguíneos, que resulta em uma condição estagnante do fluxo sanguíneo que pode causar ruptura dos vasos sanguíneos (WOLF *et al.*, 2015).

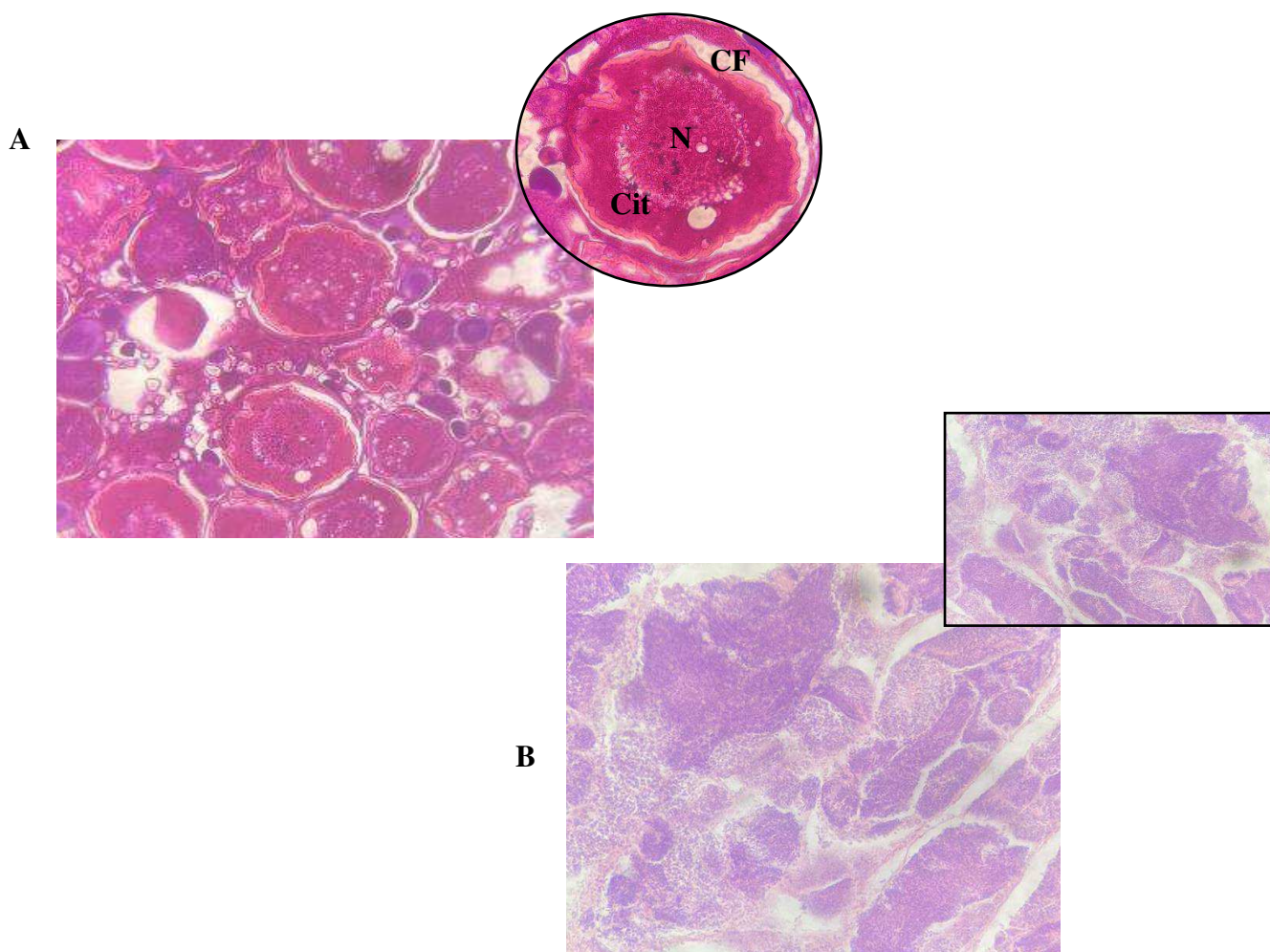
Lesões no tecido renal podem ser indicativos de poluentes e podem ser utilizadas como indicadores para o monitoramento de efeitos dos contaminantes (OVERSTREET, 1988; HINTON; LAURÉN, 1990; SCHWAIGER *et al.*, 1997).

No entanto, se comparado com as brânquias e o fígado, as alterações histopatológicas renais em peixes estão sendo utilizadas ainda de forma tímida como biomarcadores histológicos da contaminação aquática (HINTON *et al.*, 1992; SILVA, 2001; PACHECO; SANTOS, 2002).

5.6 Histologia das gônadas

As gônadas analisadas apresentaram características normais (Figura 13) conforme descrito por Genten; Terwinghe; Danguy (2009), onde foram encontradas células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, no ovário foi possível observar oócitos em diferentes estágios de maturação e nos testículos diferentes estágios de desenvolvimento dos espermatozoides.

Figura 13. Corte histológico de gônadas de *L. chrysurus*. A – Corte de ovário mostrando oócitos em diferentes estágios de maturação. B – Corte de testículo apresentando estrutura normal com diferentes estágios de desenvolvimento dos espermatozoides. Visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



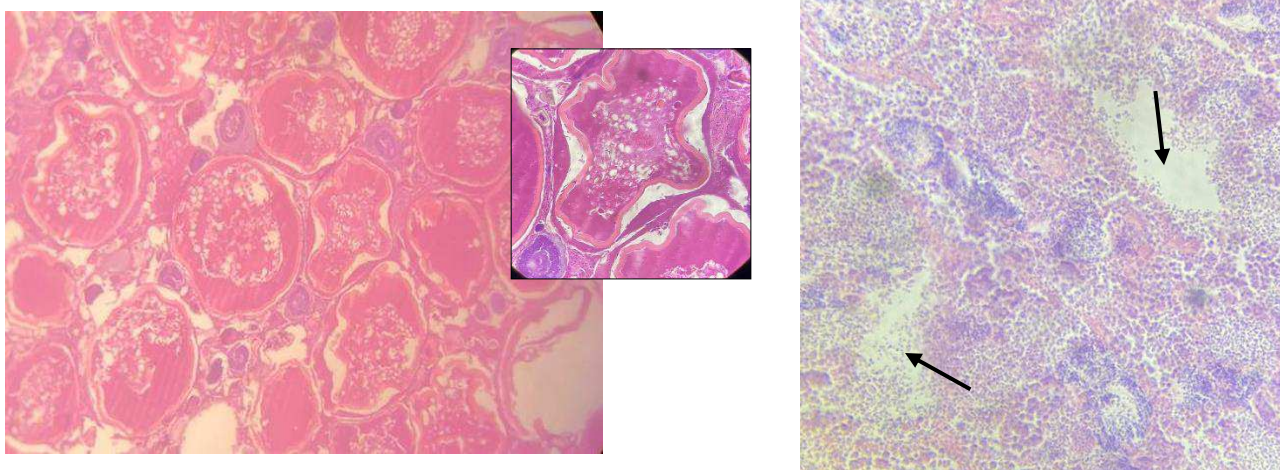
Legenda: N (Núcleo); Cit (Citoplasma), CF (células foliculares)

Foram encontradas poucas alterações nas gônadas analisadas, algumas amostras dos indivíduos machos apresentaram necrose e alterações como folículos atresícos foram observadas em gônadas de fêmeas (Figura 14). Lesões espontâneas nas gônadas podem ocorrer sem um evento específico sob condições normais (ROSSTEUSCHER et al., 2008), no entanto, alterações como folículos atresícos já foram associadas a exposição à contaminantes (LOUIS; BEN-ATTIA; BEN-HASSINE, 2009) e a misturas de poluentes organo-persistentes (KRAUGERUD et al, 2012). Muitos xenobióticos podem atuar sobre o sistema reprodutivo dos animais, alterando a função hormonal endógena e o comportamento reprodutivo dos organismos, além de também causarem lesões, hemorragias e malformações nas gônadas (MLANDO et al, 2009).

Alterações como necroses demonstra que estes organismos também estão sofrendo a ação de substâncias tóxicas que causam alterações nas gônadas, a exposição crônica a poluentes pode

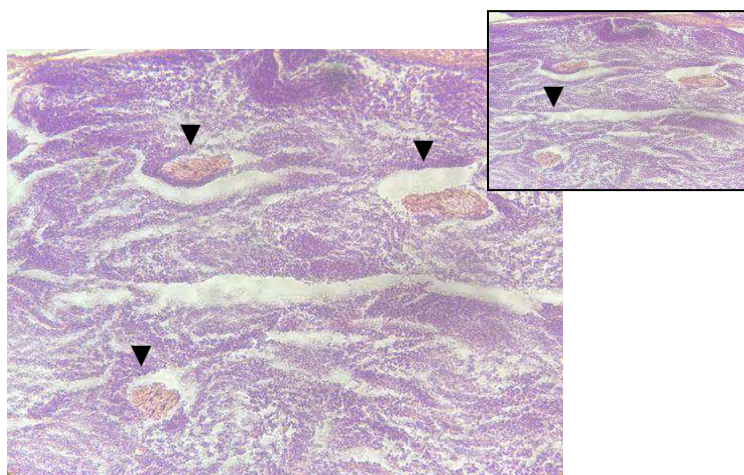
gerar várias lesões em animais expostos, podendo até mesmo, dependendo do grau de danos, interferir na capacidade de reprodução destes. (SANTOS, 2013).

Figura 14. Corte histológico de gônadas de *L. chrysurus*. A – Corte de ovário mostrando folículo atresico. B – Corte de testículo apresentando áreas de necrose (setas) visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



Foram observadas também a presença de centros melanomacrofágos (figura 13), melanomacrofágos são células que pertencem ao sistema imunológico inespecífico (LOUIS; BEN-ATTIA; BEN-HASSINE, 2009). Essa anormalidade é comumente associada a lesões inflamatórias crônicas, o aumento desta alteração foi correlacionado a uma resposta ao estresse resultante da exposição a xenobióticos, como a poluição (MARTY *et al.*, 2003).

Figura 15. Corte histológico de gônada de macho *L. chrysurus* apresentando centros melanomacrofágos (ponta das setas), visualizada em microscopia óptica na objetiva 40x.



5.7 Índice de lesões branquiais, hepáticas e renais de *L. chrysurus*

Na Tabela 5 estão expressos as principais patologias e o grau de severidades das lesões encontradas nas populações de *L. chrysurus*. Em uma análise geral sobre a o índice de pontuação do grau de severidade das lesões de Bernet et al. (1999), observadas na espécie *L. chrysurus*, constatou-se que o fator de importância das lesões predominantes foram de 1 a 3.

Tabela 5: Patologias observadas, fator de importância (w) e índice de órgão para *L. chrysurus* capturados na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.

Órgão	Padrão de reação	Alteração	(W)	Índice de órgão
Brânquia	Distúrbios circulatórios	Hemorragia	1	Coleta I, Iorg= 430
		Aneurisma	1	
		Des. Lamelar	1	
		Congestão	1	
		Des. Epitélio	1	
	Mudanças regressivas	Necrose	3	Coleta II, Iorg= 500
	Mudanças progressivas	Fusão	2	
		Hiperplasia	2	
Fígado	Distúrbios circulatórios	Hemorragia	1	Coleta I, Iorg= 488
		Necrose	3	
	Mudanças regressivas	Fibrose	2	Coleta II, Iorg= 371
		Esteatose	2	
		Deg. Tecidual	1	
		CMMs	2	
	Resposta inflamatória	Inf. Leucocitária	2	
		Cel. Diferenciação	1	
	Distúrbios circulatórios	Dilatação do vaso sanguíneo	1	
	Mudanças regressivas	Espaçamento do endotélio capilar	2	
		Aumento do lúmen tubular	2	

Rim	Necrose	3	Coleta I, Iorg= 483
	Oclusão da luz tubular	1	
Mudanças progressivas	Aumento do espaço da capsula de Bowman	1	
Resposta inflamatória	CMMs	2	

Nas alterações teciduais dos peixes analisados foi possível observar quatro padrões de reação, comentados a seguir, conforme descrito por Bernet et al. (1999). O primeiro padrão observado foi a presença de distúrbios circulatórios (Rp1), que prejudica o fluido do tecido e o fluxo de sangue. O segundo padrão verificado foi o de Mudanças regressivas (Rp2), que ocasiona mudança na estrutura e funcionalidade do órgão. O terceiro padrão registrado foi o de Mudanças Progressivas (Rp3) que resulta na proliferação das células ou tecidos. E o quarto padrão percebido nas amostras analisadas foi o de Respostas inflamatórias (Rp4) com acúmulo de fluidos no tecido.

Os índices para as brânquias foram maiores na coleta 2, para o fígado na coleta 1, e para o rim na coleta 1, indicando que estes órgãos estão sendo sensíveis a presença dos contaminantes aquáticos.

Portanto o método de avaliação padronizado proposto no presente estudo permite a quantificação do dano ao órgão, incluindo a extensão e a importância patológica das alterações. Outra vantagem de categorizar as lesões histopatológicas está na possibilidade de avaliar quais órgãos foram lesados e em que medida as alterações foram induzidas (BERNET *et al.*, 1999).

5.8 Comparação das alterações brânquias, hepáticas, renais e gonadais de *L. chrysurus* capturados na ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil.

A Figura 14 apresenta de forma comparativa o quantitativo de lesões encontradas nas brânquias, fígado, rim e gônada de *L. chrysurus* capturados na Ilha de Itamaracá região afetada pelo derramamento de óleo em 2019.

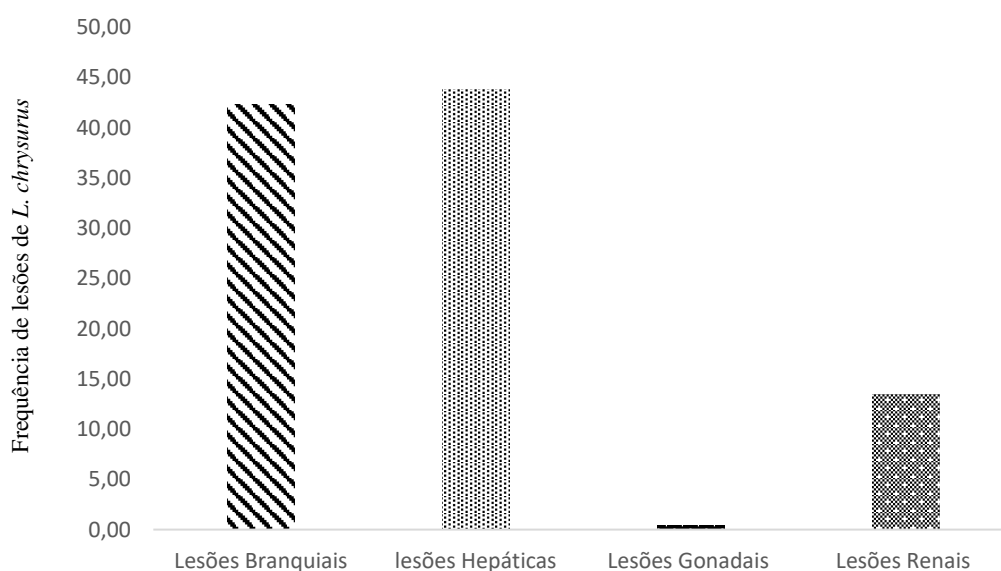
Esses dados indicaram que as lesões foram bem representativas e quantitativamente podemos observar que as alterações hepáticas foram as de maiores porcentagens. Em longo prazo, os efeitos dos poluentes e as diferenças de sensibilidade podem atingir níveis maiores, interferindo até mesmo nas relações ecológicas e composição das comunidades e ecossistemas afetados (SANTOS, 2013).

Dessa forma, a hipótese aqui proposta sobre os espécimes de peixes que vivem na região Itamaracá, região afetada pelo derramamento de óleo, podem estar sofrendo com impactos

oriundos de poluição por contaminantes petrogênicos que mostrou-se por meio das lesões graves aqui identificadas. As alterações encontradas podem ser indicativos de exposição a contaminantes ou estresse ambiental visto que na área há dados de contaminação por petróleo, Reddy et al. (2022) analisando as amostras de petróleo e avaliando os HPAs nas amostras, descreve a presença desse contaminante. Assim como Magalhães et al. (2022) avaliando o tecido de peixes, crustáceos e moluscos na região de Itamaracá descreve a presença de HPAs em seus tecidos.

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

Figura 16. Gráfico comparando o total de lesões encontradas em brânquias, fígado, gônada e rins de *L. chrysurus* na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil



6 CONCLUSÃO

Os dados dos trabalhos realizados para a análise de biomarcadores de contaminação aquática em peixes da espécie *L. chrysurus* permitiram concluir que:

- A espécie estudada, *L. chrysurus*, apresentou em suas brânquias diferentes tipos de lesões (desorganização das lamelas, deslocamento do epitélio, fusão, hiperplasia, necrose, congestão, aneurisma e hemorragia). Os percentuais das lesões indicam que os organismos da área estudada estão respondendo à exposição por contaminantes lançados no ambiente;

- As lesões observadas nas brânquias de *L. chrysurus* demonstram que este órgão é importante para o estudo com biomarcadores, sendo útil para o biomonitoramento de regiões que apresentam variações ambientais e antrópicas, principalmente, aquelas com grandes impactos como o derramamento de óleo;
- As lesões hepáticas observadas servem como ferramentas importantes nos estudos de biomonitoramento e contribuem de forma significativa para avaliação da qualidade da água e do ambiente em que esses peixes estão inseridos;
- As lesões renais permitem concluir que este órgão foi eficiente na avaliação de contaminação para a espécie *L. chrysurus*;
- A histologia das gônadas dos machos e fêmeas não apresentaram alterações significativas nas coletas, mais as poucas lesões observadas demonstram que este órgão também é sensível a contaminação;
- A ocorrência tanto de lesões branquiais, hepáticas, gonadais e renais indicam contaminação aquática, e reforçam a importância destes órgãos para esse tipo de análise na espécie;
- Os resultados observados para *L. chrysurus* permitiu concluir que o tecido hepático apresentou respostas biológicas alteradas mais adequadas para inferir os impactos da área, visto que mostrou sinais de danos mais severos em comparação com os tecidos branquiais, renais e gonadais;
- Os índices de alterações histológicas podem ser utilizados nos estudos e programas de biomonitoramento em áreas potencialmente contaminadas porque mostram o grau de severidade dessas lesões;
- Esses achados podem contribuir de forma significativa para programas de monitoramento ambiental no estado de Pernambuco, visto que são metodologias que apresentam resultados rápidos, eficazes e de baixo custo.
- A espécie *L. chrysurus* provou ser uma espécie adequada para avaliar os contaminantes ambientais com base no uso de biomarcadores.

REFERÊNCIAS

- ACHUBA, F.I.; OSAKWE, S.A. Petroleum-induced free radical toxicity in African catfish (*Clarias gariepinus*). **Fish Physiology and Biochemistry**. 29, 97–103, 2003.
- ABDALLA, R. P. Efeito do alumínio e manganês, em pH ácido, nos parâmetros de estresse oxidativo em machos de *Astyanax altiparanae* (Characiformes: Characidae). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2015
- AISLABIE, J.M.; BALKS, M.R.; FOGHT J.M. & WATERHOUSE, E.J. Hydrocarbon spills on Antarctic soils: effects and management. **Environmental Science & Technology**, 38:1265-1274, 2004.
- ALMEIDA, J. S.; MELETTI, P. C.; MARTINEZ, C. B. R. Acute effects of sediments taken from an urban stream on physiological and biochemical parameters of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 140 C: 356-363, 2005.
- ALMEIDA, S. D. J. M.; CASTRO, J. D. S.; DE LIMA, R. A. Y. S. S. A.; CARDOSO, D.; SANTOS, M. S.; TEXEIRA, E. G. Alterações histopatológicas em rim de *sciades herzbergii* (siluriformes, ariidae) no monitoramento de uma região portuária do Brasil. 1ª. EDIÇÃO, 256. 2018.
- ALBINATI, A. C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J. V.; DE LIRA, A. D.; SANTOS, G. B.; VIDAL, L. V. O. Biomarcadores histológicos: toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 61, 621-627, 2009.
- ARAÚJO, M. E.; RAMALHO, C. W. N.; MELLO, P. W. Pescadores artesanais, consumidores e meio ambiente: consequências imediatas do vazamento de petróleo no Estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **CSP Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, e00230319, 2020.
- AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 6.2: 158-170. 2003.
- ANDRADE, J. D. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética química**, 35(3), 17-43, 2010.
- PACHECO, M.; SANTOS M. A. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. **Ecotoxicol Environ Saf** 49:64-75. 2001.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. As bases toxicológicas das ecotoxicologia. São Carlos: **RiMa/Intertox**, 340p. 2003.
- AKAISHI, F.M.; ANJOS, A.; RANDI, M.A.F.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A., Effects of dietary Pb(II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histological and biochemical findings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, 147-156, 2005.
- AKAISHI, F.M.; SILVA DE ASSIS, H.C.; JAKOBI, S.C.G.; EIRAS-STOFELLA, D.R.; ST-JEAN, S.D.; COURTENAY, S.C.; LIMA, E.F.; WAGENER, A.L.R.; SCOFIELD, A.L.; OLIVEIRA RIBEIRO C.A. Morphological and Neurotoxicological Findings in Tropical

Freshwater Fish (*Astyanax sp.*) After Waterborne and Acute Exposure to Water Soluble Fraction (WSF) of Crude Oil. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 46, 244– 253, 2004.

ADAMS, S. M. Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. In: MMARTHY, J. F.; SHUGART, L.R. (Ed.). *Biomarkers of environmental contamination*. Boca Raton: **Lewis Publishers**, p. 333-353. 1990.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. D.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, 12, 61-72. 2007.

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

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

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

AGORAMOORTHY, G.; CHEN, FU-NA.; HSU, M. J. Threat of heavy metal pollution in halophytic and mangrove plants of Tamil Nadu, India. **Environmental Pollution**. v. 155. p. 320-326, 2008.

AGAMY, E. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant. **Ecotoxicology and Environmental Safety** v.75, p.171–179, 2012.

ALBINATI, A. C. L. et al. Biomarcadores histológicos de toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 621-627, 2009.

ALLEN, G. R. **Snappers of the world. Na annotated and Illustrated catalogue of Lutjanid Species known to date**. Rome: FAO, 1985.

AKAISHI, F.M. **Avaliação do potencial tóxico da fração solúvel do petróleo em água (FSA) em *Astyanax sp.* utilizando biomarcadores de contaminação**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná – UFPR. Curitiba/PR. 141pp. 2003.

ALAZEMI, B. M.; LEWIS, J. W.; ANDREWS, E. B. Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. **Environmental Technology**, 17(3), 225-238, 1996.

BARRETT, J.C.; VAINIO, H.; PEAKALL, D.; GOLDSTEIN, B.D. 12TH Meeting of the scientific group on methodologies for the safety evaluation of chemical: susceptibility to environmental hazards. **Environmental Health Perspective**, 105: 699–737. 1997.

BENTZ, C. M.; POLITANO, A. T.; GENOVEZ, P. Monitoramento ambiental de áreas costeiras e oceânicas com múltiplos sensores orbitais. **Revista Brasileira de Cartografia**, 57(1), 43-47, 2005.

BERNET, D., SCHMIDT, H., MEIER, W., BURKHARDT-HOLM, P., & WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of fish diseases**, 22(1), 25-34, 1999.

BURGHERR, P. Análise aprofundada de derramamentos acidentais de óleo de petroleiros no contexto das tendências globais de derramamento de todas as fontes." **Jornal de materiais perigosos** 140.1-2: 245-256. 2007.

BLABER, S.J.M.; BLABER, T.J. Factors affecting the distribution of juvenile estuarine and inshore fish. **Journal of Fish Biology** 17: 143-162. 1980.

BRAND DG.; FINK R.; BENGUEYFIELD W.; BIRTWELL IK.; MCALLISTER CD. Salt water-acclimated pink salmon fry (*Oncorhynchus gorbuscha*) develop stress-related visceral lesions after 10-day exposure to sublethal concentrations of the water-soluble fraction of North Slope crude oil. **Toxicol Pathol**, 29(5):574-584, 2001.

BIAZZA, A.; PILASTRO, A. Small male mating advantage and reverse size dimorphism in poeciliid fishes. **Journal of Fish Biology**, 50: 397-406. 1997.

BOMBONATO, M. T. S.; ROCHEL, S. S.; VICENTINI C. A.; VICENTINI, I. B. F. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 29(1): 81-85, 2007.

BRAUNBECK, T.; STORCH, V.; BRESCH, H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroaniline. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 19(3), 405-418, 1990.

BRAND, D. G.; FINK, R.; BENGUEYFIELD, W.; BIRTWELL, I. K.; MCALLISTER, C. D. Salt water-acclimated pink salmon fry (*Oncorhynchus gorbuscha*) develop stress-related visceral lesions after 10-day exposure to sublethal concentrations of the water-soluble fraction of North Slope crude oil. **Toxicologic Pathology**, 29(5), 574-584, 2001.

BRUSLÉ, J.; ANADON, G. G. The Structure and Function of Fish Liver. In: *Fish Morphology*, Science Publishers, pp 77-93, 1996.

CAMARGO, M. M.; MARTINEZ, C. B. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical ichthyology**, 5, 327-336. 2007.

CARVALHO, T. L. A. D. B.; NASCIMENTO, A. A. D.; GONÇALVES, C. F. D. S.; SANTOS, M. A. J. D.; SALES, A. Assessing the histological changes in fish gills as

environmental bioindicators in Paraty and Sepetiba bays in Rio de Janeiro, Brazil. **Latin american journal of aquatic research**, 48(4), 590-601, 2020.

CASTRO, J. D. S. **Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) no monitoramento do complexo estuarino de São Marcos, Maranhão.** Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão. 2016.

CARRILLO, A.C. Evaluación preliminar de la rabirrubia *Ocyurus chrysurus* de la región occidental de cuba. **Rer. Inv. Mar.** v.9, n.2, 1988.

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. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: an in situ study of estuarine ecosystem (São Marcos' Bay, Maranhão, Brazil). **Braz. J. Oceanogr.**, v.58, p.11-17, 2010.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES-JR, A. R.; ABREU-SILVA, A. L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). **Appl Biochem Biotechnol**, v. 166, p. 1314– 1327, 2012.

CARDOSO.L R.; CARVALHO-NETA, R.N.F.; DE CASTRO, A.C.L. Histological and Genotoxic Biomarkers in *Prochilodus lacustris* (Pisces, Prochilodontidae) for Environmental Assessment in a Protected Area in the Northeast of Brazil. **Bull Environ Contam Toxicol** 101, 570–579. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2464-8>, 2018.

CARVALHO, V. C. de. A zona costeira brasileira: subsídios para uma avaliação ambiental. In: Vitor Celso de Carvalho, Hidely Grassi Rizzo [para o] **Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal**. Brasília, MMA, 1994.

CAPPARELLI, M. V.; MCNAMARA, J. C.; GROSELL, M. Effects of waterborne copper delivered under two different exposure and salinity regimes on osmotic and ionic regulation in the mudflat fiddler crab, *Minuca rapax* (Ocypodidae, Brachyura). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 201–209, 2017.

CARMO, E. H., TEIXEIRA, M. G. Desastres tecnológicos e emergências de saúde pública: o caso do derramamento de óleo no litoral do Brasil. **CSP Cadernos de Saúde Pública**, 2020; 36(2):e00234419. 2020.

CAJARAVILLE, M.P.; BENIANNIO, J.M.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C.; VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, 247: 295–311. 2000.

CALLISTO, M.; MORENO, P.; BARBOSA, F.A.R. Habitat diversity and benthic functional trophic groups Serra do Cipó, Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Biologia.**; v. 61, n.2, p. 259-266. 2001.

CARNEIRO, L.M. **determinação de elementos traço em goniopsis cruentata (latreille, 1803): subsídio para avaliação ambiental dos manguezais do rio una, pardo e jequitinhonha - sul da bahia, brasil.** Monografia (Curso de Oceanografia, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia) 64p. 2016.

CASTRO, J. S.; FRANÇA, C. L.; FERNANDES, J. F. F.; SILVA, J. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; TEIXEIRA, E. G. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 70, 410-418. 2018.

CANTANHÊDE, S. M. **Biomarcadores em peixes como ferramenta na avaliação da qualidade de ambientes estuarinos na Ilha do Maranhão, Brasil.** (Dissertação). Programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca. Universidade Estadual do Maranhão. PhD Thesis. UEMA. 2016.

CANTANHÊDE, S.M.; MEDEIROS, A.M.; FERREIRA, F.S.; FERREIRA, J.R.C.; ALVES, L.M.C.; CUTRIM, M.V.J.; SANTOS, D.M.S. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís – MA. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.66, n.2, p.593-601, 2014.

CENGIZ, E. 1.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 2005 (in press).

CENGIZ, E. I.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissue of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology** v.21, p.246-253, 2006.

CELANDER, M. C. "Cocktail effects on biomarker responses in fish." **Aquatic toxicology** 105.3-4 72-77. 2011.

CIDADE BRASIL, 2021. <https://www.cidade-brasil.com.br/estado-pernambuco.html>

CORGOSINHO, P.H.C.; CALIXTO, L.S.F.; FERNANDES, P.L.; GAGLIARDI, L.M.; BALSAMÃO, V.L.P. Diversidade de habitats e padrões de diversidade e abundância dos bentos ao longo de um afluente do reservatório de Três Marias, MG. **Arquivos do Instituto Biológicos.**; v. 71, n. 2, p. 227-232, 2004.

COSTA, A. M. Análise histológica de gônadas de Carapau (*Trachurus trachurus* Linnaeus): morfogênese e escala de maturação. **Relat. Cient. Técn IPIMAR**, série digita, no. 16, p. 17. 2004.

CORREIA, A. T.; REBELO, D.; MARQUES, J.; NUNES, B. Effects of the chronic exposure to cerium dioxide nanoparticles in *Oncorhynchus mykiss*: Assessment of oxidative stress,

neurotoxicity and histological alterations. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 68, 27-36, 2019.

CORREA, M. E GARCIA, H. I. Physiological responses of juvenile white mullet, *Mugil curema*, exposed to benzene. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v.44, p. 428- 434. 1990.

CUÑA, R.H.; VAZQUEZ, G.R; PIOL, M.N.; GUERRERO, N.V.; MAGGESE, M.C.; NOSTRO, F.L. Assessment of the acute toxicity of the organochlorine pesticide endosulfan in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei,Perciformes). **Ecotoxicology and Environmental Safety** v.74, p.1065–1073, 2011.

CLARO, R.; LINDEMAN, K. C.; PARENTI, L. R. Ecology off the marine fishes of cuba. Ed. Smithsonian **Institution press washington end london**, 253p, 2001.

CLUTTON-BROCK, T.H.; ALBON, S.D.; GUINNESS, F.E. Parental investment and sex differences in juvenile mortality in birds and mammals. **Nature**, 313: 131-133. 1985.

DAVANSO, M. B. et al. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. **Marine Environmental Research**, v. 91, p. 80–88, 2013.

DAHLGREN, C. P.; EGGLESTON, D. B. Ecological processes underlying ontogenetic habitat shifts in a coral reef fish. **Ecology**, n.8, v.81, p.2227-2240, 2000.

DA SILVA AIRES, M.; PAGANINI, C. L.; BIANCHINI, A. Biochemical and physiological effects of nickel in the euryhaline crab *Neohelice granulata* (Dana, 1851) acclimated to different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, v. 204, n. August 2017, p. 51–62, 2018.

DEPLEDGE, M. H. Genotype toxicity implications for individuals and populations. **Environmental Health Perspective**, v. 102, p. 101-104, 1994.

DESSOUKI, A. A.; ABDEL-RASSOL, T. M.; SHWTAR, N. S.; TANTAWY, H. M.; SALEH, N. H. Pathological effects of water-soluble fraction of burned motor oil in *Tilapia zillii* and *Mugil cephalus* through bioremediation processes. **Middle-East Journal of Scientific Research**, 17(10), 1386-1395, 2013.

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

DIEGUES, A. C. **Ecologia humana e planejamento costeiro**. 2 ed. São Paulo: Núcleo de Apoio à Pesquisa sobre Populações Humanas em Áreas Úmidas Brasileiras, USP, 2001.

DIEDHIOU, M. Aspectos biológicos da guaiúba, *Lutjanus chrysurus* Bloch, 1791 (Perciformes: Lutjanidae) na costa nordeste do Brasil: pesca, morfometria, reprodução e idadeecrescimento. 85 p. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Oceanografia), CTG, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2000.

DIEDHIOU, M., FERREIRA, B. P., & REZENDE, S. M. Idade e crescimento da guaiúba, *Lutjanus chrysurus* (Bloch, 1791), na costa nordeste do Brasil, 2004.

DIGHIESH, H.; ELDANASOURY, M.; KAMEL, S.; SHARAF, S. Toxicity of Water Soluble Fractions of Petroleum Crude Oil and its Histopathological Alterations Effects on Red Tilapia Fish. Catrina: **The International Journal of Environmental Sciences**, 18(1), 25-31, 2019.

DIMICHELE, L.; TAYLOR, M. H. Histopathological and physiological responses of *Fundulus heteroclitus* to naphthalene exposure. **Journal of Fisheries Research Board Canada**. v.35, p.1060-1066. 1978.

DOMINGOS, F. X. V. **Biomarcadores de contaminação ambiental em peixes e ostras de três estuários brasileiros e cinética de derivados solúveis do petróleo em peixes**. Tese (programa de PósGraduação em Biologia Celular e Molecular), Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

ESCOBAR, H., Mystery oil spill threatens marine sanctuary in Brazil. **Science** 366, 672, 2019.

ERKMEN, B.; KOLANKAYA, D. Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of Capoeta tinca living in two tributaries of Kizilirmak River, Turkey. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.64, p.418-425, 2000.

ENGELHARDT, F. R.; WONG, M. P.; DUEY, M. E. Hydromineral balance and gill morphology in rainbow trout *Salmo gairdneri*, acclimated to fresh and sea water, as affected by petroleum exposure. **Aquatic Toxicology**. v.1, p. 175-186, 1981.

EVANS D.H. **Osmotic and ionic regulation**. In: The Physiology of Fishes, edited by Evans D.H. Boca Raton. FL: CRC, p. 315–341. 1993.

FAHEEM, M.; LONE, K. P. Oxidative stress and histopathologic biomarkers of exposure to bisphenol-A in the freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. Braz. J. of Pharma. **Sciences**, v. 53, 2018.

FERREIRA, B. P.; REZENDE, S. M. Projeto biologia e dinâmica populacional de peixes recifais da zona econômica exclusiva brasileira. **REVIZEE-NE**, Relatorio 98/99, 1999.

FISHELSON, L. Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, headkidney and liver in cardinal fish (apogonidae teleostei) as bioindicators of stress. **Journal of Morphology**, v. 267, 57-69, freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquatic** 2006.

FLORES-LOPES, F.; COGNATO, D. P.; MALABARBA, L. R. Alterações Histopatológicas observadas nas brânquias do Lambari *Astyanax jacuhiensis* (LINNAEUS, 1758) (TELEOSTEI: CHARACIDAE) sob influência de efluentes Petroquímicos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, 18(2), 99-104, 2005.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weightlength relationship: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, p. 241-253. 2006.

FREITAS, M. O.; MOURA, R. L.; FRANCINI-FILHO, R. B.; MINTE-VIEIRA, C. V. Spawning patterns of commercially important reef fish (Lutjanidae and Serranidae) in the tropical western South Atlantic. **Scientia Marina**, n.1, v.75, p.135-146, 2011.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FERREIRA-CARDOSO, J. V.; GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; MATOS, P.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27(3), 103-109, 2007.

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

GARCÍA-CAGIDE, A.; CLARO, R.; KOSHELEV, B. V. Reproductive patterns of fishes of the Cuban shelf. p. 71-102, In: CLARO, R., LINDEMAN, K. C., PARENTI, L. R. (eds), **Ecology of the marine fishes of Cuba**. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C, USA, 253 p. 2001.

GALLAWAY, B. J.; SZEDLMAYER, S. T.; GAZEY, W. J. A life history review for Red Snapper in the Gulf of Mexico with an evaluation of the importance of offshore petroleum platforms and other artificial reefs. **Reviews in Fisheries Science**, v.17, p.48-67, 2009.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. CRC Press, 2009.

GELSLEICHTER, J.; SZABO, N. J.; BELCHER, C. N.; ULRICH, G. F. Organochlorine contaminants in bonnethead sharks (*Sphyrna tiburo*) from Atlantic and Gulf estuaries on the US east coast. **Marine Pollution Bulletin** (Baseline), 56: 348–379. 2008.

GOLD-BOUCHOTA. G. J.; RUBIO-PIÑAD, J.; MONTERO-MUÑOZB, N.; RAMIREZ-MISSA, A.; ECHEVERRÍA-GARCÍAC. V.; PATIÑO-SUAREZB, C. A.; PUCH-HAUB, O.; ZAPATA-PÉREZB. Poluentes e respostas de biomarcadores em duas espécies de peixes de recife (*Haemulon aurolineatum* e *Ocyurus chrysurus*) no sul do Golfo do México." **Boletim de poluição marinha** 116.1-2 249-257. 2017

GODEFROID, R. S.; SANTOS, C.; HOFSTAETTER, M.; SPACH, H.L. Occurrence of Larvae and Juveniles of *Eucinostomus argenteus*, *Eucinostomus gula*, *Menticirrhus americanus*, *Menticirrhus littoralis*, *Umbrina coroides* and *Micropogonias furnieri* at Pontal do Sul beach, Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 44(4): 11-418. 2001.

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

GUNDERSEN, D. T.; MILLER, R.; MISCHLER, A.; ELPERS, K.; MIMS, S. D. Biomarker response and health of polychlorinated biphenyl – and chlordanecontaminated paddlefish from the Ohio River Basin, USA. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 19 n.9, p. 2275-2285, 2000.

GRIMES, C.B.; HUNTSMAN, G.R. Reproductive biology of the vermilion snapper, *Rhomboplites aurorubens*, from North Carolina and South Carolina. **Fisheries Bulletin**, n.1 v.78, p.137-146, 1980.

GÜL, S.; BELGE-KURUTAS, E.; YILDIZ, E.; SAHAN, A.; DORAN, F. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake. **Turkey Environment International**. v. 30, n. 5, p. 605-609. 2004.

HAWKINS, W. E.; OVERSTREET, R. M.; PROVANCHA, M. J. Effects of space shuttle exhaust plumes on gills of some estuarine fishes: a light and electron microscopic study, 1984.

HEATH, A. G. Water Pollution and Fish Physiology. **C.R.C. Press**, 1987

HILBORN, E.; WALTERS, C.J. Quantitative fisheries stock assessment: choice, dynamics and uncertainty. **Chapman and Hall**, 570p., London 1992.

HINTON, D.E., BAUMANN, P.C., GARDNER, G.C., HAWKINS, W.E., HENDRICKS, J.D., MURCHELANO, R.A., OKIHIRO, M.S., Histopathologic biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerly, R.A., Mehrle, P.M., Jr, Bergman, H.L. (Eds.), Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. **Lewis Publishers**, Chelsea, MI, USA, pp. 155- 210, 1992.

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

HOAR, W.S.; RANDALL D.J; DONALDSON E.M. In: HOAR, W.S. Fish physiology reproduction. Part A- **Endocrine Tissues and Hormones**, **Academic Press**, p. 223- 275, New York, 1983.

HUGGETT R. J.; KIMERLI, R. A.; MEHRLE Jr, P. M.; BERGMAN, H. L. Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton: **Lewis Publishers**, cap. 4, p. 155 –196. 1992.

HULKA, B. S. Overview of biological markers. In: HULKA, B. S.; GRIFFITH, J. D.; WILCOSKY, T. C. **Biological markers in epidemiology**. New York: Oxford University Press, 1990. P. 3-15.

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

IBGE, 2019. <https://www.ibge.gov.br/>

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **Energy Supply**. 2020. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/databrowser/?country=WORLD&fuel=Energy%20supply&indicator=TPESbySource>. Acesso em: 23 abr. 2021.

JOHNSON, L.L.; CASILLAS, E.; SOL, S.; COLLIER, T.; STEIN, J.; VARANASI, U. Contaminant effects on reproductive success in selected benthic fish. **Mar. Environ. Res.** v.35.p.165–170. 1993.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes**. London: Chapman & Hall, p. 455. 1995.

KASPER, N. **Respostas histopatológicas e genotóxicas em peixes de água doce expostos a ambientes antropizados**. Dissertação de Mestrado, (Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis), Universidade Federal Da Fronteira Sul, 2019.

KEMPF, M. **Nota preliminar sobre os fundos costeiros da região de Itamaracá (Norte do estado de Pernambuco, Brasil)**. Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco 9/11: 95-110. 1969.

KODO FILHO, A. K. **Uso de biomarcadores de contaminação ambiental na avaliação do impacto do vazamento de óleo derivado de petróleo em ecossistemas de água doce**, Dissertação (Programa de PósGraduação em Ecologia e Conservação), Universidade Federal do Paraná, 2006.

KRAUGERUD M.; DOUGHTY R.W.; LYCHE J.L.; BERG V.; TREMOEN N.H.; ALESTRØM P.; ALEKSANDERSEN M.; ROPSTAD E. Natural mixtures of persistent organic pollutants (POPs) suppress ovarian follicle development, liver vitellogenin immunostaining and hepatocyte proliferation in female zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology** 116– 117:16– 23, 2012.

LAN, P. K. S.; GRAY, J. S. Predicting effects of toxic chemicals in the Marine **Environmental Marine Pollution Bulletin**, v. 3, n. 42, p. 169-173, 2001.

LAM, P.K.S. Use of biomarkers in environmental monitoring. **Ocean Coastal Manag.**, v.52, p.348-354, 2009.

LAURENT P.; PERRY S.F. environmental effects on fish gill morphology. **Physiological Biochemistry Zoology**. 64:4-25. 1991.

LEITÃO, S. S; BARBOSA, J. M; CARRARO, F. G. P. CARACTERIZAÇÃO DOS IMPACTOS AMBIENTAIS NA ILHA DE ITAMARACÁ, PERNAMBUCO. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, 2.2: 101-111. 2007.

LAURENT, PIERRE; PERRY, STEVE F. Efeitos ambientais na morfologia das guelras dos peixes. **Physiological Zoology**, v. 64, n. 1, pág. 4-25, 1991.

LASIAK, TA. Structural aspects of the surf-zone fish assemblage at King's beach Algoa Bay, South Africa: long-term fluctuations. **Estuarine, coastal and shelf Science** 18: 459-483. 1984.

Lessa, G. C., Cirano, M., Genz, F., Tanajura, C. A. S., & Silva, R. R. Oceanografia física. **Baía de Todos os Santos: aspectos oceanográficos**. Salvador: EDUFBA, 69-119, 2009.

LANDIS W. G.; YU, MING-HO. Introduction to environmental toxicology impacts of chemicals upon ecological systems. Florida: **Boca Ration**, p. 328. 1995.

LARSEN, Bodil K.; PERKINS, Everett J. Target organ toxicity in the kidney. In: **Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts**. CRC Press, 2017. p. 90-150.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; DA SILVA QUEIROZ, V.; CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, 8(4), 469-484. 2010.

LIRA, L. **Geologia do canal de Santa Cruz e praia submarina adjacente à ilha de Itamaracá-PE.** (Dissertação, Mestrado). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Geociências, 102p. 1975.

LIMA, M. C. B. D. C. Aspectos reprodutivos do peixe traíra, *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae) no Açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil (Bachelor's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2019.

LOUIZ, I.; BEN-ATTIA, M.; BEN-HASSINE, O.K. Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidea, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): Evidence of reproduction disturbance. **Fisheries Research** 100:266–273, 2009.

LUPI, C.; NHACARINI, N. I.; MAZON, A. F.; SÁ, O. R. Avaliação da poluição ambiental através de alterações morfológicas das brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe on line**, Bebedouro, n. 3, Ago. 2007.

LERCARI, D.; DEFEO, O.; CELENTANO, E. Consequences of a freshwater canal discharge on the benthic community and its habitat on an exposed Sandy beach. **Mar. Pollut. Bull.** 44, 1397–1404. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00304-1, 2002.

LARI, E.; ABTAHI, B.; HASHTROUDI, M. S. The effect of the water soluble fraction of crude oil on survival, physiology and behaviour of Caspian roach, *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870). **Aquatic Toxicology**, 170, 330-334, 2016.

KHAN, R. A. Health of flatfish from localities in Placentia Bay, Newfoundland, contaminated with petroleum and PCBs. **Archives of Environmental Contamination and toxicology**, 44(4), 0485-0492, 2003.

KHAN, R.A. Influence of petroleum at a refinery terminal on winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 61: 770-777, 1998.

MARÍN, J.A.; MORENO, J.L.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions. **Biodegradation**, 17:251-261, 2006.

MAZON AF, CERQUEIRA CCC, FERNANDES MN. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish *Prochilodus scrofa*. **Environ Res** ; 88:52-63, 2002.

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

MAGRIS, R. A.; GIARRIZZO, T. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 153(February), 110961. 2020.

MAGALHÃES, K. M.; CARREIRA, R. S.; ROSA FILHO, J. S.; ROCHA, P. P.; SANTANA, F. M.; YOGUI, G. T. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**, 175, 113334. 2022.

MARTY, G.D.; HOFFMANN, A.; OKIHIRO, M.S.; HEPLER, K.; HANES, D. Retrospective analyses: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. **Mar. Environ. Res.** 56, 569–584, 2003.

MLAMBO, S.S.; VUREN, J.H.J, BARNHOORN, I.E.J.; BORNMAN, M.S. Histopathological changes in the reproductive system (ovaries and testes) of *Oreochromis mossambicus* following exposure to DDT. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 28:133–139, 2009.

MAHARAJAN, A.; NARAYANASAMY, Y.; GANAPIRIYA, V.; SHANMUGAVEL, K. Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). **The Journal of Basic & Applied Zoology**, 72, 104–112, 2015.

MARTINS, M. F.; COSTA, P. G.; BIANCHINI, A., Contaminant screening and tissue distribution in the critically endangered Brazilian guitarfish *Pseudobatos horkelii*. **Environmental pollution**. 265(2020) 114923. 2020.

MARTINEZ, C.B.R.; NAGAE, M.Y.; ZAIA, C.T.; ZAIA, D.A. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Braz. J. Biol.**, v.64, p.797-807, 2004.

MARIGÓMEZ, I.; SOTO, M.; CANCIO, I.; ORBEA, A.; GARMENDIA, L.; CAJARAVILLE, P. Cell and tissue biomarkers in mussel, and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). **Marine Pollution Bulletin**, v. 53 p. 287–304, 2006.

MATOS, P.; FOTAÍNHAS-FERNANDES, A.; PEIXOTO, F.; CARROLA, J.; ROCHA, E., Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 89, 73–80, 2007.

MACHADO, L.F. **Utilização do habitat por representantes da família Lutjanidae (Teleostei) nos estados da Paraíba e Bahia**. Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia). Universidade Federal da Paraíba, UFPB, Brasil. 2003.

MANOOCH III, CHARLES S.; DRENNON, CAROLINE L. Idade e crescimento do pargo yellowtail e do peixe-porco-porco-real coletados nas Ilhas Virgens dos Estados Unidos e em Porto Rico. **Pesquisa Pesqueira**, v. 6, n. 1, pág. 53-68, 1987.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Can. Journal Aquatic. Sci.**, v. 42, p. 630-648, 1985.

MARTINEZ, C.B.R.; SOUZA, M. M. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 133 A: 151-160. 2002.

- MARTINEZ, C.B.R.; NAGAE, M.Y.; ZAIA, C.T.B.V.; ZAIA, D.A.M. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Brazilian Journal of Biology**, 64: 797-807, 2004.
- MELO, R.; COSTA, J. J.; OLIVEIRA, A. C. Monitoramento ambiental das Dunas Costeiras no litoral Sul de Sergipe a partir de geoindicadores de vulnerabilidade biofísica. **Ateliê Geográfico**, 2(1), 119-138, 2008.
- MEADOR, J. P.; STEIN, J. E.; REICHET, W. L.; VARANASI, U., Bioaccumulation of polycyclic Aromatic hydrocarbons by marine organisms. **Reviewa of environmental contamination and toxicology**, vol 143. 1995.
- MELETTI, P. C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C. D. R. Avaliação da degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. **Limnologia Fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Paulo: SÃO CARLOS, 149-180, 2003.
- MEDEIROS, L. C. C. **Avaliação ecológica de ambientes costeiros por meio de bioindicadores e biomarcadores**. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas), Universidade Vila Velha. ES. 2016.
- MELA, M.; RANDI, M. A. F.; VENTURA, D. F.; CARVALHO, C. E. V.; PELLETIER, E.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A., Effects of the dietary methylmercury on the liver and kidney histology in the neo tropical fish *Hoplias malabaricus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 68, 426-435, 2007.
- MEDEIROS, C.; KJERFVE, B. Hydrology of a tropical estuarine system: Itamaracá, Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** v36 p495-515. 1993.
- MEYERS, T.R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RAND G.M.; PETROCELLI, S.R. (Ed.) *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Washington, D.C.: **Hemisphere Publishing Corporation**. p.283-331. 1985.
- MOREIRA, C. B. **Avaliação toxicológica da exposição de tainhas *Mugil platanus* à fração solúvel do petróleo em água**. Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2010.
- MCNEIL, D.G.; J. FREDBERG. Environmental Water Requirements of Native Fishes in the Middle River catchment, Kangaroo Island, South Australia. A Report to the SA Department for water. South Australian Research and Development Institute (Aquatic sciences), Adelaide. SARDI Publication No. f 2011/000060-1. **SARDI Research Report Series** No. 528, p 50, 2011.
- NASCIMENTO, N. S. S. D. **Análise integrada em três níveis de organização biológica de brânquias e fígado de bagre *Genidens barbus* provenientes de três estuários do Estado de São Paulo com distintos históricos de ação antrópica**, Disertação (Programa de PósGraduação em Biodiversidade em Ambientes Costeiros), Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista, São Vicente, 2021.

NEVES, R.L.S. **Avaliação da contaminação de óleo no ambiente estuarino da Baía de Guanabara (RJ) pela determinação fluorimétrica de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) na bÍlis de peixes Mugil liza**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 120 p. 2006.

NETO, F. F.; ZANATA, S.M.; SILVA DE ASSIS, H.C.; BUSSOLARO, D.; FERRARO, M.V.M.; RANDI, M.A.F.; COSTA, J.R.M.A.; CESTARI, M.M.; ROCHE, H.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.A., Use of hepatocytes from *Hoplias malabaricus* to characterize the toxicity of a complex mixture of lipophilic halogenated compounds. **Toxicology in Vitro**, v. 21, 706-715, 2007.

NERO, V.; FARWELL, A.; LISTER, A.; VAN DER KRAAK, G.; LEE, L.E.J.; VAN MEER, T.; MACKINNON, M.D.; DIXON, D.G. Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 63, 365-377, 2006.

NOVAES, G. H. C. D. F. **Atuação dos metais cobre e níquel em tecidos de Danio rerio: ênfase para análise de biomarcadores histológicos e histoquímicos da espécie Danio rerio**, Dissertação (programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais) Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho”, Sorocaba, 2019.

ODUM, E. P. Ecologia. 22 ed. Rio de Janeiro: **Editora Guanabara Koogan**, 1988.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**. v. 74, n. 1, p. 53-69. 2005.

OLIVEIRA, S. R. S.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; de ALMEIDA, Z. D. S., DA SILVA CASTRO, J.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Lesões histopatológicas como biomarcadores de contaminação aquática em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes, Cichlidae) de uma área protegida no Maranhão. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, 9(1), 12-26. 2016.

OJHA, J. Fish gills: potential indicators of ecodegradation of aquatic environments. In: MITTAL, A. K.; EDDY, F. B.; DATTAMUNSHI, J. S. (Eds). Water/air transition in biology. E.U.A.: **Science Publishers**, p. 263 – 279, 1999.

OVERSTREET, R. M. Aquatic pollution problems, Southeastern U. S. coasts: histopathological indicators. **Aquatic Toxicology**. v. 11, p. 213 – 239, 1988.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 331 – 347, 2002.

PARKER, G. A. The evolution of sexual size dimorphism in fish. **Journal of Fish Biology**, 41: 1-20. 1992.

PATIN, S. A. **Environmental impact of the offshore oil and gas industry** (Vol. 425). East Nortport, NY: EcoMonitor Pub. 1999.

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

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

PEIXOTO, L. D. S. V. **Efeitos de micropoluentes em fígado de peixes coletados em riachos de bacias que drenam para o reservatório da Itaipu Binacional (Brasil e Paraguai)**, dissertação (Programa de Pós-Graduação Biodiversidade Neotropical, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza), Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2020.

PEREIRA, D. P.; SANTOS, D. M. S.; CARVALHO NETA, A. V.; CRUZ, C. F.; CARVALHO NETA, R. N. F. Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís, MA (Brasil). **Bioscience Journal**, 30(4), 1213-21. 2014.

PEREIRA, H. C. **Avaliação genotóxica e histológica em peixes (hyphessobrycon heterorhabdus) do igarapé Cararazinho expostos ao chorume da lixeira pública de Santarém-PA**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biociências), Universidade Federal do Oeste do Pará, 2019.

PETRY, A.C. **A traíra *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) na planície de inundação do alto rio Paraná: influência sobre as assembleias de peixes e aspectos da auto-ecologia**. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá, 70p, 2005.

PEIXER, J.; PETRERE JR, M. Hook selectivity of the pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) in the Pantanal, the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 67, 339-345. 2007.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; DA COSTA SOARES, S. H.; TORRES, H. S.; DE JESUS, W. B.; DE OLIVEIRA, S. R. S.; BASTOS, W. R.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Sediment contaminant levels and multibiomarker approach to assess the health of catfish *Sciades herzbergii* in a harbor from the northern Brazilian Amazon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 208, 111540, 2021.

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

PINHEIRO-SOUSA, D. B., JUNIOR, A. R. T., SILVA, D., SANTOS, R. L., & NETA, R. N. F. C. 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, 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, p.134-147, 2017.

PRASAD, M. S. Sem study on the effects of crude oil on the gills and airbreathing organs of climbing perch *Anabas testudineus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v.47, p. 882-889. 1991.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. (Ed.). Sblethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: **Fishing News Books**, p.339-352, 1994.

QUALHATO, G.; DE SABÓIA-MORAIS, S. M. T.; SILVA, L. D.; ROCHA, T. L. 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.

RAGUNATHAN, M. G. Vicissitudes of oxidative stress biomarkers in the estuarine crab *Scylla serrata* with reference to dry and wet weather conditions in Ennore estuary, Tamil Nadu, India. **Marine Pollution Bulletin**, v. 116, n. 1–2, p. 113–120, 2017.

RABITTO, I. S.; ALVES COSTA, J. R. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; PELLETIER, É.; AKAISHI, F. M.; ANJOS, A.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopatological and biochemical findings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 60, p. 147-156. 2005.

RATN A.; PRASAD R.; AWASTHI Y.; KUMAR M.; MISRA A.; TRIVEDI SP. Induced molecular responses associated with oxidative stress, DNA damage and histopathological lesions in liver and kidney of the fish, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). **Ecotoxicol Environ Saf.** 151 (2): 10-20. 2018.

RANSINGHA, R. A. T. C. S.; PATHIRATNE, A.; Histological alterations and polycyclic aromatic hydrocarbon exposure indicative bile fluorescence patterns in fishes from Koggala lagoon, Sri Lanka. **Journal of the national Science foundation of sri lanka**, 43 (1): 65-73. 2015.

REDDY, C. M.; NELSON, R. K.; HANKE, U. M.; CUI, X.; SUMMONS, R. E.; VALENTINE, D. L.; RADOVIĆ, J. R. Synergy of Analytical Approaches Enables a Robust Assessment of the Brazil Mystery Oil Spill. **Energy & Fuels**, 36(22), 13688-13704. 2022.

REPULA, C. M. M.; CAMPOS, B. K. D.; GANZAROLLI, E. M.; LOPES, M. C.; QUINÁIA, S. P. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de água doce. **Química Nova**, 35(5), 905-909, 2012.

REZENDE, S. M.; PADOVANI, B. F.; FREDOU, F. A pesca de lutjanídeos no nordeste do Brasil: histórico das pescarias, características das espécies e relevância para o manejo. **Bol. Téc. Cient. CEPENE** 11 56-63. 2003.

RIBEIRO, D.C.J. **Biologia reprodutiva do Pirá (*Conorhynchus conirostris*) Valenciennes, 1840 (Pisces: Pimelodidae) do Rio São Francisco**, região de Pirapora, Minas Gerais. 2005.

RIBEIRO, H. J. **Avaliação histopatológica, molecular e bioquímica do fígado, baço e centros melanomacrofágicos do peixe Teleosteo Prochilodus argenteus como biomarcadores de impacto ambiental no rio São Francisco.** Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

ROBERTSON, A.I.; LENANTON, R.C.J. Fish community structure and food chain dynamics in the surf-zone of sandy beaches: the role of detached macrophyte detritus. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 84: 265-283. 1984.

RODRIGUES, A. S. L.; MALAFAIA, G.; CASTRO, P. T. A. Avaliação ambiental de trechos de rios na região de Ouro Preto-MG através de um protocolo de avaliação rápida. **Revista de estudos ambientais**, v. 10, n. 1, p. 74-83, 2008.

ROBERTS, R.J. **Fish pathology.** London: W.B. Saunders, 472 p, 2001.

SASAKI, Y. F.; IZUMIYAMA, F.; NISHIDATE, F.; ISHIBASHI, S.; TSUDA, S.; MATSUSAKA, N.; ASANO, N.; SAOTOME, K.; SOFUNI, T.; HAYASHI, M. Detection of genotoxicity of polluted sea water using shellfish and the alkaline single-cell gel electrophoresis (SCE) assay: a preliminary study. **Mutation Research**, v.393, p. 133-139, 1997.

ROSSTEUSCHER, S., SCHMIDT-POSTHAUS, H., SCHÄIERS, C., TEIGELER, M., SEGNER, H., Background pathology of the ovary in a laboratory population of zebrafish (*Danio rerio*). **Dis. Aquat. Org.** 79, 169–172.. 2008.

RUTTEN, M. J. M.; KOMEN, H.; BOVENHUIS, H. Longitudinal genetic analysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) body weight using a random regression model. **Aquaculture**, 246: 101-113, 2005.

SANTOS, T.R. M. **análises histopatológicas de tilápias e curimbas expostos aos agrotóxicos nim e iroundup.** Monografia, Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2005.

SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim,** Maranhão. 2010.

SANTOS, D. M. S.; MELO, M. R. S.; MENDES, D. C. S.; ROCHA, I. K. B. S.; SILVA, J. P. L.; CANTANHÊDE, M. C.; MELETTI, P. C. Histological Changes in Gills of Two Fish Species as Indicators of Water Quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, p. 12927-12937, 2014.

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

SANTOS, D. M. S.; CRUZ, C. F.; PEREIRA, D. P.; ALVES, L. M. C.; MORAES, F. R. Qualidade microbiológica da água e histopatologia de brânquias de peixes provenientes de

pisciculturas do município de Itapecuru-Mirim-Maranhão. **Acta Scientiarum Biological Sciences (Online)**, Maringá, v. 34, n. 2, p. 199-205, 2012.

SANTOS, D. R. D. **Uso de biomarcadores na avaliação da resposta de peixes à poluição aquática nos reservatórios do Iraí e Passaúna**. Dissertação do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SANTOS, D. M. S.; MELO, M. R. S.; MENDES, D. C. S.; ROCHA, I. K. B. S.; SILVA, J. P. L.; CANTANHÊDE, M. C.; MELETTI, P. C. Histological Changes in Gills of Two Fish Species as Indicators of Water Quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, p. 12927-12937, 2014.

SANCHEZ-GALAN, S.; LINDE, A. R.; IZQUIERDO, J. I.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E. Micronuclei and fluctuating asymmetry in brown trout (*Salmo trutta*): complementary methods to biomonitor freshwater ecosystems. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 412(3), 219-225, 1998.

SANTANA, M. S.; SEVERI, F.W. Composição e estrutura da assembleia de peixes da zona de arrebentação da praia de Jaguaribe, Itamaracá (PE). **Bioikos**, 2009.

SEGNER, H; Isolation and primary culture of teleost hepatocytes m. review. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120, 71–81.,1998.

SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores de contaminação aquática**. Dissertação de mestrado ao curso de biologia, universidade estadual de londrina, Londrina, 2004.

SILVA, A. G. **Análise de parâmetros morfológicos de curimbas, *Prochilodus lineatus*, submetidos a testes in situ, para o monitoramento ambiental**. Monografia, Bacharel em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina. Londrina. 2001.

SINDERMANN CJ. Pollution-associated diseases and abnormalities of fish and shellfish: A review. **Fish Bull**; 76:717-749, 1979.

SIMONATO, J. D. **Biomarcadores Funcionais e Histológicos Associados à Exposição do Peixe *Prochilodus lineatus* ao Óleo Diesel**. Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em ciências biológicas–Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

SOUZA, J. P.; NASCIMENTO, I. R. M. A., BARROS, M. F. S.; CARVALHO, A.S.; BRITO, P S.; SILVA, Á. P. C.; ALMEIDA, Z. D. S. Ecologia alimentar do robalo *Centropomus undecimalis* Bloch 1792 (Teleostei, Centropomidae) na região costeira do Maranhão. **Research, Society and Development**, 10(9), e52010918194-e52010918194. 2021.

SCHWAIGER, J. Histopathological alterations and parasite infection in fish: indicators of multiple stress factors. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 8, p. 231 – 240, 2001.

SCHWAIGER, J.; K. FENT, H.; STECHER, H.; FERLING.; R.D. NEGELE. Effects of sublethal concentrations of triphenyltriacetate on rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**., 30: 327-334, 1996.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S. et al. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **J. Aquatic Ecosystems**. Stress Recov., v.6, p.75-86, 1997.

SCALON, M. C. S.; RECHENMACHER, C.; SIEBEL, A. M.; KAYSER, M. L.; RODRIGUES, M. T.; MALUF, S. W.; RODRIGUES, M. A. S.; SILVA, L. B. Evaluation of Sinos River water genotoxicity using the comet assay in fish. **Brazilian Journal of Biology**, v 70, n.4, p. 1217- 1222, 2010.

SOARES, M.O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; ROSSI, S., TAVARES, T.; CAVALCANTE, R.M., Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science** 367 (6474), 155. <https://doi.org/10.1126/science.aaz9993>. 2020.

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**, 65: 369-376, 2013.

SILVA, J. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; FORTES, L. F. **Bio-ontologia como suporte ao monitoramento de duas espécies de peixes da Baía de São Marcos, São Luís (MA)**. In: Avaliação ambiental no Complexo Portuário do Itaqui/Zafira da Silva de Almeida, Verônica Maria Oliveira (organizadoras). – São Luís: EDUEMA, p. 254, 2016.

SOARES, S. H. C., SOUSA, D. B. P., JESUS, W. B., & CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) para avaliação de impactos em ambientes estuarinos da Baía de São Marcos, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 72, 1403-1412, 2020.

STAGG, R. M.; RUSIN, J.; BROWN, F. (1992). Na⁺, K⁺-ATPase activity in the gills of the flounder (*Platichthys flesus*) in relation to mercury contamination in the Firth of Forth. **Marine environmental research**, 33(4), 255-266.

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, p.137-159, 2003.

SILVA, C. A.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A.; KATSUMITI, A.; ARAÚJO, M. L.; ZANDONÁ, E. M.; COSTA-SILVA, G. P.; MASCHIO, J.; ROCHE, H. & ASSIS, H. C. S. Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 72(2): 400-409, 2009.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Histologia**. São Paulo: Manole Ltda, 1995.

STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P., JONES, G.; GREEN, M., FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**. v. 55, n. 2, p. 137-159. 2003.

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

TRAMUJAS, F. F. **Avaliação de efeitos reprodutivos de doses subletais de deltametrina em peixe-zebra (*Danio rerio*)**. Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2005.

TEH, S. J.; ADAMS, S. M.; HINTON, D. E. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquatic Toxicology**, v. 37, p. 51-70, 1997.

TIBURTIUS, E.R.L.; PERALTA-ZAMORA, P.; EMMET, A.; LEAL, E.S. Degradação de BTXs via processos oxidativos avançados. **Química Nova**, 2005; 28: 61-64.
KHAN, R.A. Influence of petroleum at a refinery terminal on winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 61: 770-777. 1998.

TORRES, H. S. **Biomarcadores histopatológicos em duas espécies de bagres (pisces, ariidae) de importância econômica na baía de são marcos, maranhão**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca), Universidade Estadual do Maranhão. 2015.

TRIEBSKORN, R., TELCEAN, I., CASPER, H. ET AL. Monitoring pollution in River Mureş, Romania, part II: Metal accumulation and histopathology in fish. **Environmental Monitoring and Assessment**, 141: 177–188, 2008.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**. v. 121, p. 307 – 320, 2003.

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

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

VAN DYK, J. C.; PIETERSE, G. M.; VAN VUREN, J. H. J. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, n. 3, p. 432-440, 2007.

VAN DYK, J.C.; PIETERSE, G. M.; VAN VUREN, J. H. J., Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, 432-440, 2006.

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

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

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

VIANA, T. M. A.; DE OLIVEIRA, S. R. S.; TORRES, H. S., DE JESUS, W. B., TEIXEIRA, A. F.; NETA, R. N. F. C. Biomarcadores histológicos em brânquias e fígados de *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) em uma área portuária e em uma de proteção ambiental—MA, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, 7(4), 41047-41065, 2021.

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

WANG, D.; SINGHASEMANON, N.; GOH, K. S. A statistical assessment of pesticide pollution in surfasse Waters using environmental monitoring data: chlorpyritosin Central Valley, California. **Science of the Total Environment**, v. 571: p. 332 – 341, 2016.

WENDELAAR BONGA, S. E. "The stress response in fish." **Physiological Reviews**. 77(3): 591-625. 1997.

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

WINZER, K.; WINSTON, G.W.; BECKER, W.; VAN NOORDEN, C.J.F. & KOCHER, A. Sex-related responses to oxidative stress in primary cultured hepatocytes of European fl ounder (*Platichthys fl esus* L.). **Aquatic Toxicology**, 52: 143–155. 2001.

WOLF, J. C.; WOLFE, M. J. (2005). A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. **Toxicologic pathology**, 33(1), 75-85.

WOLF J.C.; BAUMGARTNER W.A.; BLAZER V.S.; CAMUS A.C.; ENGELHARDT J.A.; FOURNIE J.W.; LAW J.M. Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. **Toxicol Pathol**. 2015.

YASSER, A. G.; NASER, M. D. Impact of pollutants on fish collected from different parts of Shatt Al-Arab River: a histopathological study. **Environmental monitoring and assessment**, 181(1), 175-182, 2011.

ZANG, J.F.; SHEN, H.; XU, T.L.; WANG, X.R.; LI, W.M.; GU, Y.F. Effects of long-term exposure of low-level diesel oil on the antioxidant defense system of fish. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 71: 234-239. 2003.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? **Toxicology**, v. 129, n. 1, p. 63-71, 1998.