

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

GERSON DOS SANTOS PROTAZIO

BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*  
(CRUSTACEA, DECAPODA) INDICATIVOS DE IMPACTOS EM ÁREAS  
PORTUÁRIAS E DE MANGUEZAIS DA ILHA DO MARANHÃO

São Luís, MA

2020

GERSON DOS SANTOS PROTAZIO

BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*  
(CRUSTACEA, DECAPODA) INDICATIVOS DE IMPACTOS EM ÁREAS  
PORTUÁRIAS E DE MANGUEZAIS DA ILHA DO MARANHÃO

Dissertação apresentado ao Programa de  
Pós-Graduação em OCEANOGRAFIA/  
UFMA como requisito à obtenção do  
título de Mestre em Oceanografia.

Orientador (a): Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta  
Linha de pesquisa: Biodiversidade e Ecologia de Ecossistemas Aquáticos

São Luís, MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Protazio, Gerson dos Santos.

Biomarcadores genotóxicos e histológicos em *Ucides cordatus* Crustacea, Decapoda indicativos de impactos em áreas portuárias e de manguezais da Ilha do Maranhão / Gerson dos Santos Protazio. - 2020.

43 f.

Orientador(a): Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Oceanografia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2020.

1. Biometria. 2. Hemolinfa. 3. Manguezal. 4. Micronúcleo. 5. Porto. I. Carvalho Neta, Raimunda Nonata Fortes. II. Título.

GERSON DOS SANTOS PROTAZIO

BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*  
(CRUSTACEA, DECAPODA) INDICATIVOS DE IMPACTOS EM ÁREAS  
PORTUÁRIAS E DE MANGUEZAIS DA ILHA DO MARANHÃO

Dissertação apresentado ao Programa de  
Pós-Graduação em OCEANOGRAFIA/  
UFMA como requisito à obtenção do  
título de Mestre em Oceanografia.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Audalio Rebelo Torres Junior  
(UFMA)

---

Profª. Dra. Débora Martins Silva Santos  
(UEMA)

## AGRADECIMENTOS

A professora Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta, por ter me dado essa oportunidade de vivenciar essa experiência e por todas as suas contribuições e apoio nesse projeto que deu seu primeiro passo.

Ao grupo de professores do Mestrado em Oceanografia, pelas trocas de conhecimentos e experiências em sala de aula.

Ao Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia e Monitoramento de Ambientes Aquáticos (GPEMAAq) e ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos, pelo auxílio nas atividades de campo e pelas contribuições, que me ajudaram muito a crescer em conhecimentos. As pessoas que se envolveram com esse projeto, principalmente a Luane Pereira, amiga e parceira desde a graduação, Suelen Sampaio, Wanda Batista e Deranilde, meu muitíssimo obrigado.

E a minha família por me apoiar sempre em minhas lutas e conquistas!  
Amo muito vocês!

## RESUMO

Os ambientes litorâneos sofrem grande influência humana em decorrência de atividades econômicas como as indústrias, portos, mineradoras e por descargas de efluentes industriais e domésticos não tratados que podem ser prejudiciais aos organismos aquáticos residentes desses ambientes. Os biomarcadores são capazes de diagnosticar a sanidade dos organismos nessas áreas de alta atividade econômica como o complexo industrial e portuário de São Luís permitindo medidas mitigadoras no biomonitoramento desses locais. No presente estudo objetivou-se avaliar os danos genotóxicos e histológicos em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), que indicam possíveis impactos em uma área industrial portuária de São Luís. Foram realizadas duas coletas semestrais nos períodos de estiagem e chuvoso em duas áreas de manguezais (P1= região portuária, São Luís; P2 = estuário do rio Paciência, Raposa). Em cada área foram coletados dez exemplares de caranguejos de dentro de suas tocas. De cada exemplar amostrado foram obtidos os dados biométricos de largura e comprimento da carapaça (LC, CC em cm), largura e comprimento da quela (LCQ, CPQ em cm), comprimento do dedo móvel (CDM em cm) e peso total (PT em g). Amostras de brânquias e hemolinfa de cada exemplar passaram por procedimento da técnica histológica padrão e por procedimentos de esfregaço para o teste de micronúcleo. Paralelamente às coletas, foram medidos os parâmetros físico-químicos da água. Os resultados mostraram que a salinidade foi menor para a região portuária (P1) no período chuvoso. A biometria indicou que os caranguejos foram maiores e mais pesados para a estação chuvosa nas duas áreas, havendo diferença ( $p < 0,05$ ) em relação ao período de estiagem. As análises de correlação entre os parâmetros biométricos (PT, CC e LC) mostraram diferença ( $p < 0,05$ ) para a região portuária no período chuvoso em relação ao comprimento dos crustáceos. Na região portuária foram encontrados caranguejos com uma maior frequência de micronúcleos e maior número de lesões branquiais. As respostas biológicas alteradas (micronúcleo e lesões branquiais) correlacionada com a biometria sugerem que os efeitos adversos nesses organismos são potencializados no período chuvoso que ocorrem na região portuária de São Luís.

Palavras-chave: Micronúcleo. Biometria. Hemolinfa. Porto. Manguezal.

## ABSTRACT

Coastal environments are strongly influenced by economic activities such as industries, ports, mining companies and untreated domestic and industrial effluent discharges that can be harmful to aquatic organisms that reside in these environments. Biomarkers are able to diagnose the health of organisms in these areas of high economic activity such as the industrial and port complex of São Luís, allowing mitigating measures in the biomonitoring of these places. This study aimed to evaluate the genotoxic and histological damage in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), indicative of anthropic impacts in a port and mangrove area of the Maranhão Island. Two semi-annual collections were carried out in periods of drought and rain in two mangrove areas (P1 = port region, São Luís; P2 = Rio Paciência Estuary, Raposa). Ten specimens of crabs were collected from inside their dens. For each specimen sampled, the biometric data of bag width and length (LC, DC in cm), width and length of the pack (LCQ, CPQ in cm), length of the movable finger (CDM in cm) and total weight (PT in g) were obtained. Gills and hemolymph samples from each specimen were subjected to standard histological technique and smear procedures for the micronucleus test. Parallel to the collections, the physical-chemical parameters of the water were measured. The results showed that the salinity was lower for the port region (P1) in the rainy season. Biometrics indicated that the crabs were larger and heavier for the rainy season in both areas, with a difference ( $p < 0.05$ ) in relation to the dry season. The correlation analyzes between the biometric parameters (PT, CC and LC) showed a difference ( $p < 0.05$ ) for the port region in the rainy season in relation to the length of the crustaceans. Crabs with a higher frequency of micronuclei and a greater number of branchial lesions were found in the port region. The correlation of altered biological responses (micronuclei and branchial lesions) with biometrics suggests that the adverse effects on these organisms are intensified in the rainy season that occurs in the São Luís port region.

Keywords: Micronucleus. Biometrics. Hemolymph. Port. Mangrove.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização das áreas de coletas na ilha de São Luís na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) .....	16
Figura 2 – Exemplar de caranguejo <i>Ucides cordatus</i> .....	17
Figura 3 – Médias e desvio padrão da genotoxicidade dos dados de micronúcleo (MN%) para espécimes de <i>U. cordatus</i> capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação (estação de estiagem e chuvosa) .....	22
Figura 4 – Anormalidades morfológicas nucleares dos hemócitos na hemolinfa de <i>U. cordatus</i> . Aumento de x1000 .....	23
Figura 5 - Percentuais de lesões branquiais dos caranguejos ( <i>U. cordatus</i> ) capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa. N=40 .....	25
Figura 6 – Lesões branquiais encontradas nos caranguejos capturados na ilha de São Luís .....	26
Figura 7 - Índice de Bray-Curtis das alterações branquiais. A) Zona portuária B) estuário do rio Paciência .....	27



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Dados abióticos da água das duas áreas de coletas de *U. cordatus* nos períodos de estiagem e chuvoso na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) .....20
- Tabela 2 – Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados biométricos de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação (estação estiagem e chuvosa) .....21
- Tabela 3 – Valores da genotoxicidade (MN‰) para os espécimes de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2).  $p > 0,05$  .....23
- Tabela 4 - Correlação linear entre os dados de micronúcleo (MN) e os dados biométricos (PT, CC e LC) de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa .....28
- Tabela 5 – Correlação linear entre os dados de lesões branquiais (DCM, RCP, CL) e os dados biométricos (PT, CC e LC) de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa .....28

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVOS .....	14
2.1 Geral .....	14
2.2 Específicos .....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1 Área de estudo .....	14
3.2 Táxon <i>Ucides cordatus</i> .....	16
3.3 Obtenção das amostras .....	18
3.4 Análise biométrica .....	18
3.5 Análise genotóxica .....	18
3.6 Análise histológica .....	19
3.7 Tratamento estatístico dos dados .....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Dados físico-químicos da água e biometria dos caranguejos .....	20
4.2 Análise genotóxica - Teste de micronúcleo (MN‰) .....	22
4.3 Análise histológica (lesões em brânquias) .....	25
4.4 Relações de parâmetros biométricos dos caranguejos e biomarcadores .....	28
5. CONCLUSÃO .....	30
REFERÊNCIAS .....	31

## 1. INTRODUÇÃO

Os ambientes costeiros têm sofrido grande influência de impactos antropogênicos em função de desmatamentos, uso inadequado do solo, sobre-exploração de recursos pesqueiros, introdução de espécies exóticas, atividades mineradoras e, principalmente, por despejos de efluentes domésticos e industriais não tratados (DUARTE et al., 2016; FERREIRA; LACERDA, 2016; NGUYEN et al., 2013; CESAR et al., 2012).

A faixa litorânea do Brasil é uma região onde muitos empreendimentos (por exemplo, portos, mineradoras e muitas outras indústrias) se instalam devido as condições favoráveis para a movimentação de navios de grande porte (RAGUNATHAN, 2017). Esses empreendimentos em regiões costeiras geram possíveis contaminantes químicos que são deletérios aos organismos aquáticos (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). O complexo industrial portuário localizado no complexo estuarino de São Marcos na ilha de São Luís, é um importante empreendimento nas movimentações de cargas para o país e o mundo, e gera impactos em suas atividades que não são favoráveis ao meio ambiente e à biota aquática (OLIVEIRA, 2018; CARVALHO-NETA et al., 2012; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010 e 2013).

Nos sistemas estuarinos, os manguezais ocupam uma extensa área sendo considerado um importante ecossistema (DAVANSO et al., 2013), que oferecem condições propícias a alimentação e reprodução de muitas espécies, desempenhando um importante papel ecológico como berçário natural (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2016). A presença de contaminantes nesses ambientes está relacionada aos processos naturais, tais como o intemperismo das rochas e o carreamento de solos, além dos processos artificiais, os quais estão associados aos resíduos das atividades antrópicas. Os efeitos de xenobióticos sobre a biota aquática podem ser de caráter mais significativo em ecossistemas que apresentam sedimentos finos, como os manguezais, que apesar de sua proteção legal, correspondem a um dos ecossistemas mais ameaçados (SOUZA et al., 2018; BAYEN, 2012).

Os contaminantes podem produzir alterações nos níveis bioquímicos e fisiológicos na biota, que podem ser quantificadas por índices estressores (ou biomarcadores) permitindo uma avaliação ambiental dos riscos encontrados (JEROME et al., 2017; RAGUNATHAN, 2017). Entre os diversos tipos de substâncias potencialmente tóxicas com maior toxicidade e persistência, lançados em corpos hídricos

receptores, estão os metais como exemplo, cuja origem pode ser natural ou artificial (CESAR et al., 2012).

Estudos que envolvem biomarcadores na predição de impactos ambientais devem considerar as diferenças sazonais, no Brasil, por exemplo, delimitadas principalmente por diferentes níveis de pluviosidade (período chuvoso e de estiagem) quanto aos parâmetros abióticos (por exemplo, salinidade, temperatura, pH da água, etc.), pois a ação combinada destes parâmetros contribuem no comportamento dos diversos poluentes criando diversas situações de contaminação por diferentes vias de entrada desses xenobióticos nos organismos (AZEVEDO; BRAGA, 2011; SOUZA, 2016). No ambiente aquático, dependendo da concentração, a presença de alguns contaminantes na água preocupa pela mobilidade, no sedimento pela persistência e na biota pela biodisponibilidade e toxicidade (DUARTE et al., 2014; PINHEIRO; TOLEDO, 2010; VILHENA et al., 2013) o que facilita a dispersão dos poluentes em diferentes populações de organismos residentes como nos manguezais.

Existem táxons, cuja espécies são mais sensíveis aos agentes tóxicos presentes no ambiente que permitem mostrar diversas alterações bioquímicas, genéticas e morfológicas em diferentes tecidos (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013; PINHEIRO et al., 2012). Os efeitos negativos dos poluentes nos organismos são identificados por danos subletais em nível bioquímico, genético, celular, histológico, fisiológico, imunológico, reprodutivo e comportamental (PEREIRA et al., 2014; AMIARD-TRIQUET; AMIARD, 2013; PINHEIRO et al., 2013).

Os invertebrados têm sido muito utilizados para a avaliação ambiental, visto que são os principais componentes em todos os ecossistemas e, por causa da população geralmente numerosa, podem ser amostrados para análises com poucos danos à dinâmica populacional (AMIARD-TRIQUET et al., 2013). Os crustáceos são considerados bioacumuladores de metais e através da matéria orgânica absorvem substâncias tóxicas, o que lhes conferem características de organismos resistentes à toxicidade, podendo ser utilizados no diagnóstico de qualidade ambiental (ZHU et al., 2018; MAHARAJAN et al., 2015; NEGRO, 2015; PINHEIRO et al., 2013; NUDI et al., 2010). Esses organismos que são capazes de responder aos estresses ambientais são consideradas “sentinelas” por revelarem precocemente a presença e toxicidade de contaminantes inseridos nos ambientes naturais (PEREIRA et al., 2014; BRIGITTE, 2013; BELTRAME et al., 2011).

O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), é uma espécie endêmica de manguezais sendo utilizado como biomonitor de manguezais brasileiros, devido ao acúmulo de muitos contaminantes em seus tecidos provenientes do ambiente no qual estão inseridos (DUARTE et al., 2016; PINHEIRO et al., 2013). Os efeitos dos xenobióticos nesses crustáceos ocorrem inicialmente em processos bioquímicos e moleculares da célula, podendo alterar funções metabólicas dos organismos expostos (RAINBOW, 2007; PINHEIRO, et al., 2013).

O uso de vários tipos de biomarcadores é promissor na detecção inicial de efeitos adversos causados por poluentes aos organismos (AMIARD-TRIQUET et al., 2011, 2013; AMIARD-TRIQUET; AMIARD, 2013; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013). Assim, ao utilizar respostas de organismos aos xenobióticos, o seu uso no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos assume um papel fundamental, possibilitando um diagnóstico prévio da qualidade ambiental (OLIVEIRA, 2018; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013; FREIRE et al., 2008). Portanto, o desenvolvimento e a padronização de metodologias capazes de prever os efeitos da contaminação nos organismos em diferentes biomarcadores são fundamentais para subsidiar ações de monitoramento e gestão (CARVALHO-NETA et al., 2014; CARVALHO-NETA, 2010), na prevenção de impactos em áreas portuárias e de manguezais na ilha de São Luís.

A espécie *U. cordatus*, destaca-se como um dos recursos pesqueiros mais explorados no país (SOUZA et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2017) e seu consumo faz parte da gastronomia e cultura do litoral brasileiro. A sobre-exploração desse recurso fez com que fosse classificada na categoria de “Quase Ameaçada” (NT) em território brasileiro (PINHEIRO et al., 2016). O uso desse crustáceo em estudos de monitoramento ambiental consta com registros de malformações na estrutura corporal (PINHEIRO; TOLEDO, 2010), anomalias genéticas detectáveis por alta frequência de micronúcleos (DUARTE et al., 2016; PINHEIRO et al., 2013), acúmulo de metais na musculatura, brânquias e hepatopâncreas (ARAÚJO-JR et al., 2016; PINHEIRO et al., 2012), assim como na massa de ovos das fêmeas (ALMEIDA et al., 2016).

Os biomarcadores histológicos, como lesões branquiais, mensuram danos nos níveis teciduais, ocasionados pelo contato direto com substâncias estranhas (OLIVEIRA, 2018). Por outro lado, estudos sobre os biomarcadores genotóxicos (micronúcleo) demonstraram danos genéticos nas células (cromossomos e DNA)

evidenciados em ambientes costeiros ocasionados pela exposição de xenobióticos principalmente os metais (BACOLOD et al., 2017; MARCHAND et al., 2013).

Esses biomarcadores são bastante utilizados no monitoramento de regiões de impactos antrópicos com por exemplo em zonas portuárias (ANDRADE, 2016; DUARTE et al., 2016; CARVALHO-NETA, 2010). Portanto, pesquisas de biomarcadores genotóxicos e histológicos em *U. cordatus* podem diagnosticar a situação da qualidade ambiental estuarina em estudos de biomonitoramento em diferentes manguezais da ilha de São Luís (SOUZA et al., 2018; ANDRADE, 2016; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013; PINHEIRO et al., 2013; CARVALHO-NETA et al., 2011). Nesse contexto, o presente trabalho visou responder o seguinte questionamento: Os crustáceos da espécie *Ucides cordatus* são organismos afetados por substâncias xenobióticas na região industrial portuária ao longo das estações de estiagem e chuvosa na ilha de São Luís?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

- Avaliar os danos genotóxicos e histológicos em *Ucides cordatus*, que indicam possíveis impactos em uma área industrial portuária da ilha de São Luís.

### **2.2 Específicos**

- Analisar a biometria do crustáceo *U. cordatus* nas áreas de estudo (zona portuária e estuário do rio Paciência);
- Quantificar as lesões de brânquias e os danos genotóxicos (micronúcleo) nos caranguejos em cada época do ano;
- Identificar quais os grupos correlacionados de lesões branquiais em cada área de estudo;
- Correlacionar os parâmetros biométricos, micronúcleos e histológicos nos diferentes períodos do ano em cada área de estudo.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Área de estudo**

A ilha do Maranhão também conhecida como ilha de São Luís, está inserida no Golfão Maranhense situado no extremo norte do Estado, separando os Complexos Estuarinos de São Marcos - CESH e Arraial/São José - CASJ (SANTOS, 2018; SOUZA-FILHO, 2005; REBELO-MOCHEL, 1997) onde a área de estudo localiza-se em manguezais sujeitos a influência de atividades portuárias, assim como os manguezais na região estuarina do rio Paciência, essas áreas são de grande importância econômica no Maranhão.

Na costa ocidental da ilha no complexo estuarino de São de Marcos deságuam os rios Mearim e Pindaré (SOUSA, 2009; FEITOSA, 1983). É um ambiente caracterizado por possuir um “canal central bem desenvolvido, abrindo-se largamente sobre a plataforma continental maranhense e, muitos dos seus atributos físicos e biológicos mais importantes, contudo, não são transicionais e sim exclusivos” (SÁ, 2014). É um importante local de pesca, além de estar situado o Complexo Portuário de Ponta da Madeira, Vale S. A., Porto do Itaqui, EMAP - Empresa Maranhense de Administração Portuária e o Porto da Alumar/ALCOA havendo um grande tráfego de navios cargueiros transportando minérios de ferro, manganês, alumínio, além de grãos como a soja e derivados do petróleo, sendo responsáveis pela movimentação de cargas para o Brasil e para o exterior (SANTOS, 2018; ANTAQ, 2016; SOUSA, 2009). Nesta região, pesquisadores documentaram impactos sobre as espécies (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013; CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012).

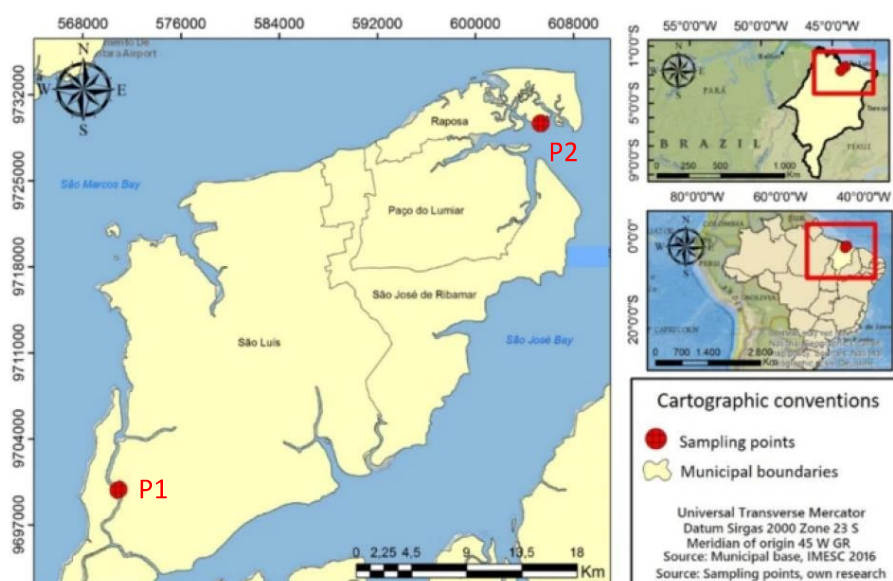
Na porção nordeste da ilha de São Luís está localizado o estuário do rio Paciência formado pelas águas do rio Paciência e pelas massas de águas salgada adjacentes da baía de Arraial/São José. Essa região é considerada importante para a atividade pesqueira e livre de empreendimentos portuários com movimentação de cargas (OLIVEIRA, 2018; CASTRO, 2001).

Os caranguejos foram coletados nos manguezais adjacentes próximos a portos (ANDRADE, 2016). A primeira área de coleta situa-se na zona portuária (P1) localizada nas seguintes coordenadas 2°42'57.3"S 44°21'43.4"W. Estar próximo a comunidade de Coqueiro e ao porto da Alumar/ALCOA no município de São Luís. Possuindo empreendimentos que impactam a região afetando as comunidades que habitam em seu entorno sendo considerada como área potencialmente impactada.

A segunda área de coleta localiza-se no estuário do rio Paciência (P2) nas seguintes coordenadas 2°26'37.8"S 44°03'39.6"W. É uma região localizada na ilha do Facão, município de Raposa e apresenta um ecossistema de manguezais ricos em fauna e

flora tendo apenas a atividade de pesca artesanal dos moradores adjacentes a ilha (MONTELLES et al., 2009). Não há grandes instalações portuárias ou residências na ilha, portanto foi utilizada como área potencialmente menos impactada neste estudo apesar de possuir evidências de contaminantes provenientes da bacia de drenagem na região (OLIVEIRA, 2018). As áreas de estudos podem ser visualizadas na Figura 1.

Figura 1 - Localização das áreas de coletas na ilha de São Luís na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2).



Fonte: OLIVEIRA et. al., (2019), adaptado por PROTAZIO (2020).

### 3.2 Taxon *Ucides cordatus*

Conhecido popularmente como caranguejo-uçá (Figura 2), o crustáceo é um organismo semiterrestre, exclusivo de manguezais, com ampla distribuição no Atlântico Ocidental (Flórida nos EUA, México e Antilhas), costa norte e leste da América do Sul onde no Brasil sua distribuição é relatada do Amapá até o estado de Santa Catarina (MELO, 1996). Esta espécie já esteve integrada na família Ucididae, composta por um único gênero representado por duas espécies: *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) e *Ucides occidentalis* (Ortmann, 1987) (NG et al., 2008; ŠTEVČIĆ, 2005). Porém, realocada na família Ocypodidae, subfamília Ucidinae através de análises de relações filogenéticas (SHIH et al., 2016).

O *U. cordatus* é um forte caranguejo osmótico regulador (eurialino) encontrado em áreas de mangue, onde existe flutuações na salinidade, possuindo



diferenças morfológicas e fisiológicas em suas brânquias que permite a sobrevivência nesses ambientes (BERSANETTI et al., 2015).

Este crustáceo é um componente central da macrofauna bentônica (ALVES; NISHIDA, 2004) e um recurso vital da pesca para os pescadores artesanais (RODRIGUES et al., 2000) sendo a sua exploração uma das atividades extrativistas mais antigas em áreas litorâneas, principalmente no litoral nordeste do Brasil (ALENCAR et al., 2014) gerando emprego, renda e subsistência às comunidades pesqueiras (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001). A espécie consta na categoria de ‘Quase Ameaçada’ (NT) (PINHEIRO et al., 2016), e devido à sua importância econômica e ecológica, consta no Anexo II da Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004 (BRASIL, 2004).

A espécie é responsável pela degradação de boa parte da matéria vegetal senescente (folhas e propágulos) disponível sobre o sedimento e sua transformação em matéria orgânica particulada (CHRISTOFOLETTI et al., 2013; NORDHAUS et al., 2009; SCHORIES et al., 2003). Devido à baixa taxa de crescimento e longo ciclo de vida (PINHEIRO et al., 2005), são organismos abundantes e fáceis de capturar no campo (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001) sendo classificados como um importante bioindicador de contaminação (PINHEIRO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2016). Portanto, este organismo é especialmente apropriado para uso em estudos de impacto ambiental de poluentes (JESUS et al., 2003; NUDI et al., 2007; PINHEIRO et al., 2013), principalmente em áreas de atividades econômicas que geram resíduos como a zona portuária de São Luís.

Figura 2 – Exemplar de caranguejo *Ucides cordatus*.



Fonte: Arquivo pessoal

### **3.3 Obtenção das amostras**

Foram realizadas duas coletas semestrais nos períodos de estiagem (setembro e outubro/ 2019) e chuvoso (dezembro/2019) onde os espécimes foram coletados pela técnica de braceamento com apoio de pescadores artesanais nas duas áreas de manguezais P1 (Coqueiro, região portuária de São Luís) e P2 (ilha do Facão, estuário do rio Paciência, Raposa) registrando pH, temperatura, DO (oxigênio dissolvido) e salinidade com auxílio do equipamento multiparâmetro de marca AK88.

Para fins de padronização, foram coletados 10 exemplares de caranguejos machos em cada área de estudo nas épocas do ano totalizando 40 indivíduos adultos em intermuda, evitando quaisquer efeitos da fase de muda e sexo (PINHEIRO et al., 2012). Em seguida transportados ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos da Universidade Estadual do Maranhão – LABOAq/UEMA. Em laboratório foi realizado o esfregaço da hemolinfa para análise do teste de micronúcleo. Posteriormente, procedeu-se à dissecação com tesouras esterilizadas e pinças para remoção de amostras de brânquias de cada exemplar para análises histológicas. As amostras foram fixadas em solução de Davidson durante 24 horas e logo após lavadas e conservadas em álcool 70% até o procedimento histológico.

### **3.4 Análise biométrica**

Em laboratório com auxílio de um paquímetro de precisão 0,1 cm foram anotados os dados biométricos, tais como largura (LC) e comprimento da carapaça (CC), comprimento e largura do própodo quelar (CPQ) e comprimento do dedo móvel (CDM). Cada espécime de caranguejos-uçá foi pesado em uma balança de precisão 0,1g para o peso total (PT). Em seguida foram anotados os dados biométricos para análises estatísticas (PINHEIRO; FISCARELLI, 2001).

### **3.5 Análise genotóxica**

A amostra de hemolinfa foi retirada de cada caranguejo com auxílio de seringas hipodérmicas (1 mL) munidas de agulha 21-gauge evitando danos aos hemócitos (NUDI et al., 2010). Cada lâmina de microscopia (n=2) recebeu uma gota de hemolinfa com posterior esfregaço, conforme o método descrito por Pinheiro et. al., (2013). As lâminas foram secas ao ar (20 min) e fixados em solução Carnoy (metanol/ ácido acético 3:1) por 20 min, e em seguida, corados com solução Giemsa a 2% em tampão fosfato (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 8,0) por tempo igual. Segundo este ensaio, considera-se uma

resposta significativa a xenobióticos quando a média das frequências das células micronucleadas supera 4 MN‰ (FOSSI et al., 2000; SCARPATO et al., 1990), sendo empregado com sucesso para a espécie *Ucides cordatus* (DUARTE et al., 2016; PINHEIRO et al., 2013; NUDI et al., 2010). Para identificar o número de células micronucleadas por 1000 células analisadas (MN‰), as lâminas foram observadas em microscópio óptico Zeiss® (1.000x) com notas das formações nucleares atendendo às características propostas por Countryman e Heddle (1976) e possíveis anomalias nucleares.

Os valores que mensuram o impacto genotóxico nos caranguejos foram indicados com MN‰, conforme Duarte et al., (2016) na classificação de áreas com diferentes graus de impacto/conservação, sendo médias classificadas <3 MN‰ = área “sem impacto”; entre 3-5 MN‰ = “baixo impacto”; e >5 MN‰ = “alto impacto”.

### **3.6 Análise histológica**

Para a análise histológica, os tecidos das amostras de brânquias foram desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Para confecção das lâminas foram realizados cortes transversais, de aproximadamente 5µm de espessura e em seguida corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Em microscópio óptico, as lamelas das brânquias foram contabilizadas identificando cada alteração morfológica com base em Bernet et al., (1999) "modificado", Maharajan et al., (2015), Negro (2015), Vasanthi et al., (2012), e efeitos histopatológicos conforme Rebelo et al., (2000).

### **3.7 Tratamento estatístico dos dados**

Foram estimadas médias e desvio-padrão dos biomarcadores utilizados. Para determinar a normalidade dos dados, o teste de Shapiro-Wilk (W) foi utilizado, assim com o  $p < 0,05$ , os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Mann-Whitney (U) para confrontar as diferenças entre as áreas e períodos do ano. A correlação de Pearson foi realizada entre os dados biométricos, micronúcleos e histológicos. Os testes estatísticos foram realizados no Statistica 10.0. E, os dados histológicos foram submetidos à análise multivariada de Bray-Curtis para verificação de dissimilaridade entre as lesões branquiais encontradas por área utilizando o programa estatístico PAST 4.03.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Dados físico-químicos da água e biometria dos caranguejos

Os valores dos parâmetros abióticos da água estão representados na Tabela 1 e estão dentro dos valores indicados pela Resolução Conama para águas salobras classe 3 (BRASIL, 2005; 2011).

Tabela 1- Dados abióticos da água das duas áreas de coletas de *U. cordatus* nos períodos de estiagem e chuvoso na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2).

Parâmetros	Estiagem		Chuvoso		CONAMA*
	P1	P2	P1	P2	
pH	7,66	7,59	7,51	7,42	5 e 9
DO	4,2	4,9	5,3	5,8	3>mg/L
Temperatura (°C)	29,1	31,2	29,1	30,8	28 e 32 °C
Salinidade (ppm)	25	26	23	24	0,5 e 30‰

Legenda: pH, potencial hidrogeniônico; DO, oxigênio dissolvido; °C, celsius; ppm, partes por milhão; mg/L, miligramas por litro; \* Valores de referência da Resolução CONAMA n°357/2005.

Os dados de temperatura e o pH não apresentaram grandes variações na região portuária segundo os mesmos trabalhos realizados na região (JESUS et al., 2020; CUTRIM et al., 2016; SOUSA et al., 2016, 2013; CARVALHO-NETA et al., 2012). A salinidade nas duas áreas foi aproximada, sendo menor no período chuvoso. Essa variação na salinidade pode estar relacionada com as águas advindas da pluviosidade na região portuária no período das chuvas. Segundo Carvalho-Neta et al., (2016), o período chuvoso caracteriza-se pela salinidade ser mais baixa, onde os aportes de diferentes tipos de água contribuem para as diferenças desse parâmetro na região. A temperatura é um fator importante para o desenvolvimento das populações dos caranguejos nos ambientes estuarinos (OLIVEIRA, 2018), em contrapartida o pH e salinidade atuam como barreira ou contribuem para a toxicidade de alguns poluentes, a ação e combinação destes parâmetros criam situações diversas de contaminação pelas distintas vias de entrada de xenobióticos nos organismos aquáticos (TRÍDICO et al., 2010; SOUZA, 2016).

As médias e desvios padrão das medidas biométricas de *U. cordatus* coletados nas duas áreas em dois períodos (chuvoso e estiagem) estão apresentadas na

Tabela 2. Os caranguejos apresentaram maiores médias de peso e tamanho na estação chuvosa nas áreas P1 (zona portuária) e P2 (estuário do rio Paciência), apresentando diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao período seco. Os caranguejos da área menos impactada (P2) apresentaram medidas altas para época chuvosa nesse estudo o que indica um bom estado de sanidade para os caranguejos. De acordo com a literatura (CARVALHO-NETA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2019) os dados biométricos dos caranguejos da espécie *U. cordatus* são significativamente maiores em áreas menos impactadas como a região da ilha do Facão no município de Raposa quando comparados com aqueles de áreas impactadas como a região de zona portuária.

Tabela 2 – Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados biométricos de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação (estação estiagem e chuvosa).

Parâmetros	Estiagem				Chuvoso			
	P1		P2		P1		P2	
	x±s	CV (%)	x±s	CV (%)	x±s	CV (%)	x±s	CV (%)
PT	108±8,16	7,56	92±21,17	23,01	115,8±15,35*	13,26	164,8±28,66*	17,39
LC	6,4±0,27*	4,29	5,76±0,45*	7,73	6,03±1,30*	21,62	7,04±0,56*	7,96
CC	4,55±0,22*	4,89	4,2±0,29*	6,92	4,75±0,33*	6,96	5,32±0,30*	5,59
CPQ	5,81±0,81*	13,97	4,71±0,92*	19,47	5,7±0,91*	15,97	6,74±0,86*	12,73
LPQ	2,44±0,25	10,44	2,18±0,38*	17,41	2,38±0,35	14,53	2,58±0,35	13,65
CDM	3,34±0,51*	15,41	2,67±0,47*	17,48	3,08±0,40*	13,15	3,66±0,57*	15,47

Legenda: PT, peso total; LC, largura da carapaça; CC, comprimento da carapaça; CPQ, comprimento do própodo quelar; LPQ, largura do própodo quelar; CDM, comprimento do dedo móvel; x, média; s, desvio padrão; CV (%), coeficiente de variação. \*  $p < 0,05$ .

Poluentes podem influenciar negativamente o crescimento e o desenvolvimento dos organismos aquáticos na região portuária de São Luís. Estudos realizados na região portuária identificaram concentrações elevadas de poluentes em amostras de água, sedimentos de manguezais, vegetação e poeira foliar (CARVALHO-NETA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2019; SOUSA et al., 2013; CARVALHO-NETA et al., 2012) que confirmam a exposição da biota aquática local a contaminantes presentes no corpo d'água (por exemplo, metais pesados, HPAs, entre outros). A biometria dos caranguejos para a região portuária tem mostrado valores diferenciados em relação ao

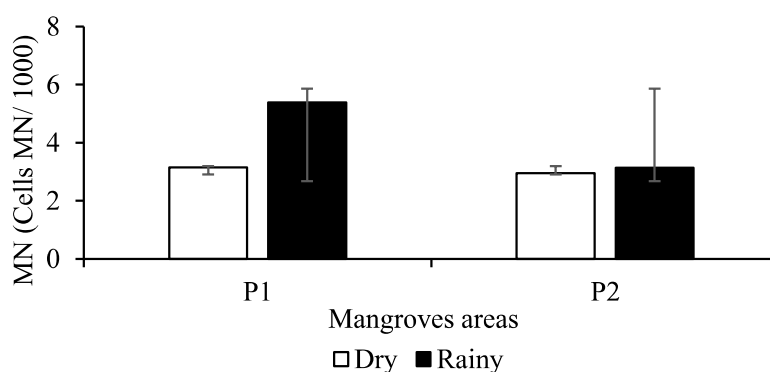
peso e ao tamanho dos organismos analisados para as áreas consideradas menos impactadas (BATISTA, et al., 2020; CARVALHO-NETA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2019).

No estuário do rio Paciência o peso e o comprimento dos caranguejos foram menores no período de estiagem em uma região considerada menos impactada em relação aos caranguejos da zona portuária para mesma estação, que segundo Oliveira (2018), há evidências de contaminantes provenientes da bacia de drenagem da região do estuário em certas áreas que podem estar influenciando de alguma forma negativa o desenvolvimento dos animais nesse local, em que os organismos estão gastando energia que é direcionado para a defesa de estressores e não ao crescimento o que implica em estudos investigativos para a região.

#### 4.2 Análise genotóxica - Teste de micronúcleo (MN‰)

Os dados de micronúcleos apresentaram médias cerca de duas vezes maior na área P1 ( $5,4 \pm 4,9$  MN‰) quando comparado com a área P2 ( $3,1 \pm 2,9$  MN‰) para a época chuvosa (Figura 3). Na época de estiagem não houve diferença entre as médias nas áreas P1 ( $3,2 \pm 2,6$  MN‰) e P2 ( $3,0 \pm 1,6$  MN‰). Durante a estiagem, a genotoxicidade (MN‰) entre as médias das áreas dos manguezais apresentaram a seguinte ordem  $P1=P2$  que difere do período chuvoso que apresentou uma ordem decrescente  $P1>P2$  identificando uma média acima do valor 4 MN‰ (valor mínimo de impacto) mensurados pelas análises de MN‰ para a região portuária (potencialmente impactada), na estação chuvosa.

Figura 3 – Médias e desvio padrão da genotoxicidade dos dados de micronúcleo (MN‰) para espécimes de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação (estação de estiagem e chuvosa).



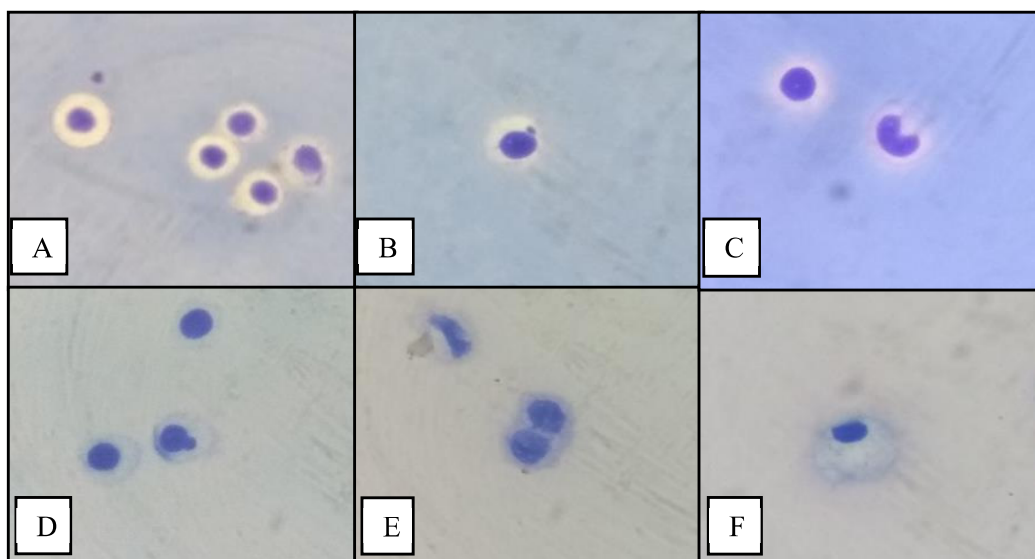
Os valores das médias e desvios padrão dos micronúcleos (MN‰) para cada área (P1 e P2) são apresentados na Tabela 3. A região portuária (P1) teve um valor mínimo de 4 MN‰ de impacto durante as estações. As duas áreas no presente estudo não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Em paralelo as frequências de micronúcleos as anormalidades morfológicas nucleares (brotamento, invaginação nuclear, célula binucleada e picnótica) observadas nos caranguejos tiveram uma média expressiva para a região portuária (Figura 4).

Tabela 3 – Valores da genotoxicidade (MN‰) para os espécimes de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2).  $p > 0,05$ .

Áreas	N	MN‰				AMN	
		Min	Máx	$x \pm s$	CV (%)	$x \pm s$	CV (%)
P1	18	7	122	$4,4 \pm 4,0$	91	$11,3 \pm 5,7$	50,4
P2	13	1	77	$3,1 \pm 2,3$	75,1	$9,9 \pm 7,4$	74,7

Legenda: MN‰, frequência de micronúcleos/1.000; AMN, anomalia morfológica nuclear; N, total de lâminas com micronúcleos; Min, mínimo de micronúcleos por lâmina; Máx, máximo de micronúcleos de micronúcleos por lâmina; x, média; s, desvio padrão; CV (%), coeficiente de variação.

Figura 4 – Anormalidades morfológicas nucleares dos hemócitos na hemolinfa de *U. cordatus*. Aumento de  $\times 1000$ .



Legenda: A, hemócito normal; B, célula micronucleada; C, invaginação nuclear; D, brotamento; E, célula binucleada; F, célula picnótica.

Os testes de genotoxicidade são altamente sensíveis a danos genômicos, mesmo quando os poluentes estão presentes em concentrações menores podendo implicar em erosão genética e ameaçar a resiliência das espécies em face as pressões ambientais (BIJLSMA; LOESCHCKE, 2012; MONSERRAT et al., 2007), causando danos às populações. Duarte et al. (2019) descreveram médias de genotoxicidade menores (<2 MN‰) avaliadas em áreas controles com menor impacto humano e intocadas, corroborando Nudi et al., (2010) que apontam *U. cordatus* como uma espécie de maior sensibilidade genética.

No presente estudo a região portuária (P1) na estação chuvosa está classificada como “área de alto impacto” (>5 MN‰) segundo a classificação proposta por Duarte et al., (2016) conforme os valores de MN‰ por área de conservação. Essa região muda de classificação à medida que estação chuvosa finaliza, tornando-se uma “área de baixo impacto” (3-5 MN‰) no período estação de estiagem. Esse aumento repentino dos valores médios para a região portuária provavelmente está relacionado aos diversos poluentes que interagem com a pluviosidade na estação chuvosa em que a salinidade nesse período fica baixa propiciando diversos fatores de estresse nos caranguejos (CARVALHO-NETA et al., 2016).

Pesquisas na avaliação de áreas de conservação relacionadas a efeitos sinérgicos de poluentes (por exemplo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos - PAHs, pesticidas, metais pesados, entre outros) característicos de atividades econômicas em zonas de influência antrópicas de alto e baixo impacto envolvendo micronúcleos em caranguejos são comumente relatadas próximo a essas regiões (DUARTE et al., 2020, 2017 e 2016; HUANG et al., 2019; HONG et al., 2018; FOSSI et al., 2000), o que é evidenciado também na região portuária da ilha de São Luís presença de micronúcleos. A presente pesquisa indica valores baixos de MN‰ na região portuária considerada uma área potencialmente impactada quando comparada com os dados de Duarte et al., (2019) que registraram um valor várias vezes maior (11 MN‰) para a região de potencial impacto antrópico em Cubatão no estado de São Paulo. Esses dados divergentes indicam a necessidade de estudos mais detalhados futuramente conforme os agentes que atuam na região portuária de São Luís no complexo estuarino de São Marcos.

A frequência de micronúcleos e anormalidades morfológicas nucleares são ferramentas eficazes para analisar o estado de sanidade de organismos e a qualidade dos ecossistemas aquáticos (WEBB e GAGNON 2002; NOGA, 2000). A média das anormalidades morfológicas nucleares dos caranguejos relacionam-se diretamente com a

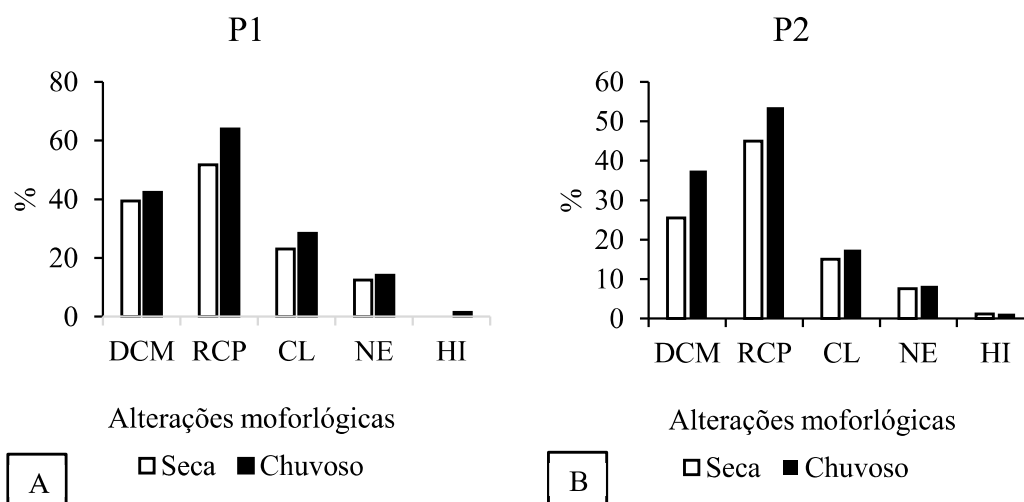


MN% analisado para a região portuária, entretanto mais estudos precisam ser feitos para um diagnóstico adequado entre as diferentes estações nas áreas estudadas. Carvalho-Neta et al., (2015) demonstraram uma associação entre uma série de anormalidades nucleares com uma maior frequência de micronúcleos no peixe *Colossoma macropomum* para a estação de estiagem, diferente do presente estudo na zona portuária, atribuindo essa relação a mudanças sazonais associadas a impactos em uma Área de Proteção Ambiental em São Luís (Maranhão), o que não é relatado na literatura em pesquisas relacionadas ao grupo dos crustáceos no mundo e região local da pesquisa.

### 4.3 Análise histológica (lesões em brânquias)

A ocorrência das alterações branquiais identificadas em *U. cordatus* variou entre às duas áreas de estudo nas estações, as maiores porcentagens de lesões branquiais ocorreram nos caranguejos da região portuária para a estação chuvosa com 63% no rompimento das células pilastras (RCP), 42% na deformação do canal marginal (DCM) e 28% no colapso lamelar (Figura 5).

Figura 5 - Percentuais de lesões branquiais dos caranguejos (*U. cordatus*) capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa. N=40.

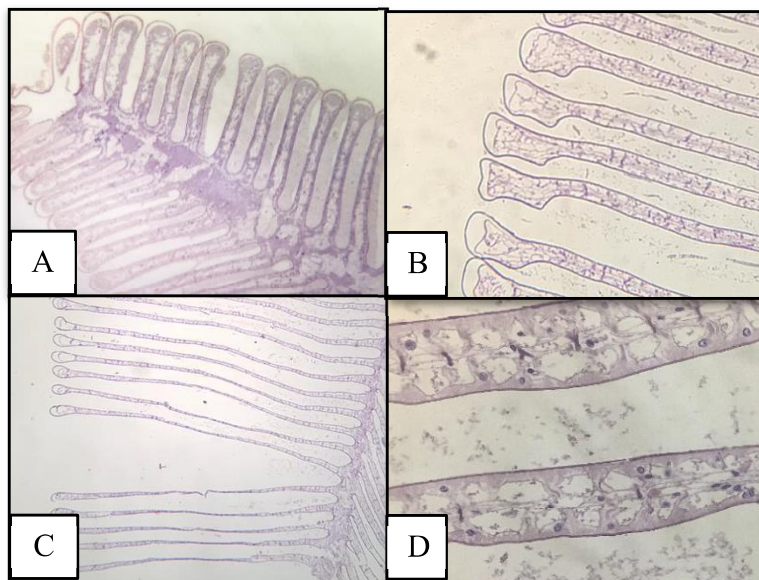


Legenda: DCM, deformação do canal marginal; RCP, rompimento de células pilastras; CL, colapso lamelar; NE, necrose; HI, hiperplasia; %, porcentagem das lesões morfológicas das brânquias.

Estudos realizados por Batista et al., (2020) indicaram as alterações do rompimento das células pilastras como a mais frequentes na área portuária no período chuvoso para a mesma região. Conforme a concentração de poluentes que estão disponíveis no período chuvoso para a região essa variação pode estar relacionada ao lixiviamento de substâncias para o meio aquático. Essas alterações identificadas no estudo são consideradas graves uma vez que estão envolvidas na perda da estrutura das células e tecido (NEGRO; COLLINS, 2017) podendo ser indicativas de exposição a contaminantes ou estresse ambiental, visto que estudos realizados para a região portuária indicam contaminação de substâncias como metais pesados (BATISTA, 2020; CARVALHO-NETA et al., 2012).

As brânquias dos caranguejos estão em contato direto com o ambiente circundante sendo as primeiras a reagir aos xenobióticos presentes no ambiente pelas vias de sedimento ou água, afetando as estruturas do tecido. Estas lesões (Figura 6) apresentam-se como uma forma de defesa do organismo contra compostos tóxicos e agentes infecciosos que comprometem a funcionalidade parcial ou total do órgão (WINKALER et al., 2008; BERNET et al., 1999).

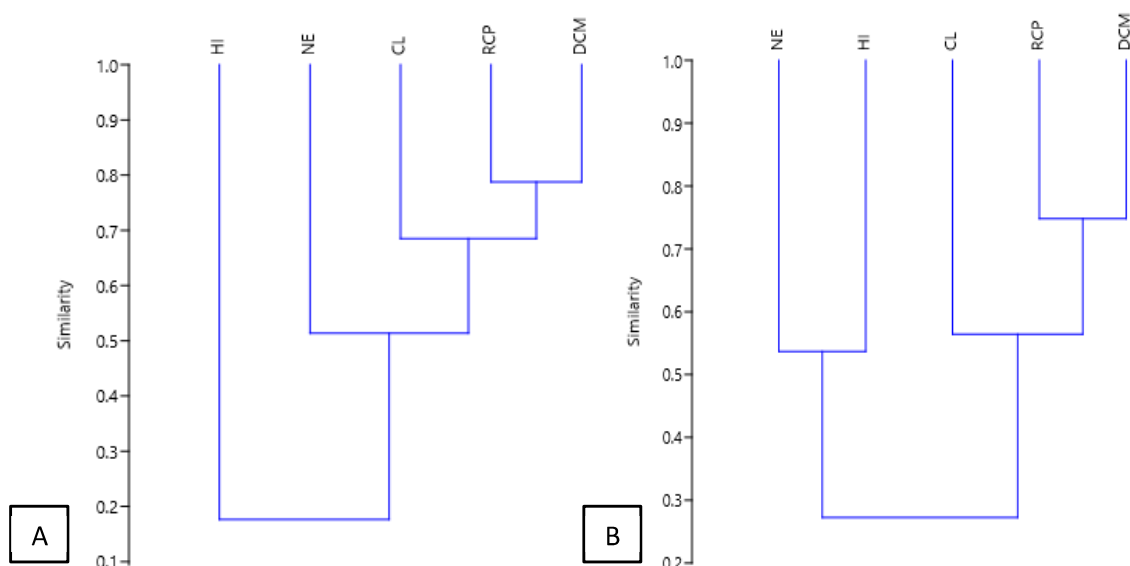
Figura 6 – Lesões branquiais encontradas nos caranguejos capturados na ilha de São Luís.



Legenda: A, estrutura normal da brânquia (x100); B, deformação do canal marginal (x100); C, colapso lamelar (x40); D, rompimento das células pilastras (x400).

Em relação ao índice de Bray-Curtis para as alterações branquiais de *U. cordatus* entre áreas (Figura 7) indicou um grupo com similaridade maior que 0.8 (ou 80%) das lesões causadas por rompimento das células pilastras e deformação do canal marginal para a região portuária no qual são lesões evidenciadas inicialmente a exposição de contaminação, e que se distanciam das lesões mais graves como colapso lamelar, necrose e hiperplasia. Na região do estuário do rio Paciência houve dois grupos similares de lesões, o primeiro maior que 0.7 (ou 70%) causadas por alterações iniciais como rompimento das células pilastras e deformação do canal marginal e o segundo maior que 0.5 (ou 50%) causadas por necrose e hiperplasia (alterações mais graves) que se distancia das demais lesões estruturais dos caranguejos. Batista (2020) em seu trabalho com biomarcadores histológicos indicou semelhanças estruturais nas alterações das brânquias dos crustáceos para a mesma região portuária próximas as comunidades do Coqueiro, Porto Grande e Cajueiro com baixa ocorrência para a área de referência. O maior agrupamento semelhante das alterações das brânquias dos caranguejos ocorreu para a região portuária, o mesmo é relatado com Carvalho-Neta et al., (2019) e Oliveira et al., (2019) onde o mesmo padrão de variação das estruturas morfológicas dos órgãos desses crustáceos acontece entre áreas potencialmente impactada e áreas de referência.

Figura 7 - Índice de Bray-Curtis das alterações branquiais. A) Zona portuária B) estuário do rio Paciência.



Legenda: DCM, deformação do canal marginal; RCP, rompimento de células pilastras; CL, colapso lamelar; NE, necrose; HI, hiperplasia.

#### 4.4 Relações de parâmetros biométricos dos caranguejos e biomarcadores

Os parâmetros biométricos de importância corporal (PT, CC e LC) utilizados para relacionar o tamanho dos caranguejos analisados com os dados de micronúcleo e histológicos nas duas estações (estiagem e chuvosa) estão exemplificados pelos valores de coeficiente de determinação na Tabela 4 e 5.

Tabela 4 - Correlação linear entre os dados de micronúcleo (MN) e os dados biométricos (PT, CC e LC) de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa.

Parâmetros	Micronúcleo			
	P1		P2	
	Estiagem	Chuvoso	Estiagem	Chuvoso
PT	-0,17	0,51	0,47	-0,17
CC	-0,34	0,74*	0,03	0,25
LC	-0,3	-0,39	0,23	-0,08

Legenda: MN, micronúcleo; PT, peso total; CC, comprimento da carapaça e LC, Largura da carapaça. \*  $p < 0,05$ .

Tabela 5 – Correlação linear entre os dados de lesões branquiais (DCM, RCP, CL) e os dados biométricos (PT, CC e LC) de *U. cordatus* capturados na zona portuária (P1) e estuário do rio Paciência (P2) por estação de estiagem e chuvosa.

	P1						P2					
	Estiagem			Chuvoso			Estiagem			Chuvoso		
	DCM	RCP	CL	DCM	RCP	CL	DCM	RCP	CL	DCM	RCP	CL
PT	-0,2	-0,57	0,37	-0,42	-0,13	-0,24	-0,12	-0,43	0,21	-0,05	-0,66*	-0,48
CC	0,16	-0,45	0,27	0,02	0,16	0,16	-0,09	-0,27	0,44	0,01	-0,32	-0,47
LC	0,8	0,3	0,04	0,02	0,01	0,21	-0,1	-0,34	0,46	0,19	-0,43	-0,1

Legenda: DCM, deformação do canal marginal; RCP, rompimento de células pilastras; CL, colapso lamelar; PT, peso total; CC, comprimento da carapaça e LC, Largura da carapaça. \*  $p < 0,05$ .

Os dados analisados indicaram correlação significativa dos parâmetros biométricos para o comprimento da carapaça em relação aos micronúcleos e peso total

com os dados histológicos ambos para a estação chuvosa nas áreas P1 e P2. Na área portuária (P1) os micronúcleos tendem a aumentar conforme os caranguejos ficam maiores e mais velhos no manguezal indicado pela correlação forte e positiva do coeficiente de determinação. Em relação ao estuário do rio Paciência (P2), a correlação dos dados histológicos para mesma estação chuvosa indica que os caranguejos com peso (PT) menores tendem a serem mais suscetíveis as lesões branquiais (rompimento de células pilastras) segundo a correlação moderada e negativa do coeficiente de determinação representado na tabela 5.

Andrade (2016) relatou em seu trabalho uma correlação moderada e positiva ( $> 0.60$ ) em relação a atividade GST e lesões histológicas dos caranguejos para a região portuária, que ocorre somente com os dados de micronúcleos na região estudada. Diferente dos estudos com o peixe *Sciades herzbergii* para a região portuária de Carvalho-Neta et al., (2012), onde houve uma correlação muito forte e positiva significativa (0,99) entre os dados biométricos e a atividade GST na área de referência, e na área de potencial contaminação da zona portuária uma correlação forte e negativa significativa (-0.87) ambos no comprimento total.

Esses resultados especulam que existe uma correlação significativa em relação ao tamanho dos caranguejos com a frequência de micronúcleos em consequência de fatores estressores na região portuária do presente estudo. As diferenças morfométricas entre esses dois grupos de caranguejos de diferentes regiões de conservação indicam que essas populações estão sujeitas a diferentes processos de seleção (SHIBATTA e HOFFMANN, 2005).

As duas áreas de manguezais estudadas possuem uma função semelhante dos ecossistemas representada pela composição das árvores, estrutura da vegetação, altura de inundação pelas marés, e produtividade no âmbito ecológico (GAMFELDT et al, 2014). Portanto, acredita-se que as diferenças observadas quanto aos biomarcadores para a área portuária, provavelmente são um reflexo de impactos ocasionados pelos contaminantes no qual a região está submetida.

## 5. CONCLUSÃO

Os dados das análises da presente pesquisa envolvendo biomarcadores genotóxicos e histológicos, bem como os dados biométricos dos caranguejos *U. cordatus* sugerem que os crustáceos vêm sendo sofrendo impactos negativos, provavelmente oriundos de contaminantes na região portuária dentro do complexo estuarino de São Marcos. Os maiores percentuais de alterações biológicas nos caranguejos indicam que os impactos se intensificam no período chuvoso, visto os efeitos adversos observados, permitindo corroborar a hipótese do presente trabalho de que a espécie sofre com estressores na região portuária da ilha de São Luís.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, C. E. R. D., LIMA-FILHO, P. A., MOLINA, W. F., FREIRE, F. A. M. Sexual Shape Dimorphism of the Mangrove Crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda, Ucididae) Accessed through Geometric Morphometric. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-8, 2014.

ALMEIDA, E. V.; KUTTER, V. T.; MARQUES, E. D.; SILVA-FILHO, E. V. First assessment of trace metal concentration in mangrove crab eggs and other tissues, SE Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 7, p. 420-434, 2016.

ALVES, R. R. N; NISHIDA, A. K. Population structure of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in the Estuary of the Mamanguape River, Northeast Brazil. **Tropical Oceanography**, 32(1): 23-37, 2004.

AMIARD-TRIQUET, C.; RAINBOW, P. S.; ROMÉO, M. **Tolerance to Environmental Contaminants**. (eds.). Boca Raton, FL: CRC Press, 2011.

AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C. Behavioral Ecotoxicology. In: AMIARD-TRIQUET, C., AMIARD, J. C. & RAINBOW, P. S. (ed.) **Ecological Biomarkers**. CRC Press/Taylor & Francis Group, 2013.

AMIARD-TRIQUET, C.; COSSU-LEGUILLE, C.; MOUNEYRAC, C. Biomarkers of defense, tolerance and ecological consequences. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. (ed.). **Ecological Biomarkers**. CRC Press / Taylor & Francis Group, p. 450, 2013.

ANDRADE, Ticianne de Sousa de Oliveira Mota. **Biomarcadores em caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) para monitoramento ambiental em áreas portuárias**. 2016. 151 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca. Universidade Estadual do Maranhão, São Luís-MA, 2016.

ANTAQ. **Porto do Itaqui**. Disponível em: <http://www.antaq.gov.br/Portal/pdf/Portos/2012/Itaqui.pdf>. Acesso em: 10 de dezembro de 2016.

ARAÚJO-JR, J. M. C.; FERREIRA, T. O.; SUAREZ-ABELENDA, M.; NÓBREGA, G. N.; ALBUQUERQUE, A. G. B. M.; BEZERRA, A. C.; OTERO, X. L. The role of

bioturbation in *Ucides cordatus* crab in the fractionation and bioavailability of trace metals in tropical semiarid mangroves. **Marine Pollution Bulletin**, v. 111, n. 1-2, p. 194-202, 2016.

AZEVEDO, S. J.; BRAGA, E. S. Caracterização hidroquímica para qualificação ambiental dos estuários de São Vicente e Cananéia. **Arquivo de Ciências do Mar**, Fortaleza, 44(2): 52- 61, 2011.

BACOLOD, E. T.; UNO, S. S.; KOYANA, J. Oxidative stress and genotoxicity biomarker responses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to environmental concentration of 1-nitropyrene. **Marine Pollution Bulletin**, v. 124, p. 1-6, 2017.

BATISTA, W. S. **Biomarcadores bioquímicos e histológicos em caranguejo-uçá *ucides cordatus* (crustacea, decapoda, ocyropodidae) para monitoramento na baía de São Marcos, Maranhão**. 2020. 119f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís-MA, 2020.

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

BELTRAME, M. O.; MARCO, S. G.; MARCOVECCHIO, J. E. The burrowing crab *Neohelice granulata* as potential bioindicator of heavy metals in estuarine systems of the Atlantic coast of Argentina. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 172, p. 379-389, 2011.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess. **Journ Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.

BERSANETTI, P. A.; NOGUEIRA, R. F.; MARCONDES, M. F.; PAIVA, P. B.; JULIANO, M. A.; JULIANO, L. CARMONA, A. K. ZANOTTO, F. P. Characterization of angiotensin I-converting enzyme from anterior gills of the mangrove crab *Ucides cordatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.74, p. 304-309, 2015.

BIJLSMA, R.; LOESCHCKE, V. Genetic erosion impedes adaptative responses to stressful environments. **Evolutionary Applications**, v. 5(2), p. 117–129, 2012.



BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Instrução Normativa nº 5**, de 21 de maio de 2004. Diário Oficial da União - Seção 1. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, p.58-63, 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, p.89, 2011.

BRIGITTE, B. Sentinel Species. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C.; RAINBOW, P.S. (Eds.). **Ecological Biomarkers**. CRC Press / Taylor & Francis Group, p. 450, 2013.

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

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

CARVALHO-NETA, R. N. F.; NUNES, J. L. S.; PIORSKI, N. M. Peixes estuarinos do Maranhão. In: NUNES, J. L. S.; PIORSKI, N. M. **Peixes marinhos e estuarinos do Maranhão**. São Luís: Café & Lápis - FAPEMA, p. 95-104, 2011.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES, A. R.; ABREU-SILVA, A. L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 5, p. 1314-1327, 2012.

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

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

CARVALHO-NETA, R. N. F.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; MÂCEDO-SOBRINHO, I. C.; HORTON, E. Y.; ALMEIDA, Z. S. TCHAICKA, L.; SOUSA, A. L. Genotoxic and hematological parameters in *Colossoma macropomum* (Pisces, Serrasalminidae) as biomarkers for environmental impact assessment in a protected area in northeastern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, 22:15994–16003, 2015.

CARVALHO-NETA, R. N. F. et al. **In situ assessment of two catfish species (pisces, Ariidae) to evaluate pollution in a harbor**. AIP Conference Proceedings. **Anais...**, 2016.

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

CASTRO, A. C. L. Diversidade da assembléia de peixes em igarapés do estuário do Rio Paciência (Ma - Brasil). **Atlântica**, v. 23, p. 39-46, 2001.

CESAR, A.; CHOUERI, R. B.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; PEREIRA, C. D. S. Integrative approach for the environmental quality assessment of aquatic ecosystems: A critical review. **Global Journal of Environmental Science and Technology**, v. 1, p. 2-9, 2012.

CHRISTOFOLETTI, R.A.; HATTORI, G.Y.; PINHEIRO, M.A.A. Food selection by a mangrove crab: temporal changes in fasted animals. **Hydrobiologia**, 702: 63-72, 2013.

COUNTRYMAN, P. I.; HEDDLE, J. A. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human Lymphocytes. **Mutation Research**, v. 41, p. 321-332, 1976.

CUTRIM, A.S.T, Sousa LKS, Oliveira VM, Almeida ZS. 2016. Estrutura da comunidade de poliquetas em manguezais do Golfão Maranhense. In: Almeida ZS, Oliveira VM (eds) **Avaliação Ambiental no Complexo Portuário do Itaqui**. EDUEMA, São Luís, p. 145–165, 2016.

DAVANSO, M. B.; MOREIRA, L. B.; PIMENTEL, M. F.; COSTA-LOTUFO, L. V.; ABESSA, D. M. S. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. **Marine Environmental Research**. v. 91, p. 80-88, 2013.

DUARTE, L. F. A.; SOUZA, C. A.; PEREIRA, C. D. S.; PINHEIRO, M. A. A. Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: In situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, n. March, p. 367–376, 2017.

DUARTE, L. F. A.; DURAN, R. S.; MENDONÇA, J. T.; PINHEIRO, M. A. A. The fishery for the - crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in a mangrove area in Cananéia, State of São Paulo, Brazil. I. Fishery performance, exploitation patterns and factors affecting the catches. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 62, n. 3, p. 187-199, 2014.

DUARTE, L. F. A.; SOUZA, C. A.; NOBRE, C. R.; PEREIRA, C. D. S.; PINHEIRO, M. A. A. Multilevel 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.

DUARTE, L F. A.; MORENO, J. B.; CATHARINO, M. G. M.; MOREIRA, E. G. TROMBINI, C.; PEREIRA, C. D. S. Mangrove metal pollution induces biological tolerance to Cd on a crab sentinel species subpopulation. **Science of the Total Environment**, 687, 768–779, 2019.

DUARTE, L F. A.; BLASCO, J.; CATHARINO, M. G. M.; MOREIRA, E. G. TROMBINI, C.; NOBRE, C. R.; MORENO, B. B.; ABESSA, D. M. S.; PEREIRA, C. D. S. Lead toxicity on a sentinel species subpopulation inhabiting mangroves with different status conservation. **Chemosphere**, 251, 126394, 2020.

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

FERREIRA, A. C.; LACERDA, L. D. Degradation and conservation of Brazilian mangroves, status and perspectives. **Ocean & Coastal Management**, v. 125, p. 38-46, 2016.

FOSSI, M. C.; CASINI, S.; SAVELLI, C.; CORBELLI, C.; FRANCHI, E.; MATTEI, N.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CORSI, I.; BAMBER, S.; Depledge, M. H. Biomarker responses at different levels of biological organisation in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo(a)pyrene. **Chemosphere** 40 (8), 861-874, 2000.

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

GAMFELDT, L., LEFCHECK, J. S., BYRNES, J. E. K., CARDINALE, B. J., DUFFY, J. E., & GRIFFIN, J. N. Marine biodiversity and ecosystem functioning: what's known and what's next? **Oikos**, 124(3), p. 252–26, 2014.

HONG, Y.; YANG, X.; HUANG, Y.; YAN, G.; CHENG, Y. Oxidative stress and genotoxic effect of deltamethrin exposure on the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 212, p. 25–33, 2018.

HUANG, Y.; HONG, Y.; HUANG, Z.; ZHANG, J.; HUANG, Q. Avermectin induces the oxidative stress, genotoxicity, and immunological responses in the Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis*. **PLoS ONE**, v. 14(11), p. e0225171, 2019.

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

JESUS, W. B.; OLIVEIRA, S. R. S.; ANDRADE, T. S. O. M.; SOUSA, J. B. M.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; SANTOS, D. M. S.; CARDOSO, W. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biological responses in gills and hepatopancreas of *Ucides cordatus*

(Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) as indicative of environmental contamination in mangrove areas in Maranhão State, Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Research**, 48(2): 226-236, 2020.

JESUS, H. C.; FERNANDES, L. F. L.; ZANDONADE, E.; ANJOS-JR, E. E.; GONÇALVES, R. F.; MARQUES, F. C.; REIS, L. A.; ROMANO, C. T.; TEIXEIRA, R. D.; SANTOS-SAD, C. M. **Avaliação da contaminação por metais pesados em caranguejos e sedimentos de áreas de manguezal do sistema estuarino de Vitória - ES**. Facitec/Prefeitura Municipal de Vitória, Vitória, Brazil, 2003.

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**, v. 72, p. 104 – 112, 2015.

MARCHAND, J.; DENIS, F.; LAROCHE, J. Evolutionary forces that change genetic variability. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). **Ecological Biomarkers**. CRC Press / Taylor & Francis Group, p. 450, 2013.

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

MONSERRAT, J. M.; MARTÍNEZ, P. E.; GERACITANO, L. A.; AMADO, L. L.; MARTINS, C. M. G.; PINHO, G. L. L.; CHAVES, I. S.; FERREIRA-CRAVO, M.; VENTURA-LIMA, J.; BIANCHINI, A. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. **Comp. Biochem. Physiol. Part C**, v. 146, p. 221–234, 2007.

MONTELLERES, J. S.; CASTRO, T. C. S.; VIANA, D. C. P.; CONCEIÇÃO, F. S.; FRANÇA, V. L.; FUNO, I. C. S. A. Percepção sócio-ambiental das marisqueiras no município de Raposa-MA. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 2, p. 34-45, 2009.

NASCIMENTO, D. M.; ALVES, R. R. N.; BARBOZA, R. R. D.; SCHMIDT, A. J.; DIELE, K.; MOURÃO, J. S. Commercial relationships between intermediaries and harvesters of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in the Mamanguape

River estuary, Brazil, and their socio-ecological implications. **Ecological Economics**, v. 131, p. 44-51, 2017.

NEGRO, C. L. Histopathological effects of endosulfan to hepatopancreas, gills and ovary of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda: Trichodactylidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 87-94, 2015.

NEGRO, C. L.; COLLINS, P. Histopathological effects of chlorpyrifos on the gills, hepatopancreas and gonads of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis*. Persistent effects after exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, n. February, p. 116–122, 2017.

NG, P.K.L.; GUINOT, D.; DAVIE, P.J.F. Systema Brachyurorum: Part I. Na annotated checklist of extant Brachyuran crabs of the world. **The Raffles Bulletin of Zoology**, 17: 1-286, 2008.

NGUYEN, H. H; MCALPINE, C; PULL, A. R. D; JOHANSEN, K.; DUKE, N. C. The relationship of spatial temporal changes in fringe mangrove extent and adjacent land-use: Case study of Kien Giang coast, Vietnam. **Ocean & Coastal Management**, v. 76, p. 12-22, 2013.

NOGA, E. J. **Fish leukocyte responses**. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (eds) Veterinary hematology. Wiley Blackwell, Hoboken, pp 436–439, 2000.

NORDHAUS, I.; DIELE, K.; WOLFF, M. Activity patterns, feeding and burrowing of the crab *Ucides cordatus* (Ucididae) in a high intertidal mangrove forest in North Brazil. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 379: 104-112, 2009.

NUDI, A. H.; WAGENER, A. L. R.; FRANCIONI, E.; SCOFIELD A. L.; SETTE, C. B.; VEIGA, A. Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. **Environment International**, 33:315-327, 2007.

NUDI, A. H.; WAGENER, A. L. R.; FRANCIONI, E.; SETTE, C. B.; SARTORI, A. V.; SCOFIELD, A. L. Biomarkers of PAH exposure in crabs *Ucides cordatus*: laboratory assay and field study. **Environmental Research**, v. 110, p. 137-145, 2010.

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

OLIVEIRA, S. R. S. et al. Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 102, p. 802–810, 2019.

PEREIRA, C. D. S.; ABESSA, D. M. S.; CHOUERI, R. B.; ALMAGRO-PASTOR, V.; AUGUSTO, C.; MARANHO, L. A.; DÍAZ, M.; LAURA, M.; TORRES, R. J.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; ALMEIDA, J. E.; CORTEZ, F. S.; MOZETO, A.A.; SILBIGER, H. L. N.; SOUSA, E. C. P. M.; DEL VALLS, T. A.; BAINY, A. C. D. Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 118-126, 2014.

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

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

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

PINHEIRO, M. A. A.; TOLEDO, T. R. Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae). In: **Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha**, São Vicente (SP), Brazil, 1(1), pp. 1–5, 2010.

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

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

PINHEIRO, M. A. A.; OLIVEIRA, A. J. F. C.; FONTES, R. F. C. Introdução ao panorama ambiental da Baixada Santista, Cap. 01, p. 1-4. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M. A. A.; SANTOS, L. C. M.; SOUZA, C. A.; JOÃO, M. C. A.; NETOS, J. D.; IVO, C. T. C. **Avaliação do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Ucididae)**. In: Pinheiro, M.A.A. & Boos, H. (orgs) Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Sociedade Brasileira de Carcinologia, Porto Alegre, p. 466, 2016.

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

RAINBOW, P. S. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. **Environment International**, v. 33, n. 4, p. 576–582, 2007.

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

REBELO-MOCHEL, F. Mangroves on São Luís Island, Maranhão Brazil. In: KJERFVE, B.; LACERDA, L. D.; DIOP, E. H. S. (Ed.). **Mangrove ecosystem studies in Latin America and Africa**; UNESCO, Paris, p. 145–154, 1997.

RODRIGUES, A. M. T.; BRANCO, E. J.; SACCARDO, S. A.; BLANKENSTEYN, A. A exploração do caranguejo *Ucides cordatus* (Decapoda: Ocypodidae) e o processo de gestão participativa para normatização da atividade na região sudeste-sul do Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, 26(1): 63-78, 2000.

SÁ, J. M. L. **Avaliação do monitoramento de águas costeiras na baía de São Marcos em São Luís, Maranhão**. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, 2014.



SANTOS, Thays Thyanne Luz. **Distribuição e participação geoquímica em sedimentos de estuários de macromaré, Maranhão, Brasil.** 2018. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Oceanografia. Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2018.

SANTOS, Vinicius Henrique Maciel dos. **Caracterização das condições oceanográficas em estuários de macromaré: Complexo Estuarino Arraial-São José MA.** 2018. 140 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2018.

SCARPATO, R.; MIGLIORE, L.; ALFINITO-COGNETTI, G.; BARALE, R. Induction of micronucleus in gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* exposed to polluted marine waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 21, n. 2, p. 74-80, 1990.

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

SCHORIES, D.; BARLETTA-BERGAN, A.; BARLETTA, M.; KRUMME, U.; MEHLIG, U.; RADEMARKER, V. The keystone role of leaf removing crabs in mangrove forests of north Brazil. **Wetlands Ecology and Management**, 11: 243-255, 2003.

SHIBATTA, O.; HOFFMANN, A. C. Variação geográfica em *Corydoras paleatus* (Jenyns) (siluriformes, Callichthyidae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22, p. 366-371, 2005.

SHIH, H-T.; NG, P.H.L.; DAVIE, P.J.F.; SCHUBART, C.D.; TÜRKAY, M.; NADERLOO, R.; JONES, D.; LIU, M-Y. Systematics of the family Ocypodidae Rafinesque, 1815 (Crustacea: Brachyura), based on phylogenetic relationships, with a reorganization of subfamily rankings and a review of the taxonomic status of *Uca Lecha*, 1814, sensu lato and its subgenera. **Raffles Bulletin of Zoology**, 64: 139-175, 2016.

SOUSA, J. K. C. **Avaliação e impactos ambientais causados por metais traço em água, sedimento e material biológico na Baía de São Marcos, São Luís - Maranhão.** 2009. 90f. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2009.

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.

SOUSA, L. K. S.; CUTRIM, A. S. T.; OLIVEIRA, V. M.; ALMEIDA, Z. S. Poliquetas como indicadores da qualidade ambiental em manguezais do Golfão Maranhense, Brasil. In: ALMEIDA, Z. S.; OLIVEIRA, V. M. (eds) **Avaliação Ambiental no Complexo Portuário do Itaqui.** EDUEMA, São Luís, pp 11–33, 2016.

SOUZA, Caroline Araújo de. **O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), como espécie bioindicadora do estado de conservação de manguezais.** 2016. 112f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. São Paulo, 2016.

SOUZA, C. A.; DUARTE, L. F. A.; ARAÚJO-JOÃO, M. C.; Pinheiro, M. A. A. Biodiversidade e conservação dos manguezais: importância bioecológica e econômica. In: PINHEIRO, M. A. A.; TALAMONI, A. C. B. (Org.) **Educação Ambiental sobre Manguezais.** 1 Ed. São Vicente: Campus do Litoral Paulista – Instituto de Biociências, 2018.

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

ŠTEVČIĆ, Z. The reclassification of brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). **Natura Croatica**, 14(1): 1-159, 2005.

TRÍDICO, C. P.; RODRIGUES, A. C. F.; NOGUEIRA, L.; SILVA, D. C.; MOREIRA, A. B.; ALMEIDA, E. A. Biochemical biomarkers in *Oreochromis niloticus* exposed to mixtures of benzo[a]pirene and Diazinon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 73(5), p. 858-863, 2010.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. **Environ Toxicol Pharmacol**, 13(2), p. 57-149, 2003.

VASANTHI, L. A.; REVATHI, P.; ARULVASU, C.; MUNUSWAMY, N. Biomarkers of metal toxicity and histology of *Perna viridis* from Ennore estuary, Chennai, South East Coast of India. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 84, p. 92–98, 2012.

VILHENA, M. S. P.; COSTA, M. L.; BERREDO, J. F. Accumulation and transfer of Hg, As, Se, and other metals in the sediment-vegetation-crab-human food chain in the coastal zone of the northern Brazilian state of Pará (Amazonia). **Environmental Geochemistry and Health**, v. 35, n. 4, p. 477-494, 2013.

WEBB, D.; GAGNON, M. M. MF O Induction potential of fish species native to the Swan-Canning River Estuary, Western Australia. **Environmental toxicology**, v. 17, p. 87–92, 2002.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. D. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. D. R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 23, p. 507-514, 2008.

ZHU, Q. H.; ZHOU, Z. K.; TU, D. D.; ZHOU, Y. L.; WANG, C.; LIU, Z. P.; GU, W. B.; CHEN, Y. Y.; SHU, M. A. Effect of cadmium exposure on hepatopancreas and gill of the estuary mud crab (*Scylla paramamosain*): Histopathological changes and expression characterization of stress response genes. **Aquatic Toxicology**, v. 195, p.1-7, 2018.