



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE



**ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E GENOTOXICIDADE EM *Sciades
herzbergii* (BLOCH, 1794) ASSOCIADAS À POLUIÇÃO AQUÁTICA NA
COSTA MARANHENSE**

KATHERINE SALDANHA NOLETO

**São Luís-MA
2023**



KATHERINE SALDANHA NOLETO



ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E GENOTOXICIDADE EM *Sciades herzbergii* (BLOCH, 1794) ASSOCIADAS À POLUIÇÃO AQUÁTICA NA COSTA MARANHENSE

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

Orientador(a): José Ribamar de Souza Torres Júnior

**São Luís-MA
Abril/2023**

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

NOLETO, KATHERINE SALDANHA.

ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E GENOTOXICIDADE EM SCIADES
HERZBERGII BLOCH, 1794 ASSOCIADAS À POLUIÇÃO AQUÁTICA NA
COSTA MARANHENSE / KATHERINE SALDANHA NOLETO. - 2023.
99 p.

Orientador(a): JOSÉ RIBAMAR DE SOUZA TORRES JÚNIOR.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2023.

1. Bioindicadores. 2. Biomarcador. 3. Contaminação.
4. Toxicologia. I. DE SOUZA TORRES JÚNIOR, JOSÉ RIBAMAR.
II. Título.

KATHERINE SALDANHA NOLETO

**ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E GENOTOXICIDADE EM *Sciades herzbergii*
(BLOCH, 1794) ASSOCIADAS À POLUIÇÃO AQUÁTICA NA COSTA
MARANHENSE**

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

Aprovada em: 06/03/2023

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 JOSE RIBAMAR DE SOUZA TORRES JUNIOR
Data: 05/05/2023 08:16:09-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. José Ribamar de Souza Torres Junior (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Documento assinado digitalmente
 JULIANA DA SILVA
Data: 03/05/2023 17:17:21-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. Juliana da Silva
Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

Documento assinado digitalmente
 RAIMUNDA NONATA FORTES CARVALHO N
Data: 04/05/2023 14:27:49-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 ANA LUCIA ABREU SILVA
Data: 03/05/2023 18:39:26-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Documento assinado digitalmente
 JORGE LUIZ SILVA NUNES
Data: 04/05/2023 22:02:43-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Jorge Luiz Silva Nunes
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Katherine Saldanha Noletto, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final da minha Tese de Doutorado intitulada – “ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E GENOTOXICIDADE EM *Sciades herzbergii* (BLOCH, 1794) ASSOCIADAS À POLUIÇÃO AQUÁTICA NA COSTA MARANHENSE” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Tese da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Local/Data: São Luís, 22 de Janeiro de 2024.



(Nome Completo do Discente)

CPF: 039.518.923-31

RG: 20179502002-8

**Dedico essa tese primeiramente à Deus, aos meus pais, às minhas quatro irmãs, meus
sobrinhos, aos meus orientadores e meus amigos.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que esteve ao meu lado durante cada alegria e cada choro, que me deu forças para chegar até aqui, aos meus pais Leomar Pinheiro Noleto e Liana Saldanha Noleto que sempre me apoiaram em tudo, me dando forças, amor e carinho, a minhas quatro irmãs: Kamilla Saldanha Noleto, que passou por duas vitórias e é meu milagre vivo, Katiuscia Saldanha Noleto que sempre me apoiou e a Andressa Saldanha Noleto e Andreia Saldanha Noleto que estiveram ao meu lado e me deram forças. Ao meu orientador, José Ribamar de Souza Torres Júnior, às grandes pesquisadoras, professora Lygia Tchaicka, Raimunda Fortes, Débora Martins Santos que me ajudaram muito, durante toda essa caminhada, aos meus amigos Carinne Costa, Lyvia Moreira, Raíssa Maria Gomes, Sara Raquel, Leonildes Ribeiro, Denise Mendes, Fernanda Carvalho, Diego Ribeiro, Larissa Sarmento, Nathalia Jovita, Alline Vieira, Thiago Santana, Jonatas Castro, Nayanna Estrela, Rayone Santos, Franscristhiany Souza, Júlia Boaes, Ana Paula Mota, Helilma Pinheiro, James Azevedo, Elaine Cristina, Jadson Pinheiro, Sildiane Cantanhêde, José Manuel Macário Rebelo, Débora Martins, Rafaella Cristine de Souza, Yanna Leidy Cruz, Aldeane Cutrim, Cristiana Araújo, todos meus familiares que amo muito, todas minhas primas, primos e tios. Agradeço também a CAPES por financiar minha bolsa e ter me dado apoio científico, a FAPEMA e a Universidade Federal do Maranhão e todo o seu corpo docente.

**Este é o Deus cujo caminho é perfeito; a palavra do senhor é comprovadamente genuína.
Ele é escudo para todos os que nele se refugiam (Samuel 22:31)**

NOLETO, Katherine Saldanha. **Alterações Reprodutivas e Genotoxicidade em *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) associadas à poluição aquática na Costa Maranhense**. 2023. 99 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE)- Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.

RESUMO

A poluição aquática ocasionada por compostos químicos, tais como os metais e HPA's (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos), tem sido relatada como a origem de problemas associados à saúde e ao desenvolvimento adequado de uma grande diversidade de organismos. Considerando a riqueza de ecossistemas aquáticos e a intensa antropização da região da baía de São José, no Estado do Maranhão, Brasil, o objetivo desta pesquisa é identificar alterações reprodutivas e genotoxicidade em *Sciades herzbergii* associadas à poluição aquática na região da costa maranhense. Para isso, foram coletados 68 espécimes de *S. herzbergii* na baía de São José para as análises biológicas. Paralelamente, foi coletada água para análises de HPA's, sendo aferidas as variáveis ambientais da água superficial, tais como pH, oxigênio dissolvido (mg L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e salinidade, utilizando-se um equipamento multiparâmetro. Imediatamente após as capturas, foram coletadas amostras de sangue total para realização do teste de micronúcleo, objetivando identificar alterações nucleares eritorcárias. Em seguida os peixes foram levados ao Laboratório de Tecnologia Aplicada à Reprodução e Produção de Organismos Nectônicos – TARPON para o registro dos dados biométricos. Fragmentos de brânquias e gônadas foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e avaliados por histologicamente por microscopia convencional. Foram colhidas amostras de tecido muscular para detecção de cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), magnésio (Mg), alumínio (Al), chumbo (Pb) e cádmio (Cd). Os metais Pb, Zn, Mg, Fe, Al foram detectados no tecido muscular acima dos níveis recomendados pela ANVISA (2013; 2021, 2005) e Decreto nº 55.871, de 1965. A análise de HPA's revelou a presença de naftaleno e acenafteno nas amostras de água. Os testes histopatológicos revelaram melanomacrófagos testiculares e ovarianos, atresia folicular ovocitária e retração citoplasmática ovocitária. Nas brânquias foram detectadas alterações de hiperplasia lamelar, deslocamento do epitélio lamelar, congestão lamelar e fusão parcial das lamelas. Os dados das análises genotóxicas indicaram surgimento anormal de micronúcleos, observando valores médios de micronúcleo bem próximos aos valores encontrados por outros autores em área impactas. Os resultados da Análise de Componentes Principais (APC) indicou relação entre elementos, Cu, Pb, Al, Fe e as alterações de melanomacrófagos, e, além disso, entre hiperplasia lamelar, Mg e Zn. Conclui-se que os exemplares de *S. herzbergii* coletados na baía de São José-MA apresentam alterações reprodutivas e genotóxicas que podem estar associadas ao aporte de contaminantes (metais e HPA's) encontrados na água e tecidos amostrados.

Palavras-chave: Contaminação; Toxicologia; Biomarcador; Bioindicadores.

NOLETO, Katherine Saldanha. **Reproductive Changes and Genotoxicity in *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) associated with aquatic pollution on the Maranhão Coast.** 2023. 99 f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology - Rede BIONORTE) - Federal University of Maranhão, São Luís, 2023.

ABSTRACT

Water pollution caused by chemical compounds, such as metals and PAH's (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), has been reported as the source of problems associated with the health and proper development of a wide variety of organisms. Considering the richness of aquatic ecosystems and the intense anthropization of the São José Bay region, in the State of Maranhão, Brazil, the objective of this research is to identify reproductive alterations and genotoxicity in *Sciades herzbergii* associated with water pollution in this region of the Maranhão coast. To do so, 68 specimens of *S. herzbergii* were collected in the estuary of São José Bay for biological analyses. In addition, water was collected for PAH analysis, and environmental variables of surface water were measured, such as pH, dissolved oxygen (mg L^{-1}), temperature ($^{\circ}\text{C}$) and salinity, using a multiparameter probe. Immediately after the collection, whole blood samples were obtained to perform the micronucleus test, aiming to identify erythrocyte nuclear alterations. Then the specimens were taken to the Laboratory of Technology Applied to Reproduction and Production of Nectonic Organisms - TARPON for the recording of biometric data. Fragments of gill and gonads were stained with Hematoxylin-Eosin (HE) and evaluated histologically by conventional microscopy. Muscle tissue samples were collected for the detection of Copper (Cu), Zinc (Zn), Iron (Fe), Magnesium (Mg), Aluminum (Al), Lead (Pb) and Cadmium (Cd). The metals Pb, Zn, Mg, Fe, Al in the muscle tissue were above the levels recommended by ANVISA (2013; 2021, 2005) and Decree N° 55871 of 1965. The analysis of PAHs revealed the presence of naphthalene and acenaphthene in the water samples. Histopathological tests showed testicular and ovarian melanomacrophages, oocyte follicular atresia and oocyte cytoplasmic retraction. In the gills, alterations of lamellar hyperplasia, displacement of lamellar epithelium, lamellar congestion and partial fusion of lamellae were detected. The genotoxic analyses indicated abnormal appearance of micronuclei, with mean micronucleus values very close to the values found by other authors in impacted areas. The results of Principal Component Analysis (PCA) indicated a relationship between Cu, Pb, Al, Fe and the melanomacrophage alterations, and between lamellar hyperplasia, Mg and Zn. Thus, it is concluded that *S. herzbergii* specimens collected in São José Bay-MA show reproductive and genotoxic alterations that might be associated with the contribution of contaminants (metals and PAHs) found in the water and tissues sampled.

Keywords: Contamination; Toxicology; Biomarker; Bioindicators.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplar de <i>Sciades herzbergii</i> . Foto do acervo pessoal do autor.	35
Figura 2: Localização do sítio amostral, no estuário da Baía de São José, Golfão maranhense, Brasil.	36
Figura 3: Voltamogramas de pulso diferencial usando ECV/CoPc em diferentes concentrações de ACE e NAF.	44
Figura 4: Gráfico da curva de adição padrão obtido por VPD empregando-se o ECV/CoPc em diferentes concentrações de ACE.	45
Figura 5: Gráfico da curva de adição padrão obtido por VPD empregando-se o ECV/CoPc em diferentes concentrações de NAF.	45
Figura 6: Principais danos celulares em <i>Sciades herzbergii</i> coletados na Baía de São José-MA.	50
Figura 7: Biplot de Análise de Componentes Principais (ACP) aplicada à associação entre variáveis.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos da água da Baía de São José-MA.	42
Tabela 2: Média e erro padrão dos metais monitorados nas águas superficiais da Baía de São José, Brasil.	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 OBJETIVO GERAL.....	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1 AMBIENTE ESTUARINO.....	20
2.2 PEIXES COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL.....	21
2.3 <i>Sciades herzbergii</i> COMO TÁXON BIOMONITOR.....	21
2.4 BIOMARCADORES PARA MONITORAMENTO AMBIENTAL.....	22
2.4.1 Índice gonadossomático	22
2.4.2 Biomarcadores histológicos	23
2.4.2.1 Biomarcador histológico em gônadas.....	24
2.4.2.2 Biomarcador histológico nas brânquias.....	24
2.4.3 Biomarcador genotóxico	25
2.5 METAIS EM AMBIENTES AQUÁTICOS.....	26
2.5.1 Cobre	28
2.5.2 Cádmio	28
2.5.3 Chumbo	29
2.5.4 Zinco	30
2.5.5 Ferro	31
2.5.6 Magnésio	32
2.5.7 Alumínio	32
2.6 HPA's (HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS).....	33
2.6.1 Acenafteno e naftaleno	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1 ANIMAIS UTILIZADOS NA PESQUISA.....	35
3.2 ÁREA DE ESTUDO.....	35
3.3 AMOSTRAGEM.....	36
3.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	37
3.5 QUANTIFICAÇÕES DE METAIS NO TECIDO MUSCULAR.....	37
3.6 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA'S).....	38
3.7 ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS E MACROSCÓPICAS EM GÔNADAS.....	39
3.8 ANÁLISES HISTOLÓGICAS EM BRÂNQUIAS.....	39
3.9 TESTE DE MICRONÚCLEO.....	40
3.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5 CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXOS.....	79

1. INTRODUÇÃO

O Golfão Maranhense possui uma das maiores áreas estuarinas do Brasil, sendo formado por três baías: São José, São Marcos e Cumã, compostas por ilhas, praias, manguezais com expressivas amplitudes de marés (TEIXEIRA et al., 2009; SILVA, 2019).

O estuário é um ambiente de transição entre águas continentais e marinhas, onde um ou mais rios encontram o mar, permitindo a diminuição da salinidade nesse corpo d'água. E as variáveis dos dois ambientes controlam a dinâmica e a distribuição das propriedades químicas, biológicas e sedimentares desse ecossistema (TWINAMATSIKO et al., 2021). Este ambiente é de grande importância para o ciclo de vida aquático. É o ecossistema onde diversas espécies utilizam para realizar a reprodução, alimentação e de proteção contra predadores (TWINAMATSIKO et al., 2021).

Contudo, os estuários são altamente vulneráveis ao acúmulo de matéria orgânica, e de contaminantes como os metais e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's), prejudicando a vida dos organismos aquáticos que neles vivem (ARIAS, et al., 2007; TWINAMATSIKO et al., 2021).

Esses diversos poluentes, oriundos de ações antropogênicas e até mesmo do ambiente natural, podem estar presentes em materiais particulados em suspensão na coluna d'água e nos sedimentos. E são absorvidos pelos organismos aquáticos, como os peixes, devido à exposição direta e/ou através da alimentação (COSTA et al., 2008).

Embora alguns metais sejam essenciais para as funções biológicas, podem tornar-se tóxicos à biota aquática, a depender da quantidade encontrada e do tempo de exposição (COSTA et al., 2008). Os metais não essenciais e os HPA's são elementos sem função biológica aos animais, e tanto os metais essenciais, como os não essenciais e os HPA's podem ocasionar diversas alterações reprodutivas, respiratórias e genotóxicas em peixes (NOVAES et al., 2018; FERREIRA et al., 2013; BAINY et al., 1998). Neste sentido, a conservação desse sistema é uma preocupação importante, pois os contaminantes advindos da poluição podem levar a constantes alterações químicas e biológicas aos ecossistemas aquáticos.

No Maranhão, o ambiente estuarino da baía de São José, área alvo desta pesquisa, recebe interferências de dois grandes rios: Munim e Itapecuru, (CUNHA, 2015). Sendo que esses rios passam por diversas cidades do estado, onde é inexistente o tratamento de esgotos e coleta de lixo, acumulando contaminantes domésticos ao longo de seu curso (PEREIRA et al., 2020). Outros fatores agravantes são a urbanização local, a pesca artesanal e os agrotóxicos oriundos

da lixiviação do solo, que podem bioacumular contaminantes no tecido muscular e em outros órgãos dos peixes, acarretando efeitos deletérios para a biodiversidade deste estuário (MCGLASHAN e HUGHIES, 2001; CALLISTO, et al., 2005).

Para monitorar a qualidade da água, é necessário realizar o monitoramento biológico, também conhecido como biomonitoramento (USEPA, 1984). Através dele é escolhida uma espécie, com sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, podendo ser chamada de bioindicador (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

No ambiente aquático os peixes são vistos como um dos importantes bioindicadores, pois conseguem desenvolver características morfofisiológicas adaptativas em resposta às mudanças do meio. Por respostas biológicas, como as alterações ou reações, em nível celular, molecular, fisiológico, ou ainda comportamental (LIONETTO et al., 2013; LEMOS et al., 2007; BARLETTA et al., 2017; VAN DER OOST, et al., 2003; RAMSDORF et al., 2012). Essas alterações são encontradas em órgãos como gônadas, fígado, rins, brânquias, podendo ser identificados também danos ao DNA, mediante biomarcadores (CHUA et al., 2018).

O bagre *Sciades herzbergii* utilizado nesta pesquisa para avaliar a qualidade ambiental do sistema estuarino no Estado do Maranhão, é uma espécie já bem conhecida no meio científico como um ótimo organismo bioindicador de poluição no ambiente aquático. É capaz de manifestar alterações histológicas, químicas, genotóxicas e bioquímicas, relacionadas à contaminação no ambiente aquático (PINHEIRO-SOUSA et al 2021; CASTRO et al., 2018; SILVA et al 2023; ALMEIDA et al., 2021; NOLETO et al., 2022). Além de apresentar característica estuarina residente e realiza todo seu ciclo de vida dentro do estuário, e também é apreciada na alimentação das comunidades pesqueiras locais (CARVALHO-NETA E ABREU-SILVA, 2010).

Desse modo, o crescente consumo associado à possível incidência de contaminantes no tecido muscular do pescado pode resultar em potenciais riscos para a saúde animal e humana (PAPAGIANNIS et al., 2004; AGAH et al., 2009; BAWURO et al., 2018; RODRIGUES, et al., 2017). Para identificar esses contaminantes no pescado, em geral, utilizam-se os biomarcadores.

Os indicadores biológicos, ou biomarcadores, são comumente descritos como alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas que indicam a exposição ou o efeito tóxico de um determinado poluente em um organismo-teste, e podem ser de três tipos: de exposição, de efeito ou de suscetibilidade (HUGGETT et al., 2018; AMORIM, 2003). Além disso, os biomarcadores

são utilizados para vários propósitos, dependendo da finalidade do estudo e do tipo da exposição química a que são submetidos (AMORIM, 2003).

Diversos biomarcadores se tornaram usuais na identificação desses efeitos de contaminantes em peixes, onde os mais utilizados são os biomarcadores histopatológicos, bioquímicos e genotóxicos (ARUKWE et al., 2008).

Desta forma, devido à importância de se monitorar a qualidade do ambiente aquático e observar o quanto os contaminantes estão prejudicando a qualidade de vida e reprodução dos peixes, o objetivo geral deste trabalho foi identificar alterações reprodutivas e genotóxicas em *S. herzbergii* associadas à poluição aquática em estuário no Litoral Maranhense. Como contribuição, propõe-se aqui uma investigação que vise minimizar as lacunas científicas sobre alterações em órgãos reprodutivos de peixes associadas com impactos antropogênicos, visando-se fornecer informações para auxiliar com planos de conservação do estoque pesqueiro da espécie estudada e melhoria da qualidade do pescado consumido na região.

Como resultado dessa pesquisa, foram obtidos dois produtos: o artigo principal “Aquatic pollutants are associated with reproductive alterations and genotoxicity in estuarine fish (*Sciades herzbergii* - Bloch, 1794) from the Amazon Equatorial Coast”, publicado na revista Brazilian Journal of Biology de qualis A3 e o capítulo de livro “Monitoramento ambiental: Metodologia e estudos de casos”, publicado pela editora I-EDUCAM.

1.1 OBJETIVO GERAL

- Identificar alterações histológicas e genotóxicas em *Sciades herzbergii* associadas à poluição aquática ocasionada por acúmulo de metais e HPA's em estuário pertencente ao Litoral Maranhense.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a presença de metais nos tecidos musculares de *S. herzbergii*;
- Identificar HPA's em amostras de água do estuário, relacionado-se a eventuais lesões histológicas de *S. herzbergii*;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos da água estuarina;
- Investigar a presença de micronúcleos provenientes de danos genotóxicos em células sanguíneas de *S. herzbergii*;

- Identificar os biomarcadores mais adequados a validação da espécie *S. herzbergii* em biomonitoramento;
- Quantificar mg/Kg de metais no tecido muscular de *S. herzbergii* e relacionar com eventuais riscos à saúde pública.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AMBIENTE ESTUARINO

Os estuários são partes da zona costeira localizados em uma região semi-fechada, onde ocorre o encontro e a mistura entre os corpos de águas continentais e marinhos (BARROS et al., 2011; UNESCO, 2017). Esses ambientes aquáticos podem estar presentes ao redor de todo o mundo, porém são mais evidentes em regiões temperadas e tropicais, pois são áreas que ocorrem descargas regulares de água doce na costa, causando alterações nas propriedades físico-químicas desse ambiente, em relação ao mar, principalmente relacionado à mudança de salinidade, permitindo o surgimento de um ambiente de água salobra (VIANA, 2010).

Apesar das alterações naturais nesse ambiente, nele ocorre uma complexa dinâmica entre os processos hidrológicos, biogeoquímicos e a presença dos manguezais, tornando este ecossistema muito mais produtivo, pois uma mistura de nutrientes de água doce somados aos nutrientes marinhos enriquecem esse ambiente, através de uma alta produção de plânctons, que são a base da cadeia alimentar (VIANA, 2010). Essas características, agregadas à baixa influência da ação dos ventos e das marés na produção de ondas no interior do estuário, formam um ambiente propício e seguro para alimentação e reprodução de diversas espécies (SANTANA et al., 2015).

Porém, o crescimento constante da população e a excessiva exploração de seus recursos naturais vêm deteriorando a qualidade ambiental dos sistemas costeiros (XAVIER et al., 2018; ZOURARAH et al., 2007), pois características físicas do ambiente estuarino também proporcionam a implantação de atividades industriais, construção civil e movimentações de portos pesqueiros ao seu redor (VIANA, 2010; SANTANA et al., 2015). Do mesmo modo, estes efeitos têm sido visíveis no estuário da baía de São José - MA, que recebe o aporte de esgotos domésticos oriundos da urbanização local, possui uma movimentação pesqueira muito intensa, e, além disso, é um estuário banhado por dois rios de grande porte (Munim e Itapecuru) que também recebem contaminantes domésticos não tratados de diversas cidades do estado do Maranhão (XAVIER et al., 2018; CUNHA, 2015; PEREIRA et al., 2020).

Para avaliar a contaminação dos ambientes aquáticos, vários estudos utilizam peixes como bioindicadores da contaminação ambiental. Portanto, as diversas espécies de peixes, que vivem nestes ambientes, acabam sendo afetadas pela bioacumulação e biomagnificação de contaminantes em seu organismo (TAO et al., 2012).

2.2 PEIXES COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

Os bioindicadores são organismos ou comunidades de organismos usados para avaliar a qualidade ambiental de uma determinada área (CAGNI et al., 2022). Esses organismos respondem a mudanças no ambiente, refletindo assim a saúde ambiental (MARKERT et al., 2003).

Os peixes são frequentemente utilizados como bioindicadores de contaminação aquática, visto que, estes organismos ocupam diferentes níveis tróficos na cadeia alimentar aquática e são expostos a uma variedade de contaminantes, incluindo metais, pesticidas, poluentes orgânicos e outros compostos químicos (CERVENY et al., 2016). Além disso, são amplamente distribuídos em ecossistemas aquáticos e podem ser facilmente coletados e analisados (LOGAN, 2007; VILLALON et al., 2021).

Dentre as espécies utilizadas como bioindicadoras, o bagre, *Sciades herzbergii*, objeto de estudo nesta pesquisa, é uma espécie que consegue se adaptar às alterações ambientais (VIANA, 2010), de modo que pesquisadores, tais como, Silva et al. (2023); Noleto et al. (2021); Almeida et al. (2021), Carvalho-Neta e Abreu-Silva (2010, 2013); Carvalho-Neta et al. (2014), Sousa et al. (2013); Pinheiro-Sousa et al. (2021); Castro et al. (2018) entre outros, utilizam este organismo para biomonitoramento em suas investigações.

2.3 *Sciades herzbergii* COMO TÁXON BIOMONITOR

O bagre *Sciades herzbergii*, é popularmente conhecido no estado do Maranhão, como bagre guribu. Uma espécie da Classe Actinopterygii, de Ordem Siluriformes, Família Ariidae, com grande ocorrência ao longo da costa atlântica da América do Sul, principalmente em ambientes estuarinos e lagoas costeiras com distribuição desde a Colômbia até a Costa Norte do Litoral Brasileiro (SOUSA et al., 2013), possuindo hábito demersal e alimentação carcinófaga.

Sua abundância é de significativa importância para a pesca artesanal, por ser muito apreciada pelas comunidades pesqueiras locais (RIBEIRO et al., 2012 e SOUSA et al., 2013).

Essa espécie é considerada bioindicadora de poluição aquática, pois suas características biológicas e seu hábito alimentar facilitam o acúmulo de contaminantes da coluna d'água e dos sedimentos. Conseguindo expor essas alterações em seus órgãos, através dos biomarcadores (PROSI, 1989; FIGUEIREDO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012).

2.4 BIOMARCADORES PARA MONITORAMENTO AMBIENTAL

O aumento da contaminação do sistema aquático ocasiona diversas alterações morfológicas e fisiológicas nos organismos (MONTANHA et al., 2012), sendo importante, assim, estudos que investiguem essas alterações, ou seja, os indicadores biológicos ou biomarcadores.

Em estudos de biomonitoramento, os biomarcadores são caracterizados por respostas alteradas em fluidos corporais, células e tecidos de organismos pela presença de agentes tóxicos no meio ambiente. (MCCARTHY e SHUGART, 1990; HINTON et al., 1992).

Os biomarcadores são utilizados no diagnóstico de doenças e intoxicações e, assim, a estratégia usada pelos pesquisadores tem sido aplicar vários biomarcadores que se complementam para realizar um diagnóstico final, sobre a saúde dos animais (VALENTE et al., 2017).

De modo geral, os biomarcadores podem ser classificados em três tipos: de exposição, de efeito ou suscetibilidade (AMORIM, 2003). Os biomarcadores de exposição são caracterizados por evidenciar a interação de um organismo com substâncias exógenas de forma mensurável (WHO, 1993).

Os biomarcadores de efeito medem a resposta do organismo à exposição ao xenobiótico, emitindo respostas por análises bioquímicas, fisiológicas, comportamentais ou outras alterações de dentro dos organismos (ASTROS-FONSECA; COMBARIZA-BAYONA, 2019). Já os biomarcadores de suscetibilidade são indicadores da capacidade adquirida dos organismos responderem à exposição a determinados contaminantes (WHO, 1993).

Portanto, devido os biomarcadores serem recomendados para auxiliar na identificação dos efeitos da poluição (GOETTEMES et al., 2013; MCCARTHY e SHUGART, 1990), o presente estudo, fez uso dos seguintes biomarcadores: Índice Gonadossomático (IGS), biomarcadores histológicos das brânquias e gônadas, e biomarcadores genotóxicos, que serão apresentados nos tópicos a seguir.

2.4.1 Índice gonadossomático (IGS)

O índice Gonadossomático (IGS) é a relação entre o peso da gônada e peso corporal total do peixe ($PG \times PT \times 100$). Essa análise é realizada a fim de estimar o grau de desenvolvimento gonadal, época reprodutiva e o próprio ciclo de reprodução (VAZZOLER, 1996).

Ao acompanhar a realação entre essas variáveis, é observado se o desenvolvimento ovariano está conforme o esperado para a espécie estudada, pois a falta de relação entre elas é uma característica do mau desenvolvimento das gônadas. Que pode estar diretamente ligada com a interferência da poluição dos ambientes aquáticos, podendo então ser utilizado em programas de biomonitoramento (POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994; DADZIE e WANGILA, 1980; PINHEIRO-SOUSA, 2021).

O desenvolvimento gonadal e a reprodução são as duas maiores características de sensibilidade dos peixes para determinar estudos de contaminação aquática (ANKLEY et al., 2009).

Sousa et al. (2013) e Pinheiro-Sousa et al. (2013), ao estudarem o desenvolvimento gonadal de *Sciades herzbergii* em ambiente aquático impactado, tiveram respostas negativas para o desenvolvimento das gônadas. Confirmando que o aumento da contaminação do sistema aquático ocasiona a diminuição e alterações morfológicas nos órgãos reprodutivos de peixes (MONTANHA et al., 2012).

2.4.2 Biomarcadores histológicos

A análise histológica é considerada uma das técnicas mais eficazes na investigação da contaminação ambiental, pois é bastante sensível no diagnóstico de efeitos tóxicos diretos e indiretos que afetam tecidos animais (HEATH, 1995; SCHWAIGER et al., 1997; ALBINATI, 2009). É também uma das ferramentas mais eficientes para estudar os efeitos agudos e crônicos que a poluição ambiental aquática causa nos peixes, pois as características histológicas encontradas nos órgãos-alvo, como nas brânquias, rins, fígado e gônadas, podem expressar diversas alterações decorrentes de contaminantes, devido ao tempo de exposição a substâncias tóxicas. Esta ferramenta é valiosa para mostrar diretamente os órgãos afetados e quais espécies possuem mais sensibilidade em relação aos níveis de contaminantes (AKAISHI et al. 2004).

Na literatura, muitos autores encontram as mais variadas alterações em gônadas e brânquias de peixes, ocasionadas por poluentes no meio aquático natural, ou em espaço laboral, utilizando a técnica histológica, e mostrando que a técnica é primordial para analisar a saúde do animal e do ambiente (SHARMA et al., 2021; SAYADI et al., 2020; SAKURAGUI et al., 2003).

2.4.2.1 Biomarcadores histológicos em gônadas

Com baixas na produtividade de peixe em regiões com grande movimentação industrial e urbanização intensa, houve a necessidade de avaliar os órgãos reprodutivos de peixes (LOUIZ et al., 2009). E foi identificado que inúmeras alterações podem ser encontradas em gônadas de peixes após o contato com produtos químicos (OECD, 2010).

Louiz et al. (2009) e Noleto et al. (2022) encontraram algumas alterações em gônadas de *Sciades herzbergii* e *Gobius niger*, de ambientes aquáticos antropizados. Dentre as alterações, foram encontradas: diminuição ou aumento da proporção das espermatogônias, hiperplasia, degeneração e/ou hipertrofia das células de Leydig, inflamação granulomatosa, desenvolvimento gonadal assincrônico, aumento do fluido intersticial nos machos, atresia ovocitária, hiperplasia ou hipertrofia das células perifolicular, diminuição da vitelogênese, diferença no estágio de maturação, fibrose intersticial, inflamação granulomatosa e diminuição do número de folículos pós-ovulatório nas fêmeas, retração citoplasmática e melanomacrófagos.

Isto sugere que a poluição antropogênica influencia nas propriedades físico-químicas da água e, por consequência, os animais que vivem em ambientes contaminados podem apresentar alteração na morfologia reprodutiva (IGER et al., 1994). Por esse fator, o estudo microscópico nas gônadas é fundamental para identificação de anomalias no sistema reprodutivo de peixes oriundos de áreas supostamente contaminadas, podendo evitar prejuízo à biodiversidade da espécie.

2.4.2.2 Biomarcador histológico nas brânquias

Os biomarcadores histológicos branquiais foram idealizados devido às brânquias serem órgãos multifuncionais e sua localização permitir um contato direto ao meio externo, tornando-as órgãos primordiais para a verificação de poluentes existentes no meio aquático (ARELLANO et al., 1999). Diante disso, o estudo histopatológico das alterações branquiais é reconhecido como um dos métodos iniciais, que pode ser realizado para identificar, de forma rápida e com resultados consistentes, os danos ocasionados aos organismos aquáticos pela exposição a poluentes (ARELLANO et al., 1999).

As brânquias estão envolvidas diretamente no balanço ácido-base, nas trocas gasosas, e no transporte e excreção de compostos azotados no organismo dos peixes (PERRY, 1997). Tanto os contaminantes orgânicos como os inorgânicos podem ser responsáveis em influenciar

e ocasionar alterações na permeabilidade do epitélio branquial (BONGA; LOCK, 2008), pois, devido ao estresse, o organismo é estimulado a liberar catecolaminas e o cortisol na corrente sanguínea, induzindo um aumento da perfusão lamelar e da permeabilidade de íons, além do aumento das células de cloreto (MORAES, 2013).

O aumento das células de cloreto ocorre conforme o aumento do cortisol na corrente sanguínea, visando regular o balanço iônico e, devido a esse fator, as lamelas aumentam sua largura, dificultando, e muita das vezes cessando, as trocas gasosas entre a água e o sangue (MORAES, 2013).

Alguns autores mostram em suas pesquisas resultados como hiperplasia, deslocamento do epitélio lamelar, congestão, aneurisma, entre outras, através da investigação histológica das brânquias de diversas espécies de peixes estudadas, incluindo o *Sciades herzbergii* em áreas impactadas, dando um diagnóstico da saúde do animal e da avaliação ambiental local (CASTRO et al.; FREITAS et al., 2013; RIBEIRO et al., 2018; SOUSA et al., 2013; SHARMA et al., 2021; SAYADI et al., 2020).

2.4.3 Biomarcador genotóxico

O termo mais amplo “genotóxico” é usado para se referir a substâncias químicas capazes de induzir efeitos adversos em componentes genéticos por meio de uma variedade de mecanismos, incluindo mutação, mas não necessariamente a capacidade de causar alterações hereditárias (WHO, 2020), portanto os biomarcadores genotóxicos são importantes ferramentas para avaliar os efeitos de substâncias químicas, radiação e outros agentes físicos e biológicos ao interagirem com DNA e a probabilidade de desenvolvimento de doenças relacionadas (HASSELGREN et al., 2019).

Um exemplo de biomarcador genotóxico é a técnica de micronúcleo. Os Micronúcleos (MN) são fragmentos de cromossomos acêntricos ou cromossomos inteiros que falham no momento da divisão celular e não são incluídos no núcleo da célula-filha, no final da telófase durante a mitose. Esses cromossomos deslocados ou fragmentos cromossômicos acabam sendo envolvidos por uma membrana nuclear e, exceto por seu tamanho menor, são morfologicamente semelhantes aos núcleos após a coloração nuclear convencional (FENECH et al., 2011).

Ao utilizar essa técnica, observa-se a quantidade de micronúcleo gerado e não reparado pelas células, durante a divisão celular, podendo, então, avaliar o potencial mutagênico dos contaminantes presentes no ambiente. (SOUZA e FONTANETTI, 2006). Os eritrócitos de

peixes podem ser facilmente analisados através desta metodologia, que apresenta análise simples, confiável, sensível e de baixo custo (UDROIU 2006, POLARD et al., 2011).

No teste de MN, podem ser observadas também outras alterações que envolvem a morfologia do envelope nuclear, chamadas de Alterações Morfológicas Nucleares (AMN), ou apenas anomalias nucleares (AN), como o: *a) Blebbed*, núcleo com uma pequena invaginação no envoltório nuclear; *b) Lobbed*, núcleo com uma invaginação maior do que o *Blebbed*; *c) Notched*, núcleo com corte notável no conteúdo do material nuclear; *d) Vacuolated*, são núcleos que apresentam uma região parecidas com vacúolos no seu interior (CARRASCO et al., 1990), *d) Binucleated cells*, onde existem dois núcleos bem definidos na mesma célula; *e) Segmented*, que são dois núcleos unidos por um filamento largo e, por fim, o *f) Kidney-shape*, que possui núcleo dobrado em formato de rim. Quaisquer umas dessas alterações podem ocorrer quando os animais entram em contato com poluentes (CARROLA et al., 2014; GRISOLIA, 2002).

Em estudos com peixes, em laboratório e em ambiente natural, utilizando concentrações diferentes de metais, microplásticos e até HPA's foi observado pelos pesquisadores a capacidade que os poluentes têm de afetar os eritrócitos de peixes, causando as mais diversas anomalias nucleares, incluindo o aparecimento de diversos micronúcleos e deixando o animal propício a mutações genéticas (HUSSAN et al., 2017; ESMAEILBEIGI et al., 2021; KAMLESH et al., 2009; SOUZA et al. 2013; ALMEIDA et al., 2023).

Essas análises possuem grande importância para identificar o quanto um poluente pode interferir nas mudanças genéticas de um indivíduo, sendo assim considerado um biomarcador capaz de avaliar a mutagenicidade e a biodiversidade genética da espécie.

2.5 METAIS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Os metais são elementos presentes na natureza de diversas formas, sendo elas: livre ou insolubilizado, como sulfetos, cloretos, arsenitos e carbonatos (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). Podem ser considerados essenciais e não essenciais, sendo que a denominação dos metais não os classificam como tóxicos e não tóxicos, pois mesmo os metais considerados essenciais podem se tornar tóxicos, dependendo das concentrações e o tempo de exposição aos organismos. Da mesma forma, os metais não-essenciais, não são necessariamente tóxicos, pois são capazes de adquirir níveis de tolerância no meio ambiente e aos organismos (NOVAES et al., 2018).

Sabe-se que para a manutenção da saúde dos seres vivos é necessária a ingestão alimentar de metais essenciais, porém em pequenas quantidades, como: cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), e magnésio (Mg) (FERREIRA et al., 2013). Já os metais não essenciais como o: alumínio (Al), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e o cádmio (Cd) não são necessários para a dieta alimentar, pois não possuem nenhuma função benéfica conhecida aos animais (BAINY, 1998).

Desde o século XX, estudos mostram os efeitos deletérios dos metais em organismos aquáticos devido a relatos da toxicidade de alguns sais metálicos no organismo dos peixes (CUNHA, 2003). Assim, o monitoramento ambiental por meio da quantificação de metais vem ocorrendo com maior frequência.

Essas análises surgiram com a intenção de identificar e quantificar componentes químicos presentes no meio aquático, podendo verificar se as quantidades encontradas estão bioacumulando e afetando a saúde dos organismos aquáticos, causando alterações em sua morfologia ou fisiologia (ARANTES et al., 2016). É necessário também avaliar se esses organismos estão aptos para consumo humano, pois a literatura indica que o acúmulo destes elementos químicos nos peixes podem causar distúrbios no crescimento, na reprodução, alterações histopatológicas na pele, brânquias, fígado, baço, rins de animais e quando bioacumulados podem também prejudicar a saúde pública (DALLINGER; RAIMBOW, 1993; VITEK et al., 2007; ARANTES et al., 2016).

No ambiente aquático, o aumento ou aparecimento de metais pode ser de origem antrópica, ou natural. E, devido ao aumento da população e das movimentações industriais, pesquisadores têm monitorado mais precisamente a contaminação por metais em órgãos e tecidos musculares de peixes, e nos sedimentos de estuários (MENDIL e ULUOZLU 2007; RAHMAN et al.; 2012).

Porém, o acúmulo de metais nos tecidos ou órgãos está ligado diretamente à espécie do peixe, ao tipo de tecido e ao tipo de metal a que o animal possa ter sido exposto. Por exemplo, Arantes et al. (2016) identificaram em sua pesquisa que os níveis de Hg e Pb em tecido muscular de bagres (*Pseudoplatystoma corruscans*) foram maiores ou semelhantes comparados com o tecido do fígado e do baço, da mesma espécie. Já Varol et al., (2022) encontraram acúmulos de metais maiores em brânquias, fígado e pele dos peixes *C. carpio*, *T. tinca* e *C. gibelio* do que em músculo dos mesmos peixes analisados. A quantidade e a distribuição de metais no meio aquático dependem de vários fatores, como a geologia local, as atividades humanas e as condições ambientais (OLIVEIRA et al., 2011). Por isso, o monitoramento regular da qualidade

da água e do sedimento é importante para identificar possíveis fontes de contaminação em estuários.

2.5.1 Cobre

O cobre pode ter sido o primeiro metal a ser descoberto e utilizado pelo homem. É um elemento encontrado na natureza, principalmente nos minerais calcocita, calcopirita e malaquita e também na turquesa, um mineral bastante conhecido por sua beleza, porém não tão abundante (RODRIGUES et al., 2012). Sua presença em ambientes aquáticos pode ser devido a fontes naturais, como a erosão de rochas e solos e também por atividades humanas, através da mineração, descargas de efluentes industriais e a utilização de pesticidas em áreas agrícolas próximas ao estuário (SIMONATO et al., 2016).

É um elemento essencial para a vida dos organismos aquáticos, atuando em diversas funções celulares, como cofator de enzimas antioxidantes, pode fazer parte da biossíntese de neurotransmissores e atuar na respiração celular (GROSELL, 2002). O excesso desse mineral pode causar alterações nas funções fisiológicas, na morfologia dos órgãos respiratórios e na resposta imunológica, aumentando a suscetibilidade dos peixes a infecções (FERRARI et al., 2004).

Dentre as patologias desencadeadas devido à exposição crônica dos peixes ao cobre estão: o aumento do consumo de oxigênio, diminuição da atividade locomotora, aumento dos níveis de linfócitos, proliferação de células epiteliais nas brânquias e intestino, imunossupressão, respostas hematopoiéticas alteradas, entre outros (HANDY, 2003).

Animais aquáticos expostos ao cobre mostram suas patologias mediante alterações observadas nas brânquias, fígado, intestino, rins, músculo e no sistema reprodutor (HANDY, 2003). Paula et al. (2021), ao analisar cobre em peixes de diferentes hábitos alimentares, observou que os animais de hábito alimentar carnívoro, apresentaram menos estresse oxidativo na espécie e menos acúmulo do metal em seu tecido muscular, porém os peixes onívoros tiveram aumento de metais nas brânquias, fígado e intestino, além de danos ao DNA. Em humanos, o excesso de cobre pode causar problemas cardiovasculares (NUNES et al., 2016).

2.5.2 Cádmio

O cádmio é um metal que ocorre naturalmente na crosta terrestre e pode ser encontrado em solos, sedimentos, rochas e minerais (MINEROPAR, 2005). É geralmente encontrado em

combinação com outros minerais, como a esfalerita (sulfeto de zinco), a greenockita (sulfeto de cádmio) e a smithsonita (carbonato de zinco) e também é produzido por atividades humanas, como a mineração, a produção de metais não ferrosos, a queima de combustíveis fósseis, a fabricação de baterias, a produção de plásticos e outros produtos químicos (MINEROPAR, 2005; SOUZA, 2018). Como resultado dessas atividades, o cádmio pode ser liberado no meio ambiente, contaminando o solo, a água e o ar.

É um elemento essencial ao bom funcionamento dos organismos, porém a grande concentração de cádmio no ambiente aquático ocasiona a bioacumulação nos rins e fígado dos animais, devido à sua taxa de eliminação ser lenta (ATLI; CANLI, 2010; MATOVIC et al. 2011; SILVA et al., 2021).

Os organismos expostos ao excesso de cádmio podem sofrer danos no DNA, (MATOVIC et al. 2011) e danos reprodutivos nos peixes, causando incapacidade do animal chegar à maturação gonadal (ALKIMIN, 2016), assim como também pode ocasionar a desova prematura e interfere nas taxas de crescimento e na sobrevivência dos espécimes (BENOIT et al., 2011). Algumas outras disfunções provocadas pelo acúmulo de cádmio no organismo dos peixes são: natação errática, alterações hematológicas e mortalidade (ATCHISON et al., 1987; COSTA; HARZ, 2009; CUI et al., 2011).

Os seres humanos, mesmo quando expostos a baixas concentrações de cádmio, porém por longos períodos, podem sofrer com a perda total ou parcial do olfato, problemas respiratórios, perda de peso, problemas gastrointestinais, diminuição da taxa de hemoglobina no sangue, hipertensão, aterosclerose, doenças crônicas em idosos e câncer (DEMAYO, 1981).

2.5.3 Chumbo

O chumbo é um metal cinza-azulado encontrado em pequenas quantidades na crosta terrestre, geralmente associado a minérios, principalmente aos que contêm zinco. (SOUZA, 2018; MINEROPAR, 2005). Esse elemento pode ser obtido principalmente a partir da galena (sulfeto de chumbo) e, secundariamente, de cerussita, anglesita, boulangerita, bournonita, piromorfita, jamesonita e wulfffenita (MINEROPAR, 2005).

É um elemento liberado ao ambiente aquático por atividade antropogênica, principalmente emissão de fundições e fábricas de baterias (SOUZA, 2018). Totalmente tóxico, não apresenta funções ou benefícios aos organismos (BILANDZIC et al., 2011; ERSOY; CELIK, 2010). O chumbo pode ser encontrado em sedimentos e água de estuários, especialmente em locais próximos a fontes de contaminação, como portos, áreas industriais e

urbanas, incluindo deposição atmosférica e escoamento superficial de áreas urbanas e rodovias (DEER et al., 2008; SOUZA, 2018).

A literatura afirma que a absorção do chumbo pelos organismos depende do tempo de exposição, do pH do ambiente e da temperatura da água, podendo causar alterações em peixes, tais como: alterações histopatológicas, deformidades, anemia hemolítica, alterações neurotóxicas e comportamentais, e inibição da síntese de hemoglobina com dias de exposição em altas concentrações, podendo continuar no organismo dos animais mesmo removendo o contaminante (DAVIES et al., 1976; BURGGER; GOCHFELD, 2000; BOSCO-SANTOS et al., 2012).

Este elemento não é metabolizado pelo organismo humano e se acumula continuamente no organismo, podendo atravessar a barreira hematoencefálica e placentária, causando danos ao sistema cardiovascular, neurotoxicidade, nefrotoxicidade e danos hematológicos. Em crianças pode causar também menor quociente de inteligência e deficiência cognitiva (GARCÍA-LESTÓN et al., 2010; YOUSAFZAI et al., 2009; MOREIRA e MOREIRA, 2004).

A presença de chumbo em estuários pode representar um risco para os organismos aquáticos e para a saúde humana, especialmente para as comunidades que dependem dos recursos do estuário para alimentação e subsistência.

2.5.4 Zinco

O zinco é um dos elementos mais comuns na crosta da terrestre e é encontrado na terra, solo e água, e é obtido principalmente da esfalerita, smithsonita, hemimorfita e franklinita, além da hopeíta e willemite (MINEROPAR, 2005). O principal uso desse elemento é na galvanização, nas ligas metálicas, nos vidros, plásticos, borrachas, tintas, lubrificantes, na indústria farmacêutica e construção civil (PADIAL, 2008).

Esse elemento entra em abundância no meio ambiente, devido ao resultado de ações humanas, como a mineração, queima de carvão, de lixo e produção de aço (VAZ e LIMA, 2003). Embora o zinco seja um elemento essencial e considerado um cofator de enzimas diretamente envolvidas no metabolismo dos peixes (TAPIA et al., 2012; RERHIEVWIE et al., 2015), sua bioacumulação tecidual pode causar distúrbios reprodutivos e crescimento lento, devido à sua toxicidade (NTIFORO et al., 2012 e MASOOD et al., 2021).

Khan et al., (2022) mostram que, ao submeter tilápias (*Oreochromis mossambicus*) a nanopartículas de zinco em diferentes concentrações, por um determinado período, houve um grande impacto nos padrões hematológicos e lesões histopatológicas nas brânquias de peixes

expostos. Pode-se observar, então, que o uso indiscriminado de zinco ou de soluções associadas a zinco, tem potencial para causar alterações nos parâmetros hematológicos e arquitetura histológica dos peixes (KHAN et al., 2022).

O excesso de zinco para humanos em níveis elevados de ingestão pode interferir na lipoproteína metabólica, incluindo níveis de colesterol, lipoproteína de alta densidade e lipoproteína de baixa densidade e uma resposta imune prejudicada (NRIAGU, 2019).

2.5.5 Ferro

O ferro está entre os elementos químicos mais abundantes e está presente na natureza principalmente na forma de hidróxidos e oxi-hidróxidos, geralmente na forma cristalina. Geralmente é encontrado em grandes jazidas, na forma de minerais com teores variáveis. O ferro apresenta propriedades químicas e físicas importantes para o sistema biológico, físico e químico da natureza (DUARTE, 2019).

Esse elemento chega ao ambiente aquático de forma natural através da sedimentação ou através das ações antrópicas, como os efluentes industriais, fundição, mineração, efluentes domésticos, soldagem, escoamentos urbanos e fertilizantes (JESUS, 2011; MILAZZO, 2011; LUCAS; BARRELLA, 2015).

O acúmulo de ferro no meio aquático pode ocasionar disfunções no metabolismo dos peixes. Singh et al. (2019) ao estudarem o efeito de doses significativas de ferro em peixes, observaram que os animais tiveram seu mecanismo de defesa antioxidante comprometido, devido a um aumento significativo na peroxidação lipídica, juntamente com uma redução significativa nos sequestradores de radicais livres, como superóxido dismutase e catalase, e também alterações histopatológicas nas brânquias e acúmulo de ferro nos tecidos e órgãos.

Para os seres humanos, o ferro é considerado um dos elementos mais importantes, pois participa dos processos hepáticos, e também atua no transporte de oxigênio por meio da hemoglobina, é um componente ativo de diferentes enzimas, ocasionando o crescimento do indivíduo, desenvolvimento intelectual e imunocompetência (SOUZA, 2009; BIRUNGI et al., 2007, EFSA, 2015). Porém, seu excesso pode causar danos ao sistema gastrointestinal, hepático, pancreático e cardiovascular. (EFSA, 2006; ALMEIDA e AFONSO, 1997; EFSA, 2015).

2.5.6 Magnésio

É o oitavo elemento mais abundante na crosta terrestre, estando presente em rochas na forma de carbonatos e sulfatos insolúveis e também como silicatos e na clorofila (DECHEN e NACHTIGALL, 2007). É encontrado na composição da estrutura óssea e é um cofator de diversas reações enzimáticas, principalmente as que envolvem a síntese ou a utilização de ATP (EFSA, 2015b).

Pode ser considerado um contaminante comum em ecossistemas aquáticos quando derivado da mineração, calagem, fertilização, sendo originado da lixiviação de minerais estéreis (sem aproveitamento comercial), como as ligas metálicas (SINCLAIR et al., 2013; GRIFFITH et al., 2012).

Na literatura, os dados sobre a toxicidade de magnésio em peixes são escassos, sendo assim necessário o estudo direcionado e isolado do efeito de grandes doses em peixes, pois doses de suplementação do magnésio em humanos acima de 2500 mg podem causar aparecimento de hipermagnesemia tóxica, associada a hipotensão ou fraqueza muscular (EFSA, 2006), além de efeitos no sistema nervoso central (ROBERT et al., 2001), confirmando a necessidade de estudos mais aprofundados para peixes estuarinos.

2.5.7 Alumínio

O alumínio é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, ficando depois apenas do oxigênio e do silício (EXLEY, 2009), porém o alumínio não é um metal encontrado em estado puro na natureza, ocorrendo na forma combinada com rochas e outros minerais (RODRIGUES et al., 2021). Segundo Medeiros (2009), o alumínio é um elemento muito utilizado pelas indústrias. Podendo ser utilizado na fabricação de automóveis, utensílios de cozinha, aeronaves (LEE, 2000) e até mesmo em estações de tratamento de água (OLIVEIRA et al., 2017).

Ele chega ao meio aquático proveniente de resíduos industriais e de esgotos, ocasionando alterações na saúde dos organismos aquáticos (OLIVEIRA et al., 2011). O alumínio causa desequilíbrio iônico em peixes, alterações reprodutivas, de crescimento, podendo até acumular no tecido muscular dos animais aquáticos e trazer transtornos para a saúde pública (CAMARGO et al., 2009; CORREIA et al., 2021). Segundo García-Medina (2011), organismos aquáticos, tais como algas, peixes e anfíbios que estão em contato direto com a água, são bem mais sensíveis ao alumínio no meio aquático.

Em seres humanos, o alumínio pode ser responsável também por aumentar o risco de doenças que afetam os sistemas imunológico, nefrológico, circulatório, esquelético e neurológico (WALTON, 2011).

2.6. HPA's (HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS)

Os hidrocarbonetos aromáticos são compostos que contêm anéis benzênicos condensados, sendo aqueles com mais de um, chamados de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) (UNEP, 1992; NRC, 2003), e são considerados mais tóxicos que os compostos alifáticos (TIBURTIUS, 2004). Devido a sua estrutura possuir dois ou mais anéis aromáticos, eles possuem pontos de fusão e ebulição altos, baixa pressão de vapor e baixa solubilidade em água e, assim, causam grandes impactos no meio aquático, sendo considerados poluentes orgânicos (GACHANJA e MARITIM, 2019,).

São provenientes da combustão incompleta de combustível fóssil e biomassa, de vazamentos de petróleo bruto e seus derivados, rompimento de dutos e despejo de refinarias e poluição atmosférica, depositados em estuários através da lixiviação e das chuvas (GESAMP, 2007).

Diversos animais aquáticos metabolizam HPA's, principalmente por oxigenação enzimática em éter, fenóis e conjugados solúveis em água para que, assim, esses organismos tenham maior facilidade de excreção (GACHANJA e MARITIM et al., 2019). Em ambientes marinhos, as principais fontes de HPA's são a deposição atmosférica, resíduos urbanos, efluentes de águas residuais, descargas industriais e derramamentos de combustíveis fósseis (DOUBEN, 2003).

Embora existam centenas de compostos HPA no meio ambiente, 16 deles são considerados poluentes prioritários pela United States Environmental Protection Agency (USEPA), que necessitam de monitoramento a ser realizado periodicamente (AZEVEDO et al., 2004; FERREIRA, (2021). São eles: o naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzoantraceno, criseno, benzopireno, benzo fluoranteno, benzo fluoranteno, benzopireno, dibenzoantraceno, benzoperileno e indenolpireno (COTTA et al., 2008; OBUCHI et al., 1984). Estes HPA's possuem alta toxicidade carcinogênica e mutagênica para os peixes e bastante persistência no ambiente (COTTA et al., 2008).

Dentre os HPA's que necessitam de monitoramento, classificamos o acenafteno e o naftaleno para serem analisados e discutidos neste estudo.

2.6.1 Acenafteno e naftaleno

Esses compostos orgânicos entram no ambiente aquático, muitas vezes por meio de processos como craqueamento do petróleo em frações mais leves, combustão incompleta de motores de carros e caminhões, incêndios florestais com a queima de material celulósico, e também por movimentação portuária e queima de carvão, ocasionando poluição no meio aquático, que atingem os animais e vegetais que ali vivem (ZHANG et al., 2008; YANCHESHMEH et al., 2014; ABDEL- SHAFY; MANSOUR 2016; ALMEIDA et al., 2018).

O acenafteno é de grande importância industrial, pois é utilizado na fabricação de corantes plásticos, inseticidas e pode ser encontrado na destilação do carvão (FERREIRA, 2021).

Zhang et al. (2023), ao submeter o zebrafish (*Danio rerio*), a diferentes concentrações de acenafteno, encontrou em seu organismo anomalias na morfologia celular e espaços intercelulares aumentados com o aparecimento de vacúolos no grupo de organismos expostos à alta concentração. Os vacúolos indicam acúmulo de lipídios e estresse oxidativo através da produção de ROS, levando a danos nas mitocôndrias e ativação de vias associadas à inflamação e apoptose, resultando em hepatotoxicidade do organismo, sendo danos ao metabolismo do fígado.

Já o naftaleno é um hidrocarboneto policíclico aromático que possui o nome popular de naftalina e possui propriedades parecidas com as do benzeno, cuja molécula é constituída por dois anéis benzênicos condensados (FERREIRA, 2021). Mehra e Chadha et al. (2021) ao submeter *Channa punctatus* a concentrações elevadas de naftaleno, encontraram alterações nas análises genotóxicas (testes de micronúcleo e cometa), caracterizando que quanto a maior concentração desse HPA, mais erros de DNA ocasionaram em eritrócitos de peixes.

Os HPA's causam grande impacto em eritrócitos de peixes de área impactada, podendo ser um agravante para a mutação genética e, assim, causam risco de extinção para a biodiversidade aquática.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS UTILIZADOS NA PESQUISA

Espécimes de peixes *Sciades herzbergii* (Figura 1) foram coletadas no ano de 2020 e 2021, totalizando quatro coletas e 68 exemplares. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal do Maranhão (CEUA), de acordo com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), registrada sob o protocolo de número 23115.030805/2018-23 e também foi obtido a licença SISBIO/ICMBio protocolo de número 65479-1.



Figura 1: Exemplar de *Sciades herzbergii*. Foto do acervo pessoal do autor.

3.2. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo é uma área de intensa movimentação pesqueira, cercada por moradias e é a área onde dois grandes rios (Munin e Itapecurí) desaguam. Está situada em um estuário localizado na Baía de São José, Ilha do Maranhão, Estado do Maranhão, na região da costa maranhense (2°30'56.12"S e 44° 4'23.06"O), conforme ilustrado na Figura 2.



Figura 2. Localização do sítio amostral, no estuário da Baía de São José, Golfão Maranhense, Brasil.

3.3. AMOSTRAGEM

As capturas foram realizadas com o auxílio de armadilhas com estrutura de madeira em formato natural e cobertas por uma malha de polietileno, denominada popularmente como manzuá ou covo, na qual se utilizou a isca natural, possibilitando assim a entrada e manutenção dos espécimes vivos.

As amostras foram processadas e analisadas no Laboratório de Tecnologia Aplicada à Reprodução e Produção de Organismos Nectônicos da Universidade Federal do Maranhão (TARPON - UFMA), com apoio do Laboratório de Biologia Molecular (LABIMOL/UEMA), do Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA/UFMA) e do Laboratório de Morfofisiologia Animal/Universidade Estadual do Maranhão.

Imediatamente após a captura, os animais foram anestesiados por imersão em solução de benzocaína na concentração de 0,1 g/L e coletada amostra de sangue por punção das brânquias dos peixes com seringa heparinizada (Liquemine, Roche®). Em seguida foi realizada a técnica do esfregaço sanguíneo para a realização de análise de micronúcleo.

Posteriormente, após a submersão dos peixes a benzocaína e a retirada do sangue, os espécimes foram eutanasiados por exposição a água gelada e imediatamente submetidos à

laparotomia para permitir a coleta de fragmentos de órgãos (gônadas e brânquias) e tecidos musculares armazenados individualmente para análise laboratorial. Os dados biométricos dos peixes foram medidos com um ictiômetro, em escala de medição de 1 mm. Foram medidos os seguintes parâmetros biométricos: comprimento total (TL), que correspondeu à distância (em cm) da ponta da extremidade cranial até a extremidade da nadadeira caudal; e comprimento parcial (PL), que correspondeu à distância da ponta da extremidade craniana até a última vértebra. Posteriormente, o peso total (PT) foi registrado em balança de precisão (precisão = 0,01 gramas).

3.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Em cada local de coleta dos peixes, foram registrados os seguintes parâmetros da água: pH, oxigênio dissolvido, salinidade e temperatura. Os referidos parâmetros foram medidos com auxílio de Kit multiparâmetro da marca Asko®, modelo AK 88, que possui o termômetro nas sondas.

3.5 QUANTIFICAÇÕES DE METAIS NO TECIDO MUSCULAR

As amostras musculares dos espécimes de peixes capturados foram acondicionadas em gelo e levadas ao Laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual do Maranhão.

Para a realização das análises de metais, as amostras foram submetidas à secagem em estufa por 72 horas a 50 °C, para evitar degradação (WOSNICK et al., 2021) depois foram pulverizadas com gral e almofariz. Cerca de 0,5g de material seco foi submetido a processo de digestão ácida com 2 mL de HNO₃, 2 mL de H₂O₂ e 2 mL de água ultrapura (AMAYO et al., 2016; RODRIGUEZ-IRURETAGOIANA et al., 2016). As concentrações dos elementos metálicos (Cu, Zn, Fe, Mg, Al, Pb e Cd) no tecido muscular de peixes foram determinadas usando a espectrometria de emissão óptica com plasma - ICP-OES Optima 8300, Perkin Elmer®. A precisão de medição foi determinada com base em curvas-padrão construídas a partir de soluções padrão de Cu, Zn, Fe, Mg, Al, Pb e Cd (Standard Reference Material 3114; Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, Gaithersburg, MD, EUA) (PINHO, BIANCHINI, 2010; CARVALHO et al., 2013; DA SILVA et al., 2014; RIGHI, 2014).

3.6 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA's)

A coleta de água para estudo de HPA's (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) foi realizada em garrafa âmbar, no mesmo local da colheita dos espécimes. As garrafas foram previamente lavadas com detergente comum em água corrente e posteriormente em banho de imersão de Extran® (neutro a 5%) por aproximadamente 24 horas. Após o banho as garrafas foram enxaguadas em água ultrapura e secos em estufa a 100°C, por aproximadamente 24 horas. As amostras foram armazenadas em gelo e transportadas até ao Laboratório de Pesquisa em Química Analítica da Universidade Federal do Maranhão (LPQA-UFMA), no qual foi realizado voltametria de pulso diferencial (VPD) para identificação dos HPA's. Os experimentos voltamétricos foram realizados no potenciostato modelo μ autolab-2 da Ecochemie® acoplado a um computador dotado de uma interface GPES da Metrohm-Autolab®. Para ajustes da concentração hidrogeniônica foi utilizado um pHmetro, modelo 300 - Analyser®, contendo um eletrodo de vidro acoplado e calibrado diariamente com tampões comerciais de pH 4, 7 e 10 (Merck®). Um sistema de banho ultrassônico foi utilizado para remoção de possíveis partículas de carbeto de silício provenientes do processo de polimento que ficam impregnadas na superfície do eletrodo.

Para a realização do procedimento eletroanalítico, utilizou-se uma solução tampão, Britton Robinson® (BR) de concentração 0,2 mol/L e com pH 2,0 previamente padronizado com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol/L. Foram avaliados a presença do pireno, naftaleno, acenafteno na água da baía de São José (FERREIRA et al., 2019).

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica confeccionada em vidro Pyrex com capacidade de 10 mL, contendo os eletrodos de referência: Ag/AgCl, contendo KCl 3,0 molL⁻¹, eletrodo auxiliar de platina (Pt) e o eletrodo de trabalho de carbono vítreo (ECV), com área de 0,123 cm² (FERREIRA et al., 2019).

Antes da realização de qualquer experimento, a água passou por um tratamento de filtração em um filtrilo. Para a obtenção de uma superfície ativa e reprodutível, o ECV foi submetido a um polimento manual em suspensão de alumina com granulação 0,3 μ m. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água purificada, e, posteriormente, levado para um sistema de banho ultrassônico durante três minutos, para a remoção de impurezas.

Após a remoção das partículas no banho de ultrassom, o método para a modificação do ECV foi o de adsorção irreversível. Primeiramente foi feita uma solução metanólica de CoPc (ftalocianina de cobalto) na concentração de 1x10⁻³ mol/L⁻¹, contendo 5% de nafion. Em seguida,

foi pingado no eletrodo uma quantidade de 10µL em sua superfície, esperando-se a secagem e, em seguida, mergulhando na solução eletrolítica (FERREIRA et al., 2019).

3.7 ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS E MACROSCÓPICAS EM GÔNADAS

Para identificar os sexos, os peixes foram dissecados e as gônadas removidas, pesadas e examinadas. Em seguida, foi registrado o peso eviscerado dos peixes. Os estádios de desenvolvimento das gônadas de ambos os sexos foram verificados macro e microscopicamente para detecção do sexo e avaliação histopatológica do tecido gonadal.

Após a caracterização, as gônadas foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,01 gramas para realizar o cálculo do Índice Gonadossomático (IGS). Em seguida, fragmentos foram retirados da porção medial da gônada e fixados em solução de Bouin® (75 mL de solução saturada de ácido pícrico, 20 mL de formaldeído a 37-40% e 5 mL de ácido acético glacial) por 24 horas e, em seguida, desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e embebidos em blocos de parafina, seccionados em cortes de 2 a 5 µm e corados em lâminas por Hematoxilina-Eosina® (HE) (YOSHIDA, 1964). Os IGS foram calculados considerando a relação entre o peso das gônadas e o peso total de cada peixe menos o peso das gônadas em gramas $(IGS) = PG/PT \times 100$ segundo metodologia descrita por VAZZOLER (1996).

As análises histológicas dos danos reprodutivos/gonadais em fêmeas foram baseadas na presença de folículos atrésicos, centros de melanomacrófagos, retração e aglomeração citoplasmática (LOUIZ et al., 2009; VIGANO et al., 2010), para as quais foram contados até 100 ovócitos de cada gônada, para calcular a média de alterações. Ainda, como a espécie apresenta grandes ovócitos ocupando a cavidade celomática quando maduros, em alguns casos, apenas a quantidade existente no ovário foi contada.

Em machos, a análise foi baseada na presença de células germinativas sinciciais, vacuolizadas, com centro melanomacrófagos e aumento de espaço no interstício entre os lóbulos testiculares (LOUIZ et al., 2009), a contagem da frequência dos danos nos testículos de cada peixe foi analisada por percentual de área.

3.8 ANÁLISES HISTOLÓGICAS EM BRÂNQUIAS

Os arcos branquiais direitos dos espécimes foram retirados e fixados em formaldeído a 10%. No laboratório de Morfofisiologia Animal/UEMA, o segundo arco branquial foi

descalcificado em ácido nítrico a 10% por seis horas e em seguida o material foi desidratado em série crescente de alcoóis (70%, 80%, 90%), diafanizado em xilol, impregnado e incluso em parafina. Os cortes transversais para a confecção de lâminas com 5µm de espessura e em seguida as lâminas receberam coloração de hematoxilina (HE) e eosina (EO) (LUNA, 1968) para posterior leitura e análise das lesões branquiais.

As alterações histológicas branquiais foram avaliadas pelo método semi-quantitativo para cada peixe ao término de todas as coletas por meio da leitura de 200 lamelas para identificação do percentual das alterações, adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994).

3.9 TESTE DE MICRONÚCLEO

As lâminas de esfregaços sanguíneos preparadas em campo foram levadas ao Laboratório de Biologia Molecular (LABIMOL/UEMA), secas por 24 horas em temperatura ambiente, submersas em metanol por 15 minutos e posteriormente coradas com GIEMSA a 70% e tampão fosfato de sódio monobásico (0,2 M) a 30%, segundo metodologia adaptada de Pinhati et al. (2006).

Foram realizadas duas lâminas por peixe e em cada lâmina foram analisadas mil células, totalizando a leitura de duas mil células por peixe, em microscópio de luz convencional (100x) para a contagem dos micronúcleos e detecção de anormalidades nucleares (AN) como: *blebbed*, *lobbed*, *belbbed*, *notched*, *vacuolated*, binúcleo, *segmented* e *kidney-shape* (CARROLA et al., 2014).

3.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para apresentação e análise dos dados foram calculadas as médias simples das características avaliadas (dados biométricos e análises físico-químicas) e seus respectivos erros-padrão. Também foram aferidas as frequências percentuais das alterações (histológicas e genotóxicas) encontradas nos exemplares coletados, que foram discutidas de forma descritiva.

A influência dos compostos contaminantes sobre a ocorrência de patologias nos espécimes amostrados, bem como as relações entre as mesmas, foi avaliada pelo método de Análise de Componentes Principais (ACP). Foi feito o biplot de Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada à relação entre variáveis de micronúcleo, alterações histopatológicas e metais em tecidos de *S. herzbergii* na Baía de São José. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software Statistica 7.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os resultados das médias dos valores da maioria dos parâmetros físico-químicos da água da Baía de São José analisada durante as coletas ficaram dentro dos critérios recomendados pelas resoluções nº 357/2005 e 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos da água da Baía de São José-MA.

	Média das coletas ± EPM	Valores recomendados (Brasil)*
pH	6,8 ± 0,3	6,5 – 8,5
Temperatura (°C)	28,7 ± 0,2	28 - 32°C
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,1 ± 0,09	> 5 mg/L
Salinidade	13,0 ± 0,6	≤ 30‰

* média ± EPM (erro padrão da média); mg: miligramas; L: litros. Valores recomendados Brasil: Resoluções CONAMA nº357/2005 e 430/2011.

Ao analisarmos os padrões físico-químicos da água do estuário da baía de São José-MA, o oxigênio dissolvido foi a variável que estava fora dos limites da resolução brasileira, em que foi encontrado o valor médio de 4,1 mg/L, sendo que as resoluções CONAMA de nº 357/2005 e 430/2011, padronizam um valor de 5 mg/L para águas de ambientes estuarinos. E essa variável é um dos componentes primordiais no controle da qualidade da água, pois a presença de oxigênio na água é que fornece a sobrevivência da vida biológica (SALMASI et al., 2021).

A diminuição de oxigênio na água significa que este ambiente se encontra sob grande demanda de matéria orgânica (CASAGRANDE et al., 2006), grande parte oriunda de lançamentos de esgotos domésticos e de efluentes industriais nos corpos d'água (ZENI et al., 2009). Nascimento et al. (2020), ao estudarem águas de estuários tropicais no estado de Pernambuco, também identificaram baixa de oxigênio dissolvido e o associaram a grandes ações antrópicas na região.

Albuquerque et al. (2023) também apontaram médias baixas para oxigênio dissolvido em coletas em águas estuarinas do rio Perizes, Golfão Maranhense, ao analisarem as concentrações de metais (Al, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni e Hg) em tecido muscular de *Genyatremus*

luteus, *Macrodon ancylodon*, *Sciades herzbergii* e *Mugil curema*. Esses autores corroboram para o resultado dessa pesquisa, onde mesmo em regiões diferentes, estuários antropizados tendem a ter uma oxigenação baixa, devido o acúmulo de matéria orgânica e contaminantes. Isso pode afetar diretamente a respiração dos organismos aquáticos, prejudicando a conservação e a biodiversidade que depende desse ecossistema para sobreviver.

Já a variável do pH, teve um resultado médio de 6,8, levemente ácido, porém dentro da normalidade estabelecida pelas Resoluções CONAMA nº 357/2005 e 430/2011, que sugere pH de até 6,5 em águas estuarinas, porém Billah et al., (2016) afirmam que a acidificação das águas estuarinas é devida aos ambientes aquáticos estarem sob influência de decomposição de matéria orgânica proveniente do escoamento (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011; BILLAH et al., 2016).

Raj et al., (2023), ao analisarem o estuário de Miri, Noroeste de Bornéu, região que sofre interferência bioquímica, observaram resultados similares. Os resultados encontrados na literatura confirmam que o estuário da baía de São José está recebendo um aporte de matéria orgânica elevado. Podendo confirmar que quanto mais matéria orgânica um estuário estiver recebendo, mais o pH irá baixar, podendo debilitar a saúde dos peixes.

A salinidade e o pH têm uma grande importância para a biota e nos processos biogeoquímicos dos estuários (SARATHY et al., 2022). A salinidade da água analisada neste trabalho (13 ‰) esteve dentro dos padrões CONAMA, Resoluções nº 357/2005 e nº 430/2011, que estabelece valores menores que 30 ‰ para águas salobras. Vineetha et al. (2020) encontraram valores similares para águas estuarinas ao estudarem impactos de inundações e metais no estuário de Cochin, um estuário eutrófico ao longo da Costa Sudoeste da Índia (VINEETHA et al., 2020), indicando que a salinidade dos estuários baía de São José está dentro da normalidade ao esperado para água de estuário, pois é uma variável que dificilmente aumenta, pois o aporte de água de rios e de outras fontes, recebidas diariamente, dilui a água salgada e mesmo estuários antrópicos de outras localidades, não tiveram diferenças de salinidade. Já a variação da temperatura na água é influenciada pelo ciclo das marés, pela velocidade da vazão do rio, pelas condições atmosféricas e pela poluição marinha (SUZZI et al., 2023; BILLAH et al., 2016). Neste trabalho o valor médio encontrado para temperatura foi de 28,7°C, estando conforme os padrões CONAMA, Resoluções nº 357/2005 e nº 430/2011 para água de estuário. Suzzi et al. (2023), ao estudarem as consequências do aumento de temperatura em água de estuários ao longo do Lago Macquarie, identificaram aumento de patógenos intestinais em peixes (*Pelates sexlineatus*) e comprovaram suas consequências também nas mudanças físico-químicas dos sistemas estuarinos e consequentemente no ciclo de vida dos espécimes que deles dependem. Afirmando que a saúde dos animais que vivem em

estuários depende de um bom equilíbrio de temperatura e para que isso ocorra, o biomonitoramento constante dos parâmetros físico-químicos, na baía de São José é de suma importância.

Os parâmetros físicos-químicos da água do estuário da baía de São José, mostram, através de suas variações, mesmo em pequena proporção, o impacto que esse ecossistema estuarino está sofrendo devido a ações antrópicas, corroborando com os parâmetros que Cabral et al. (2020) encontraram, para estuários próximos, com demanda de contaminantes.

4.2 ANÁLISE DE HPA's

Na análise da água da baía de São José-MA foram detectados dois tipos de HPA's (Figura 3), o acenafteno e o naftaleno, cujos valores encontrados foram: 0,678mg/L e 0,024mg/L; esses valores foram concluídos, após a realização do voltamograma de pulso diferencial que mostram os picos de cada HPA's (Figura 3).

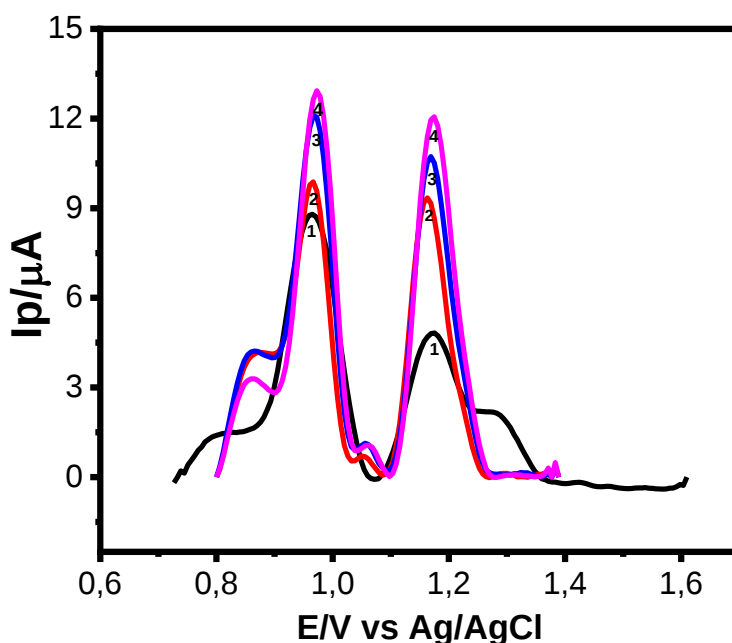


Figura 3 Voltamogramas de pulso diferencial usando ECV/CoPc em diferentes concentrações de ACE e NAF respectivamente (1) Amostra real; (2) 0.0383 mg/L e 0.0319 mg/L ($0.249 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0.249 \mu\text{mol L}^{-1}$); (3) 0.0766 mg/L e 0.0637 mg/L ($0.497 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0.497 \mu\text{mol L}^{-1}$); (4) 0.0152 mg/L e 0.0126 mg/L ($0.99 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0.99 \mu\text{mol L}^{-1}$) of buffer solution BR $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2, $v = 0,025 \text{ V s}^{-1}$. Mostrando que o primeiro pico na imagem é caracterizado pela presença do acenafteno e o segundo pico é o naftaleno. Cada cor indica uma concentração diferente de HPA's, a linha preta é a amostra real da água e a linha vermelha, a azul e a lilás são as confirmações de cada pico, com concentrações acima da amostra real.

Após valores encontrados com o voltamograma, foram realizados cálculos da equação linear da reta (Figuras 4 e 5) para confirmar a eficiência e o valor real de cada amostra.

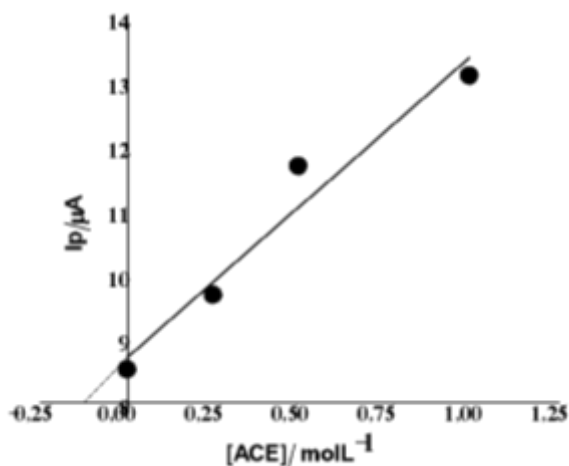


Figura 4: Gráfico da curva de adição padrão obtido por VPD empregando-se o ECV/CoPc em diferentes concentrações de ACE, Tampão BR 0,2 mol L⁻¹, pH 2, saturado com N₂, = 0,050 V s⁻¹, amplitude de pulso de 70 mV. NAF (1) amostra real; (2) 0.0383 mg/L (0,249 μmol L⁻¹); (3) 0.0766 mg/L (0,497 μmol L⁻¹) e (4) 0.0152 mg/L (0,99 μmol L⁻¹) de ACE

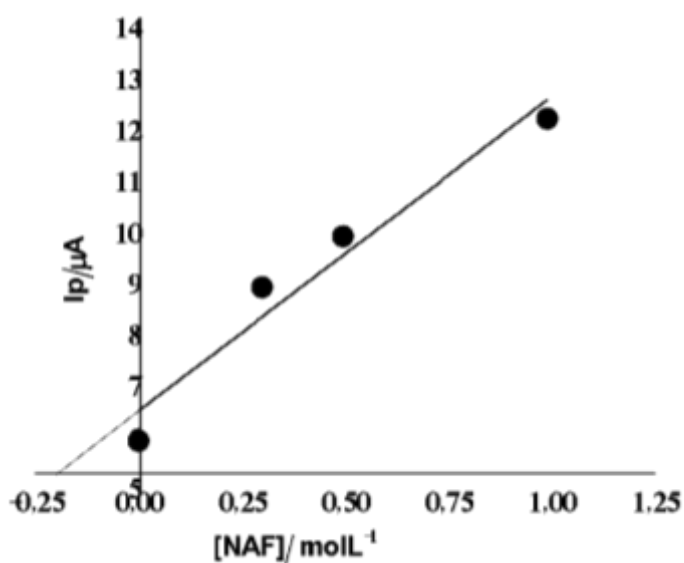


Figura 5: Gráfico da curva de adição padrão obtido por VPD empregando-se o ECV/CoPc em diferentes concentrações de NAF, Tampão BR 0,2 mol L⁻¹, pH 2, saturado com N₂, = 0,050 V s⁻¹, amplitude de pulso de 70 mV. NAF (1) amostra real; (2) 0.0319 mg/L (0,249 μmol L⁻¹); (3) 0.0637 mg/L (0,497 μmol L⁻¹) e (4) 0.0126 mg/L (0,99 μmol L⁻¹) de NAF.

Na Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) N° 357, de 17 de março de 2005, foi observado que não existem valores mínimos permitidos para o acenafteno e o naftaleno em águas salobras, porém essa resolução apresenta valores mínimos para outros

HPA's, constatando que os valores de acenafteno e naftaleno (0,678mg/L e 0,024mg/L) encontrados nessa pesquisa, estão acima dos menores valores permitidos para outros tipos de HPA's descritos na resolução.

Devido os HPA's não terem nenhuma função biológica no meio ambiente, autores como Pinheiro-Sousa et al. (2021) e Almeida et al. (2021) também analisaram estuários no norte da Amazônia brasileira, próximos a portos industriais e identificaram alterações histológicas e genotóxicas, respectivamente, e as relacionaram aos oligoelementos e HPA's da região. Concluindo que as alterações histopatológicas e genotóxicas em *S. herzbergii* encontradas em nosso estudo podem estar ligadas diretamente aos HPA's e oligoelementos. Sendo assim, esse estudo mostra que regiões que recebem interferência de contaminantes, industriais e/ou residuais estão diretamente ligadas com o aparecimento de HPA's na água e no sedimento (DUBIN, 2003).

Isso também demonstra que o sistema estuarino da baía de São José, no Maranhão, está recebendo aporte de efluentes contaminados em sua coluna d'água, devido ações antropogênicas, como movimentação de portos pesqueiros, esgotos domésticos e urbanização desordenada na região, podendo acarretar prejuízo na saúde dos animais e pública.

4.3 ANÁLISES DE METAIS EM TECIDO MUSCULAR DE PEIXES

As concentrações de metais encontradas no tecido muscular de exemplares de *S. herzbergii*, na baía de São José, MA, mostram concentrações de alumínio, chumbo, cádmio, cobre, zinco, ferro e magnésio (Tabela 2).

Tabela 2: Média $\pm$ erro-padrão da média dos metais monitorados nos tecidos musculares de peixes da Baía de São José, Brasil (Al: Alumínio; Cu: Cobre, Zn: Zinco; Fe: Ferro; Mg= Magnésio; Pb: Chumbo; Cd: Cádmio).

	Baía de São José-MA mg/kg	REFERÊNCIA/ BRASIL	LQ mg/kg
Al (Total)	384,98 $\pm$ 6,63 (298,39 a 435,57)	---	0,10
Pb (Total) ⁺	(1,17 $\pm$ 0,06) (0,52 a 1,59)	0,30 mg/Kg *	0,10
Cd (Total)	< 0,100	0,05 mg/Kg *	0,100
Cu (Total)	(3,16 $\pm$ 0,42) (1,81 a 8,57)	30,0 mg/Kg **	0,20
Zn (Total) ⁺	(50,62 $\pm$ 9,94) (18,92 a 226,66)	50,0 mg/Kg **	0,01
Fe (Total) ⁺	(152,55 $\pm$ 3,06) (124,88 a 183,17)	14 mg/dia***	0,05
Mg (Total) ⁺	(840,15 $\pm$ 16,77) (662,51 a 974,93)	260 mg/dia***	0,10

*ANVISA RDC42/2013 e ANVISA/DC Nº 88 DE 26/03/2021 (Limites máximos para alimentos).

**Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965 (Limites máximos para alimentos).

***Resolução-RDC Nº 269, DE 22 de setembro de 2005 (Limites máximos para alimentos)

--- Sem limite mínimo de consumo de alumínio em alimentos na legislação brasileira (Limites máximos para alimentos).

LQ: Limite de Quantificação

⁺ Elementos acima da tolerância máxima permitida pelos órgãos competentes, para alimentos.

Os resultados encontrados para metais em tecido muscular de pescado neste trabalho foram: Al (384,98 mg/Kg); Pb (1,17 mg/Kg); Cd (<0,100); Cu (3,16 mg/Kg); Zn (50,62 mg/Kg); Fe (152,55 mg/Kg); Mg (840,15 mg/Kg). E mostraram concentrações de metais no tecido acima do permitido pelas resoluções nacionais (DECRETO Nº 55.871 DE 1965, ANVISA RDC42/2013 E ANVISA/DC Nº 88 DE 26/03/2021 RESOLUÇÃO-RDC Nº 269 DE 2005).

As resoluções estabelecem valores máximos para Pb de 0,30mg/Kg, Cu 30 mg/Kg, Zn 50 mg/Kg, Cd na concentração de 0,05mg/Kg, para o Al não existe citação nas resoluções nacionais que estipulem valores para consumo, para o Fe e o Mg são definidos valores para consumo diário de 14 mg/dia e 260 mg/dia, respectivamente. Confirmando que os valores desses elementos nesse estudo, estão acima do limite, só não para o cobre, que estava abaixo do permitido e para o cádmio, que não foi possível a leitura, devido o resultado ter sido abaixo do limite de detecção do ICP-OES.

E embora as resoluções estipulem valores mínimos para alguns metais, pode-se afirmar que a existência de metais nos estuários, podem causar riscos a saúde dos peixes, Wosnick et

al. (2021), ao estudarem as consequências dos metais na saúde de espécies de tubarões residentes, concluíram que existe uma relação direta entre a quantidade de metais e a alteração do estresse oxidativo nas espécies. Montes et al. (2023), ao encontrarem metais em peixes *Sciades herzbergii*, obtiveram respostas que quanto maiores as concentrações de metais nos músculos de *Sciades herzbergii*, mais graves são as alterações histológicas nas brânquias, corroborando com os resultados encontrados nesse estudo, que mostram diversas alterações histológicas nas brânquias, gônadas e alterações genotóxicas em *Sciades herzbergii* relacionando-as diretamente com metais em tecido muscular.

Podendo também confirmar, que ambientes que recebem aportes de contaminantes industriais ou domésticos, como os estuários da baía de São José-MA, tendem ao aumento de metais em seu curso d'água e em tecidos de organismos aquáticos. Autores como Ribeiro et al. (2020) e Noleto et al. (2021), encontraram metais em ostras ao estudarem estuários da baía de São José-MA, área que recebe aportes de efluentes urbanos sem tratamento.

Silva et al. (2023) encontraram Fe, com valores elevados em cinco espécies de peixes (*Sciades herzbergii*, *Cetengraulis edentulus*, *Macrodon ancylodon*, *Pseudauchenipterus nodosus* e *Stellifer rastrifer*) em três baías no Maranhão, que recebem interferência de zonas industriais e esgotos domésticos sem tratamento. Já Mohiuddinin et al. (2022), ao estudarem um estuário com aporte de resíduos urbanos intenso no Oceano Índico, encontraram Zn, ao analisarem peixes (*Otolithoides pama*), e Juan et al. (2009), encontraram quantidades de Zn e Pb alteradas em tecido muscular de duas espécies de peixes (*Sparus aurata* e *Solea senegalensis*), em estuários próximos a parques industriais na Espanha.

Diante destes resultados, conclui-se que o fato da região da baía de São José-MA, ser um ambiente estuarino e receber efluentes oriundas de diversas fontes, é um fator determinante para a contaminação do estuário. Ressalta-se que os peixes estão sofrendo alterações em seus órgãos, podendo ocasionar deficiência na reprodução e na manutenção do estoque desta espécie, além de ser um possível potencial de risco para saúde da população ribeirinha, bem como para os consumidores de pescado proveniente da região estudada, uma vez que há confirmação da presença de metais acima do permitido pelas agências reguladoras (FAKHRI et al., 2018).

A exposição de peixes a um ou mais metais, é chamada de mistura metálica e pode causar a distribuição iônica em diferentes padrões nos tecidos, facilitando o acúmulo de metais e ocasionando a mudança na fisiologia da espécie (RAJESHKUMAR; LI, 2018).

4.4 BIOMETRIA E ÍNDICE GONADOSSOMÁTICO

As médias encontradas para as variáveis biométricas dos espécimes foram respectivamente de $300,7 \pm 17,63\text{g}$ (117 a 730g) para peso corporal total, $32,01 \pm 0,57\text{ cm}$ (24 a 43 cm) para comprimento total. A média do Índice gonadossomático foi de $1,3 \pm 0,27\text{g}$ (0,03 a 12 g), na relação entre o peso de todas as gônadas e dos espécimes estudados.

Esses valores, em comparação ao já encontrados na literatura, mostram que os peixes da baía de São José estão com grau de desenvolvimento dentro do esperado, pois Sousa et al. (2013) encontraram médias parecidas do peso total e comprimento total desta espécie em áreas menos impactadas de uma baía no estado do Maranhão. Porém ao compararmos os valores do GSI da São José com os dados encontrados na literatura para essa espécie, observa-se que o desenvolvimento das gônadas está abaixo do esperado (SOUSA et al., 2013).

A sugestão apontada pela atual pesquisa é que trabalhos futuros, na baía de São José, realizem as comparações com as médias encontradas neste trabalho, para analisar se os valores do peso total, comprimento total e do GSI desse estudo, estão sofrendo com os impactos antropogênicos na região, com o passar dos anos, e, uma vez que, como Ribeiro et al. (2012) relatam, as espécies que habitam em áreas impactadas usam o estoque de energia disponível do seu crescimento para realizar a desintoxicação de contaminantes.

Afirmando essa ideologia, Wang et al. (2021), ao submeterem espécimes de *Oryzias melastigma* a concentrações variadas de microplásticos, tiveram o peso corporal e o GSI dos peixes diminuído significativamente em todas as concentrações que os animais foram expostos, e Tetreault et al. (2011) ao analisarem peixes (*Etheostoma blennioides* e *Etheostoma caeruleum*) da bacia hidrográfica do Grand River em Ontário, Canadá, identificaram que os peixes machos que estavam expostos a esgotos apresentaram diminuição do GSI, além de baixa produção de testosterona e 11-cetotestosterona *in vitro*.

Diversos trabalhos mostram que animais que vivem em ambientes contaminados também tendem a apresentar maturação inadequada das gônadas devido à inibição do estrogênio induzida por poluentes (SUEIRO et al., 2022; VAZZOLER, 1996; KIME, 1995). O excesso de alguns contaminantes em ambientes aquáticos pode afetar diretamente o sistema reprodutivo dos peixes, afetando a continuidade da espécie (Luiz et al., 2009; SUEIRO et al., 2022; KIME, 1995).

Neste contexto, vale a pena lembrar que, em trabalhos cujos objetivos envolvam avaliações reprodutivas, a seletividade da arte de pesca quanto à maturidade, estágio reprodutivo e eventualmente sexo, é extremamente importante. Na pesquisa aqui apresentada,

o Mazuá foi eficiente em selecionar espécimes de tamanho compatível com a maturidade sexual, os quais têm maiores chances de contato com poluentes ao longo da vida, portanto, maior probabilidade de manifestar alterações em seu organismo. Feitosa et al. (2019) e Cunha et al. (2014) corroboram que o método de captura é capaz de realizar a seletividade do tamanho e sexo dos peixes capturados, dependendo da malha, local e iscas utilizadas na armadilha.

4.5 ANÁLISES HISTOLÓGICAS (GÔNADAS E BRÂNQUIAS) E GENOTÓXICA

As análises histopatológicas mostram alterações nas gônadas (melanomacrófagos em fêmeas e machos, retração citoplasmática ovocitária e ovócitos atrésicos em fêmeas) e nas brânquias (hiperplasia lamelar, deslocamento do epitélio lamelar, congestão lamelar e fusão lamelar). Na análise genotóxica houve a presença de micronúcleo. As análises mostram alterações em todos os espécimes estudados (Figura 6).

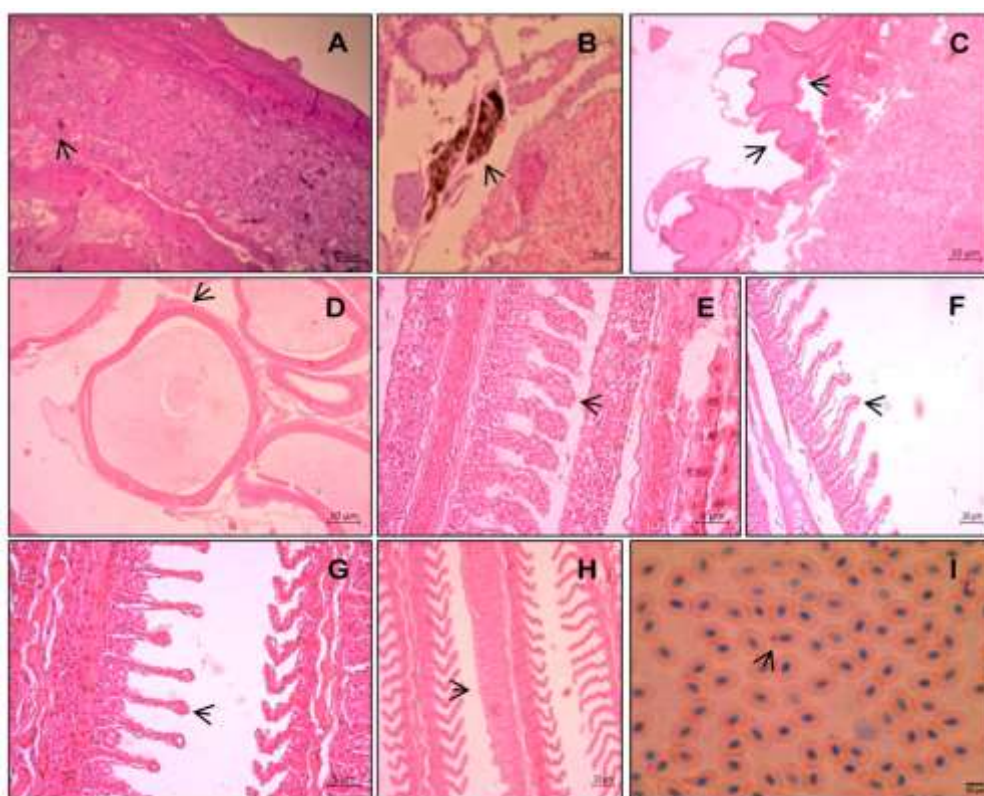


Figura 6 Principais danos celulares em exemplares de *Sciades herzbergii* coletados na baía de São José-MA, em 2020 e 2021. A: (40x) Melanomacrófagos em testículos (Me/seta); B: (40x) Melanomacrófagos em ovário (Me/seta); C: (20x) Atresia ovocitária (At/seta); D: (20x) Ovócitos com Retração Citoplasmática (Cr/seta); E: (40x) Hiperplasia branquial (Hy/seta); F: (20x) Deslocamento do epitélio branquial (De/seta); G: (20x) Congestão Branquial (Co/seta); H: (40x) Fusão Lamelar Branquial (Lf/seta); I: (100x) Micronúcleo em Eritrócito (Mi/seta).

Nas gônadas foram encontradas alterações: De melanomacrófagos, observados em 100% dos indivíduos, com frequência de $4,81 \pm 0,52\%$ (1 a 20%); Ovócitos atresícos $2,88 \pm 0,61\%$ (0 a 13,33%) e Retração citoplasmática Ovocitária $5,69 \pm 1,13$ (0 a 28,57%), onde cada ovócito foi avaliado cuidadosa e individualmente, para que não houvesse confusão entre artefato de técnica e alterações teciduais nas gônadas.

Na análise histológica das brânquias foram encontradas alterações como: hiperplasia $16,11 \pm 1,89\%$ (0 a 47,5%), deslocamento do epitélio lamelar $40,76 \pm 3,08\%$ (0 a 90%), congestão $6,51 \pm 0,87\%$; (0 a 35,5%) e fusão lamelar $6,51 \pm 1,07\%$; (0 a 35,5%), sendo que em todos os animais foram encontradas todas ou parte dessas alterações.

As alterações genotóxicas encontradas em todos os peixes desse experimento foi apenas a de micronúcleo, com frequência de $58,98 \pm 3,73$ (10 a 205) em 2000 células por peixe e em porcentagem esse valor fica $2,95 \pm 0,19\%$ (0,55 a 10,25%). As demais anomalias nucleares, tais como *blebbed*, *lobbed*, *belbbed*, *notched*, *vacuolated*, binúcleo, *segmented* e *kidney-shape*, não foram identificadas.

Devido os contaminantes serem capazes de causar diversas alterações histológicas em animais, neste estudo, ao ser identificado alterações como os melanomacrófagos em uma média de $4,81 \pm 0,52\%$ (1 a 20%), foi apurado que são células pertencentes ao sistema imunológico inespecífico (Louiz et al., 2009) e estão intimamente associadas com processos inflamatórios crônicos.

Os melanomacrófagos produzem e armazenam melanina, a qual exerce a função antioxidante na célula, pois absorve e neutraliza os radicais livres produzidos pelos xenobióticos (ZUASTI et al., 1989). E esse resultado é bem demonstrado na literatura, por Fanali et al. (2021), que ao submeterem espécimes de *Physalaemus cuvieri* (Anura) ao contato com benzopireno em laboratório, identificaram o aumento de melanina em células de melanomacrófagos, mostrando que este fenômeno era proveniente da ação antioxidante das células para desintoxicação, um mecanismo regulado para combate à degeneração celular.

A presença de melanomacrófagos também foi identificada por Marty et al. (2003) ao analisar outros órgãos de peixes que tiveram contato direto com ambiente aquático contaminado com HPA's, e por Qualhato et al. (2018), que associa melanomacrófagos a óxido de ferro em fígados de *Poecilia reticulata*. Corroborando com os dados encontrados neste trabalho, onde o PCA correlacionou os metais (Fe, Al, Cu, Pb) aos melanomacrófagos.

Também foi encontrado no trato reprodutivo dos peixes deste estudo, ovócitos atresícos com média de $2,88 \pm 0,61\%$ (0 a 13,33%), essa alteração é caracterizada por zona radiada quebrada associada à proliferação de células foliculares (Louiz et al., 2009), e também as

retrações citoplasmáticas ovocitária $5,69 \pm 1,13$ (0 a 28,57%), que consistem na aglomeração carioplasmática, gerando um espaço entre este e o citoplasma que ocasionam a má formação da célula ovocitária, interferindo na reprodução da espécie (LOUIZ et al.; 2009).

Correia et al. (2021), confirmam que contaminantes causam alterações reprodutivas ao submeteram fêmeas de *Astyanax altiparanae* a altas concentrações de Al em pH ácido, em laboratório, e constataram diminuição dos hormônios reprodutivos, uma vez que este metal já foi anteriormente apontado como causador de alterações nos parâmetros reprodutivos de peixes (KIDA et al., 2016; PINHEIRO et al., 2020). Já Louiz et al., (2009) ao estudarem efeitos de HPA's na reprodução *Gobius niger* do lago Bizerta-Tunísia, observaram os mesmos tipos de alterações encontradas em nosso estudo e eles também comprovaram que onde as alterações por HPA's e metais eram maiores, as alterações nas gônadas também aumentavam e consequentemente diminui a fertilidade dos peixes. Embora a contaminação do ambiente aquático por metais, possam ocorrer em baixas concentrações, é importante lembrar que a exposição dos peixes ocorre de maneira prolongada e crônica, aumentando o risco alterações reprodutivas que podem acarretar reduções das comunidades. Além da possibilidade de ocorrer o sinergismo das substâncias no meio (RODRIGUES et al., 2019).

Os dados encontrados na literatura sobre contaminantes em meio aquático, confirmam os dados encontrados na baía de São José, que, mesmo em pequenas quantidades, os metais e os HPA's em ambiente aquático, têm a capacidade de alterar o bom funcionamento dos órgãos reprodutivos e consequentemente podem afetar a reprodução dos peixes.

As análises histológicas das brânquias, nesse estudo, também apresentaram alterações, como: deslocamento do epitélio lamelar $40,76 \pm 3,08\%$ (0 a 90%), que é considerado um indicativo de edema intercelular (SACHI et al., 2021; SAKURAGUI et al., 2003); hiperplasia lamelar $16,11 \pm 1,89\%$ (0 a 47,5%), que é resposta do organismo para compensar os distúrbios osmóticos e eletrolíticos em peixes (SACHI, et al., 2021; MALLAT, 1985) e podem levar à fusão parcial ou total das lamelas $6,51 \pm 1,07\%$; (0 a 35,5%) reduzindo a área de superfície de trocas gasosas (SAKURAGUI et al., 2003) e, por fim; congestão lamelar $6,51 \pm 0,87\%$; (0 a 35,5%), que são alterações que causam distúrbios circulatórios, podendo afetar até as trocas gasosas nos peixes (SACHI, et al., 2021).

A partir de estudos realizados em outras espécies, como o de Esmaeilbeigi et al., (2021) que, ao analisarem peixes da espécie *Rutilus frissi kutum*, em diferentes concentrações de benzopireno (HPA) em laboratório, encontraram as mesmas alterações (hiperplasia, deslocamento do epitélio, fusão lamelar) do presente estudo. Já Palaniappan et al. (2008); Sharma et al. (2021); Sayadi et al. (2020); e Tesser et al. (2020), ao estudarem as ações de

diferentes metais nos organismos dos peixes, como o cobre nas espécies *Catla catla* e *Prochilodus lineatus*, zinco em *Cirrhinus mrigala* e ferro em *Capoeta fusca*, identificaram variadas alterações histológicas, como congestão, hiperplasia, fusão lamelar, deslocamento do epitélio e até anemia (PALANIAPPAN et al., 2008; SHARMA et al., 2021; SAYADI et al., 2020; TESSER et al., 2020), sugerindo que a baía de São José está sobre aporte de contaminantes, que estão afetando os órgãos respiratórios dos exemplares de *S. herzbergii* de nosso estudo, que dependem diretamente desse ambiente para sobreviver.

Essas alterações branquiais derivam da tentativa do organismo em se defender do efeito deletério dos poluentes aos órgãos vitais. No entanto, este é um processo que afeta a respiração e a sobrevivência dos organismos, pois causam desorganização em suas estruturas de trocas gasosas e fluxo sanguíneo (CAMARGO; MARTINEZ, 2007) e, felizmente, são consideradas lesões leves, permitindo a recuperação da estrutura e da função dos tecidos branquiais, quando a qualidade do meio aquático melhora. Por outro lado, estas mesmas alterações podem progredir para estágios mais severos, dependendo do tempo de exposição dos animais a águas poluídas (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994; SAYADI et al., 2020).

Os resultados da análise de micronúcleo apresentaram alterações como resultado de danos ao DNA, detectados pelo aparecimento de micronúcleos eritrocitários em *S. herzbergii* com a frequência de $58,98 \pm 3,73$ (10 a 205) em 2000 células por peixe e em porcentagem esse valor fica com o percentual médio de $2,95 \pm 0,19\%$ (0,55 a 10,25%). Esse resultado pode ser comparado com os resultados de Almeida et al. (2021) que encontraram micronúcleo para a mesma espécie de peixe em outra baía do Maranhão, porém devem ser divididos, uma vez que, na metodologia por eles utilizada, realizavam a contagem de apenas de 1000 células por peixe. Após adaptação, o resultado encontrado para os peixes da baía de São José está na mesma média do resultado de micronúcleo encontrado por Almeida et al. (2021) em ambiente impactado, mostrando que a baía de São José está recebendo um aporte de poluentes, que estão colaborando para o surgimento de maiores quantidades de erros ao DNA a espécie *Sciades herzbergii*.

Os danos ao DNA causados por contaminantes podem ser reparados pelas células de forma natural, para que não se tornem mutações, porém quando essa taxa não diminui e o animal continua exposto, mesmo em baixas doses dos contaminantes, a célula para de realizar este reparo e a probabilidade para mutações aumenta, e, caso essa condição ocorrer em muitos indivíduos a viabilidade da manutenção da espécie fica comprometida, podendo ocorrer alteração na biodiversidade (ALMEIDA et al., 2021).

Diversos autores encontraram micronúcleos em diferentes espécies de peixes em distintas proporções, intensidades e/ou tempo de exposição a contaminantes no meio aquático.

Tendo sido observados, por exemplo, ao analisarem HPA's (benzopireno) em indivíduos de *Rutilus frissi kutum*, investigando *Channa punctata* submetidos a diferentes concentrações de cobre, e *Centropomus parallelus* em diferentes concentrações de metais, deste modo, esses autores sugerem quanto maiores as concentrações de poluentes, maior a presença de danos ao DNA e posteriormente se tornar uma mutação genética (HUSSAN et al., 2017; ESMAEILBEIGI et al., 2021; KAMLESH et al., 2009; SOUZA et al. 2013). Corroborando com o resultado desse estudo, que obteve o valor de micronúcleo próximos ao encontrado por Almeida et al, (2021) da mesma espécie de peixe (*S. herzbergii*) em área mais impactada.

De acordo com todos os resultados obtidos nesse estudo, ficou claro que além dos diversos prejuízos à saúde dos animais aquáticos, a poluição dos estuários possui grande potencial para o risco a saúde dos seres humanos, que se utilizam deste recurso pesqueiro como fonte regular de alimentação. Portanto, os resultados desta pesquisa demonstram a necessidade de ampliarmos as investigações nesses ambientes, de suma importância para a manutenção da biodiversidade Amazônica, para que, assim, possamos desenvolver políticas para mitigar a degradação desses habitats aquáticos.

4.6 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP)

A relação entre as variáveis melanomacrófagos, retração citoplasmática ovocitária, ovócito atrésico, hiperplasia das brânquias, deslocamento do epitélio lamelar, fusão lamelar, congestão lamelar, micronúcleo e análises de metais, foram investigadas por meio da Análise de Componentes Principais (ACP) apresentada na Figura 7. Os resultados, explicaram 45,21% da variação total dos dados, mostrando que a variável principal foi a de melanomacrófagos que estão associados aos metais (Figura 7).

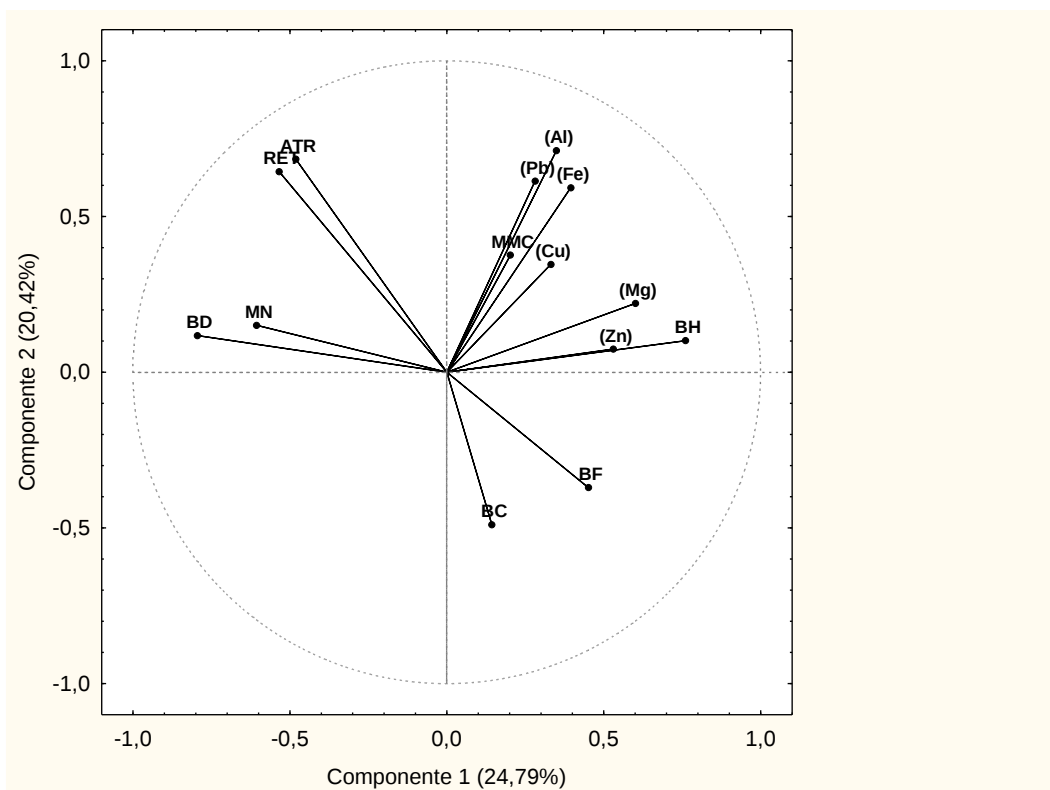


Figura 7: Biplot de Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada à relação entre variáveis de micronúcleo, alterações histopatológicas e metais em tecidos de *S. herzbergii* na Baía de São José. ATR = folículos ovarianos atresicos; MMC = melanomacrófago ovariano; RET = retração citoplasmática ovocitária; MN = micronúcleo; BH = hiperplasia branquial; BF = fusão lamelar branquial; BC = congestão lamelar branquial; BD = deslocamento do epitélio branquial; Zn = Zinco; Al = Alumínio; Pb = Chumbo; Fe = Ferro; Cu = Cobre; Mg = Magnésio.

Os metais Al, Pb, Fe, Cu, juntos, explicam a variação total dos danos de MMC. Já Mg e Zn estão mais associados aos danos de hiperplasia das brânquias. A atresia folicular e retração citoplasmática ovocitária foram associadas entre si, mas fracamente relacionadas aos metais, assim como também ocorreu entre micronúcleo e deslocamento do epitélio branquial, e entre fusão e congestão lamelar.

A associação dos melanomacrófagos aos metais é um dos dados mais relevantes dessa pesquisa, pois na literatura existem trabalhos que relacionam esse tipo de alteração em outros órgãos a metais e HPA's (MARTY et al., 2003 e FANALI et al., 2021; QUALHATO et al., 2018). Essa análise, portanto, através da ACP, mostra o aparecimento de melanomacrófagos em gônadas, sendo dados bem associados aos metais (Al, Fe, Cu e Pb), o que pode confirmar que os contaminantes podem ocasionar alterações hormonais, de reprodução e morfológicas nas gônadas de peixes (CORREIA et al., 2021; VAZZOLER, 1996).

O segundo resultado mais relevante é o aparecimento de alterações de hiperplasia lamelar correlacionado com magnésio e zinco, pois na literatura não existem dados sobre o malefício do acúmulo de magnésio em peixes e, devido o resultado da ACP, pode-se observar

que esse elemento está associado diretamente a essa alteração, juntamente com o zinco, que é um elemento que já foi bem abordado na literatura e que comprova que o seu excesso causa alterações nos órgãos respiratórios de peixes (PALANIAPPAN et al., 2008; SHARMA et al., 2021; SAYADI et al., 2020; TESSER et al., 2020). As demais alterações, embora relacionadas entre si, não estão associadas diretamente a nenhum metal, podendo estes resultados estarem mais associados aos HPA's ou a outros xenobióticos. Novas abordagens com esse enfoque podem ser realizadas no futuro por outras investigações, a fim de aprofundar o conhecimento sobre a relação entre o tipo de xenobiótico com a resposta biológica mais direta dos peixes.

5. CONCLUSÕES

Nesta pesquisa foram encontradas alterações reprodutivas e genotóxicas em exemplares de *Sciades herzbergii* que podem estar associadas ao aporte de contaminantes, especialmente pela relação de melanomacrófagos em gônadas associados aos metais (Al, Fe, Cu e Pb) que também foram identificados na água e no organismo dos animais coletados na baía de São José, na costa maranhense. Isto evidencia que a poluição, além de afetar o meio aquático natural (meio físico), pode prejudicar o desenvolvimento, a sanidade e a reprodução de *S. herzbergii*.

Os resultados da investigação aqui realizada sugerem que a relação de metais com o bagre *S. herzbergii* (que é uma espécie consumida localmente) pode representar risco à segurança alimentar para os seres humanos (pelas vias de biomagnificação, visto que os metais se acumulam nos tecidos dos peixes), sugerindo a necessidade de mais pesquisas cujos resultados contribuam com o monitoramento ambiental desta e de outras regiões da costa maranhense.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-SHAIFY, H.I.; MANSOUR, M.S.M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, p. 107–123, 2016.

AGAH H., LEERMAKERS M., ELSKENS M., FATEMI SMR Y BAEYENS W. 2009. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 157, p. 499-514, 2009.

AKAISHI, F. M. et al. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after water-borne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 244-253, 2004.

ALBINATI, A.C.L.; MOREIRA, E.L.T.; ALBINATI, R.C.B.; CARVALHO, J.V.; 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**, v. 61, p. 621-627, 2009.

ALBUQUERQUE, K.; SILVA, M.; AZEVEDO, J.; SOARES, L.; BANDEIRA, A.; SOARES, L.; CASTRO, A. Assessment of water quality and concentration of heavy metals in fishes in the estuary of the Perizes River, Gulf of Maranhão, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 186, p. 114420, 2023.

ALKIMIN, G.D. **Toxicidade de cádmio e zinco em Danio rerio: comparação entre valores permitidos em legislação para proteção da vida aquático e a potencial atuação como interferentes endócrinos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de São Paulo, Sorocaba, São Paulo, 2016.

ALMEIDA, M.; NASCIMENTO, D. V.; MAFALDA JR, P. O.; PATIRE, V.; ALBERGARIA BARBOSA, A. C. R. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of a Tropical Bay influenced by anthropogenic activities (Todos os Santos Bay, BA, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 137, p. 399-407, 2018.

ALMEIDA, M.D.V., Afonso, C.I.P.N. **Princípios Básicos de Alimentação e Nutrição**. Lisboa, Portugal: Universida-de Aberta, 1997.

ALMEIDA, S.F.; BELFORT, M.R.C.; CUTRIM, M.V.J.; CARVALHO-COSTA, L.F.; PEREIRA, S.R.F.; LUVIZOTTO-SANTOS, R. DNA damage in an estuarine fish inhabiting the vicinity of a major Brazilian port. Cellular and molecular biology, **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 93, 2021.

ALVES, EA; SANTOS, ES; MURITO,MMC; FINETE, VL., ALVES L.R. **Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde (Bioquímica)**, Fiocruz, cap. 1, arca.fiocruz.br, 2013.

AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 158-170, 2003.

ANKLEY, G.T.; BENCIC, D.C.; BREEN, M.S.; COLLETTE, T.W.; CONOLLY, R.B.; DENSLOW, N.D.; EDWARDS, S.W.; EKMAN, D.R.; GARCIA-REYERO, N.; JENSEN, K.M.; LAZORCHAK, J.M.; MARTINOVIĆ, D.; MILLER, D.H.; PERKINS, E.J.; ORLANDO, E.F.; VILLENEUVE, D.L.; WANG, R.L.; WATANABE, K.H. Endocrine disrupting chemicals in fish: developing exposure indicators and predictive models of effects based on mechanism of action. **Aquatic Toxicology**, v.92, p. 168-78, 2009.

ARANTES, F.P. *et al.* Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium, and lead in muscle, liver, and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n.1, p. 137-147, 2016.

ARELLANO, J.M.; BLASCO, J.; ORTIZ, J.B. Accumulation and histopathological effects of copper in gills and liver of Senegales Sole, *Solea senegalensis* and toad fish, *Halobatrachus didactylus*. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v.3, p.22-28, 2000.

ARIAS *et al.* Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Revista Ciência e saúde coletiva**, v. 12, p. 61-72, 2007.

ARIAS, A.R.L.; BUSS, D.F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A.F.; FREIRE, M.M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D.F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos, **Ciências e saúde coletiva**, v. 12, p. 61–72, 2007.

ARUKWE, A., NORDTUG, T., KORTNER, T. M., MORTENSEN A. S., BRAKSTAD, O. G.. Modulation of steroidogenesis and xenobiotic biotransformation responses in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to water-soluble fraction of crude oil. **Environmental Research**, p. 362-370, 2008.

ASTROS-FONSECA, I.R.; COMBARIZA-BAYONA, D.A. Formaldeído: revisão da bibliografia sobre biomarcadores de efeito para medir a exposição ocupacional. **Revista Facultad Nacional de Salud Pública**, v. 37, n. 3, p. 74-85, 2019.

ATCHISON, G. J.; HENRY, M. G.; SANDHEINRICH, M. B. Effects of metals on fish behavior: a review. **Environmental Biology of Fishes**, v. 18, n. 1, p. 11-25, 1987.

ATLI, G.; CANLI, M. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 1884-1889, 2010.

AU, D.W.T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marina pollution monitoring: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, pp. 817-834, 2004.

BAINY, A.C.D.; MEDEIROS, I.D.; MEZZARI, M.P.; VENTURA, E.; MULLER, I. C.; MARQUES, M.R.F. **Análise de biomarcadores bioquímicos de contaminação aquática em peixes coletados no litoral do Rio de Janeiro**. I Simpósio de monitoramento do ambiente marinho. Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, 1998.

BARBIERI, E.; PASSOS, E.A.; ARAGÃO, K.A.; SANTOS, D.B.; GARCIA, C.A. Assessment of Trace Metal Levels in Catfish (*Cathorops spixii*) from Sal River Estuary, Aracaju, State of Sergipe, Northeastern Brazil, **Water Environment Research**, v 82, n. 12, 2010.

BARBIERI, E.; CAMPOS-GARCIA, J.; MARTINEZ, D.; DA SILVA, J.; ALVES, O.; REZENDE, K. Histopathological Effects on Gills of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) Exposed to Pb and Carbon Nanotubes. **Microscopy and Microanalysis**, v. 22, p. 1162-1169, 2016.

BARLETTA, M.; BARLETTA-BERGAN, A.; SAINT-PAUL, HUBOLD, E.G.; Seasonal changes in density, biomass, and diversity of estuarine fishes in tidal mangrove creeks of the lower Caeté Estuary (northern Brazilian coast, east Amazon). **Marine Ecology Progress**, v. 256, p. 217-228, 2003.

BARLETTA, M., LIMA, A.R.A., COSTA, M.F., DANTAS, D.V. Estuarine ecoclines and the associated fauna: ecological information as the basis for ecosystem conservation, in: Costal Wetlands: **Alteration and Remediation**, pp. 479-512, 2017, DOI:10.3354/meps256217, 2017.

BARROS, D.F.; TORRES, M.F.; FRÉDOU, F.L. Ictiofauna do estuário de São Caetano de Odívalas e Vigia (Pará, Estuário Amazônico). **Biota Neotropica**, v. 11, p. 367-373, 2011.

BAWURO, A.A., VOEGBORLO, R.B., ADIMADO, A.A. Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria. **Journal of Environmental and Public Health**, p. 1–7, 2018.

BENOIT, D.A.; LEONHARD, E.N.; CHRISTENSEN, G.M. et al. Toxic effects of cadmium on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Transactions of the American Fisheries Society**, v.105, p.550-560, 2011.

BILANDZIC, N.; DOKIC, M.; SEDA, M. Metal content determination in four fish species from the Adriatic Sea. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1005-1010, 2011.

BILLAH, M.M.; KAMAL, A.H.M.; HOQUE, M.M.; BHUIYAN, M.K.A. Temporal distribution of water characteristics in the Miri estuary, east Malaysia, **Zoology and ecology**, v. 26, p. 134-140, 2016.

BIRUNGI, Z.; MASOLA, B.; ZRANYILKA, M.F.; NAIGAGA, I.; MARSHALL, B. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 32, p. 1350-1358, 2007.

BONGA, S.E.W; LOCK, R.A.C. **The osmoregulatory system**. In: DI GIULIO, R.T.; HINTON, D.E (Ed.). **The toxicology of fishes**. Boca Raton, FL: CRR Press, Taylor and Francis Group. P401-416, 2008.

BRASIL, 1965. **Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961 referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos**, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962 [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 jul. Available from: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2019/Decreto/D9917.htm#art1, 1965.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2005. **Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005** [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 set. Available from: <https://www.gov.br/agricultura/pt->

br/assuntos/inspecao/ produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-269-de-22-de-setembro-de-2005. pdf/view, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2013 [viewed 10 September 2022]. **Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013** [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 ago. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0042_29_08_2013.html, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2021 [viewed 10 September 2022]. **Instrução normativa nº 88, de 26 de março de 2021** [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 31 mar. Seção 1, pp. 226. Available from: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-88-de-26-de-marco-de-2021-31165559>, 2021.

BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F.; NESSIMIAN, J.L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, 465-473, 2003.

CABRAL, P.F.P.; SILVA, M.H.L.; SILVA, I.S.; CASTRO, A.C.L. Evaluation of Heavy Metals in Streams of the Bacanga and Cachorros Watersheds in São Luís, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 105, p. 299-306, 2020.

CAGNI, G.S.; PRAZERES, J.A.; LEAL, D.; CONSTANTIN, P.P.; SOUSA, C.; SILVA, C.R.; CONTE, H. Organismos bioindicadores de metais pesados: uma revisão. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.13, n.1, p.179-194, 2022.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, J. R. J. F.; MORENO, P. **Invertebrados aquáticos como Bioindicadores**. In: GOULART, E. M. A. (Ed.). **Navegando o Rio das velhas das Minas aos Gerais**. pp. 555–567. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

CAMARGO, M.M.; MARTINEZ, C.B. Histopathology of gills kidney and liver of a Neotropical fish caged in na urban stream. **Neotropical Ichthyology**. p. 5:327-226, 2007.

CAMARGO, M.M.P.; FERNANDES, M.N.; MARTINEZ, C.B.R. How aluminium exposure promotes osmoregulatory disturbances in the neotropical freshwater fish *Prochilus lineatus*. **Aquatic Toxicology**, v. 94, n. 1, p. 40-46, 2009.

CARRASCO, K.R.; TILBURY, K.L.; MYERS, M.S. Assessment of the Piscine Micronucleus Test as an in situ Biological indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123–2136, 1990.

CARROLA, J.; SANTOS, N.; ROCHA, M.J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A.; PARDAL, M.A.; MONTEIRO, R.A.; ROCHA, E. Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego, Douro and Ave estuaries—Portugal. **Environmental science and pollution research**, v. 21, p. 6057-6068, 2014.

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). **Brazilian Journal Oceanography**, v.58, p.11-17, 2010.

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

CASAGRANDE, C.A.; MOURA, J.M.S.; MARCONDES A. et al. Efeitos Naturais e Antrópicos nas Alterações dos Teores de Oxigênio Dissolvido: Uma Comparação Entre as Bacias do Rio Amazonas e Piracicaba. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 11, n. 4, p. 221-231, 2006.

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**, v. 70, p. 410-418, 2018.

CERVENY, D; TUREK, J; GRABIC, R.; GOLOVKO, O.; KOBÁ, O.; FEDOROVA, G.; GRABICOVA, K.; ZLABEK, V.; RANDAK, T. Young-of-the-year fish as a prospective bioindicator for aquatic environmental contamination monitoring, **Water Research**, v. 103, p. 334-342, 2016.

CHUA, E.M., FLINT, N.; WILSON, S.P.; VINK, S. Potential for biomonitoring metals and metalloids using fish condition and tissue analysis in an agricultural and coal mining region. **Chemosphere**, v. 202, p. 598-608, 2008.

CONAMA (2012) Conselho Nacional do Meio Ambiente [online]. **Resolução no 454, de 1 de Novembro de 2011**, available from: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2012/res_conama_454_2012_materialserdragadoemaguasjurisdicionaisbrasileiras.pdf. 2023.

CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº430, de Maio de 2011**, Complementa e altera a Resolução nº 357/2005.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº 357, DE 17 de Março de 2005, Publicada no DOU nº 053, de 18/03/2005**, págs. 58-63. Alterada pela Resolução 410/2009 e pela 430/2011.

CORREIA, T.G.; VIEIRA, V.A.R.O.; Moraes N.A.; Zampieri, R.A.; Floeter-Winter, L.M.; Moreira, R. G. Endocrine disruption caused by the aquatic exposure to aluminum and manganese in *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae) females during the final ovarian maturation. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: **Toxicology & Pharmacology**, v. 249, p. 109132, 2021.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2009.

COSTA, A.A.; BARRELLA, W. Ecologia de Ecossistemas Aquáticos e a Importância do Elemento Ferro (Fe)–Aspectos Teóricos e Roteiro de Atividade Prática de Laboratório para medir a concentração de Ferro (Fe) em solução aquosa. **Unisanta BioScience**, v. 4, n. 5, p. 7-17, 2015.

COTTA J.A.O., REZENDE M.O.O.; LANDGRAF M.D.; **Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a 87 determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados**. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, Brasil 2008.

CUI, B.; ZHANG, Q.; ZHANG, K.; LIU, X.; ZHANG, H. Analyzing trophic transfer of heavy metals for food webs in the newly-formed wetlands of the Yellow River Delta, China. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 1297-1306, 2011.

CUNHA, C.D.L.; SCUDELARI, A.C.; GONÇALVES, J.E.; MERCURI, E. Assessment of sanitary sewage pollution in the Paranaguá estuarine complex of Paranaguá, Brazil using environmental modeling. **Journal of Coastal Research**, p. 64: 912 – 916, 2011.

CUNHA, F.G. **Contaminação humana e ambiental por chumbo no Vale do Ribeira, nos estados de São Paulo e Paraná, Brasil**. 125f. Dissertação (Mestrado em Geociências) Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 2003.

CUNHA, RC. O nordeste do brasil: o estado do maranhão e suas formações socio espaciais. **Cadernos do Núcleo de Análises Urbanas**, v.8, n. 1, 133-152, 2015.

CUNHA, V.L.; SILVA, A.C.; FONTENELES-FILHO, A.A. Característica e dinâmicas das pescarias de lagosta do Brasil. **Arquivos de ciências do mar**, v. 47, p. 5-15, 2014.

DADZIE, S.; WANGILA, B.C.C. Reproductive biology, length-weight relationship and relative condition of pond raised Tilapia zilli (Gervais). **Journal of Fish Biology**, v. 17, n. 3, p. 243-253, 1980.

DALLINGER, R.; RAIMBOW, P.S. **Ecotoxicology of metals in invertebrates**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993.

DANG, Z.; LOCK, R.A.; FLIK, G.; BONGA, S.E.W. Metallothionein response in gills of Oreochromis mossambicus exposed to copper in fresh water. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, p. 320-R331, 1999.

DAVIES, P.H.; GOETTTL, JR. J.P.; SINLEY, J.R.; SMITH, N.F. Acute and chronic toxicity of lead to rainbow trout Salmo gairdneri, in hard and soft water. **Water research**, v. 10, p. 199–206, 1976.

DECHEN, A.R.; NACHTIGALL. **III- Elementos Requeridos à Nutrição de Plantas**. SBSCS, Embrapa Grape & Wine, 2007.

DECRETO Nº 55871, DE 26 DE MARÇO DE 1965. Modifica o **Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961 referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962** [online] available from:http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato20192022/2019/Decreto/D9917.htm#art1.

DEMAYO, A. **Cádmio**. In: **Guidelines for surface water quality: inorganic chemical substances**. Ottawa: Environmental Canada, v. 1, p. 55, Doi: doi.org/ 10.1002/0470867132, 2003, 1981.

DOUBEN, P.E.T. PAH: An Ecotoxicological Perspective. Sharnbrook, Bedford, UK, ISBN 0 471 97265 7, SBN 0-471-56024-3 (alk. paper) 1. Polycyclic aromatic hydrocarbons–Toxicology. 2. Polycyclic aromatic hydrocarbons–Environmental aspects. I. Douben, Peter E. T. II. **Ecological & environmental toxicology series**. p. 406, 2003.

DEER, W.A.; HOWIE, R.A.; ZUSSMAN, J. **Minerais constituintes das rochas: uma introdução**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 727 , 2008.

DUARTE, H.A. IRON - A STRATEGIC CHEMICAL ELEMENT THAT PERMEATES HISTORY, ECONOMY AND SOCIETY, **Química Nova**, v. 42 p.10, 2019.

EFSA. **Tolerable Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals-Scientific Committee on Food/Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition, Allergies**. Bruxelas, Bélgica: EFSA, 2006.

EFSA. NDA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, 2015. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iron. **EFSA Journal** , v. 13 cap.10, p.115, 2015a, doi:10.2903/j.efsa.2015.4254, 2015.

ERSOY, B.; CELIK, M. The essential and toxic elements in tissues of six commercial demersal fish from Eastern Mediterranean Sea. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 1377-1382, 2010.

ESMAEILBEIGI, M.; MOGHADDAM, J.A.; SEYEDI, J.; TAYEMEH, M.B.; KALBASSI, M.R. Intra and extracellular effects of benzo [α] pyrene on liver, gill and blood of Caspian White fish (*Rutilus frissi kutum*): Cyto-genotoxicity and histopathology approach. **Marine Pollution Bulletin**, v. 163, 2021.

EXLEY, C. Darwin, natural selection and the biological essentiality of aluminium and silicon. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 34, p. 589-593, 2009.

FAKHRI, Y.; SAHA, N.; MIRI, A.; BAGHAEI, M.; ROOMIANI, L.; GHADERPOORI, M.; BAY, A. Metal concentrations in fillet and gill of parrotfish (*Scarus ghobban*) from the Persian Gulf and implications for human health. **Food Chemical Toxicology**, v. 118, p.348–354, 2018.

FANALI, L.Z.; OLIVEIRA, C.E. Exposure of *Physalaemus cuvieri* (Anura) to benzo[a]pyrene and α-naphthoflavone: Morphofunctional effects on hepatic melanomacrophages and erythrocytes abnormalities. **Environmental Pollution**, v. 285, p. 117526, 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization [online] **Compilation of Legal Limits for Hazardous Substance in Fish and Fish and Fishery Products (Food and Agricultural Organization)**. FAO Fishery circular, No. 464, pp. 5-100, available from: <https://www.fao.org/3/u2987e/u2987e.pdf>, 1983.

FAO - Food and Agriculture Organization [viewed 10 September 2022] [online] **Heavy Metals Regulations Legal Notice No 66/2003**. FAO, Rome, available from: <https://www.informea.org/en/legislation/heavy-metals-regulations-ln-no-66-2003>.

FAO. **Food And Agriculture Organization of the United Nations**. WORLD REVIEW https://www.fao.org/3/ca9229en/online/ca9229en.html#chapter-1_1, 2020

FEITOSA, LLA; BARROS, MC; ALMEIDA, ZS. MANEJO TRADICIONAL DA PESCA NA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DO DELTA DAS AMÉRICAS. **Revista Brasileira de Educação Ambiental**, v. 14, p. 305-322, 2019.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, 2000.

FENECH, M.; KIRSCH-VOLDERS, M.; NATARAJAN, A.T.; SURRALLS, J.; CROTT, J. W.; PARRY, J.; Thomas, P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, p. 125-132, 2011.

FERRARI, J.E.C.; BARROS, M.C.; PEZZATO, L.E.; GONÇALVES, G.S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G.K. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 4, p. 429-436, 2004

FERREIRA, A.P.M. **Método eletroanalítico alternativo para análise de hpa's (acenafteno e naftaleno) em água subterrânea de posto de combustível**. Tese (doutorado em biodiversidade e biotecnologia), Programa de Pós Graduação de Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte, na Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2021

FERREIRA, A.J.; PARDAL, J.; MALTA, M.; FERREIRA, C.S.; SOARES, D.D.; VILHENA, J. Improving urban ecosystems resilience at a city level the Coimbra case study. **Energy Procedia**, v. 40, p. 6-14, 2013.

FERREIRA, A.P.M.; TEIXEIRA, E.J.N.; OLIVEIRA, I.M.D.; PINHEIRO, H.A.D.; MARQUES, A.L.B. New voltammetric method for determination of phenanthrene in groundwater. **Periodico Tche Quimica**, v. 16, n. 33, p. 169-177, 2019.

FERREIRA, H.R.S.; CASTRO, A.C.L.; CUTRIM, M.V.J.; OLIVEIRA, V.M. Composition and spatiotemporal distribution of benthic macrofauna in a macrotidal estuary on the Amazonian Coast of the State of Maranhão, Brazil, **Ocean and Coastal Research**, v.68, 2020.

FERREIRA, J.T; SCHOONBEE, HJ; SMIT, GL. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. **Journal of Fish Biology**, v. 25, p. 35-41, 1984.

FREITAS, C.E.C.; SIGUEIRA-SOUSA, F.K.O uso de peixes como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia amazônica. **Revista agrogeoambiental**, v. 1, n. 2, 2009.

FREITAS, R. A.; CORREA, K. D. M.; TAVARES, M. G. D. O.; OLIVEIRA, G. M.C.; CINTRA, A.; RICIOLE, H.; NUNES, I. FAGUNDES, J.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Avaliação das brânquias de *Danio rerio* expostos a diferentes concentrações de gasolina e diesel. Pesticidas, **Revista ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 23, p. 59-66, 2013.

FIGUEIREDO, B.R.; CAPITANI, E.M.D.; ANJOS, J.Â.S.; LUIZ-SILVA, W. **Chumbo, ambiente e saúde: o desafio do controle da exposição humana. In Chumbo, ambiente e saúde: o desafio do controle da exposição humana**, p. 271-271, 2012.

GACHANJA N.A.; MARITIM, P.K. **Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos Determinação**, Enciclopédia de Ciência Analítica (Terceira Edição) 2019 , páginas 328-340, 2016, doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14107-1

GARCÍA-LESTÓN, J.; MÉNDEZ, J.; PÁSARO, E.; LAFFON, B. Genotoxic effects of lead: an updated review. **Environment International**, v. 36, p. 623–636, 2010,

GARCÍA-MEDINA, S.; RAZO-ESTRADA, C.; GALAR-MARTINEZ, M.; CORTÉZ-BARBERENA, E.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, I.; MADRIGAL-BUJADAR, E. Genotoxic and cytotoxic effects induced by aluminum in the lymphocytes of the common carp (*Cyprinus carpio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 153, p. 113-118, 2011.

GESAMP- Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. **Estimates of oil entering the marine environment from sea-based activities**. Rep. Stud. GESAMP v. 75 , p.96, 2007.

GOETTEMES, P.B.; SALAMONI, B.; BALDISSERA, F.G.; LUDWIG, M.S.; HECK, T.G. Poluição atmosférica: biomarcadores dos efeitos nocivos à saúde. **Salão do Conhecimento**, 2013.

GRIFFITH, M.B.; NORTON, S.B.; ALEXANDER, L.C.; POLLARD, A.I.; LEDUC, S.D. The effects of mountaintop mines and valley fills on the physicochemical quality of stream ecosystems in the central Appalachians: a review. **Science of the Total Environment**, v. 417, p. 1-12, 2012.

GRISOLIA, C.K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 518, n. 2, p. 145-150, 2002.

GROSELL, M.; NIELSEN, C.; BIANCHINI, A. Sodium turnover rate determines sensitivity to acute copper and silver exposure in freshwater animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 133, p. 287-303, 2002.

HANDY, R.D. Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 135, p. 25-38, 2003.

HASSELGREN, C.; AHLBERG, E.; AKAHORI, Y.; AMBERG, A.; ANGER, L.T.; ATIENZAR, F.; MYATT, G.J. Genetic toxicology in silico protocol. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 107, p. 104403, 2019.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. Lewis Publishers, v. 2, 1995.

HINTON, D.E.; BAUMANN, P.C.; GARDNER, G.R.; HAWKINS, W.E.; HENDRICKS, J.D.; MURCHELANO, R.A.; OKIHIRO, M.S. histopathologic biomarkers. in: 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.

HUGGETT, R.J. **Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress.** CRC Press, 2018

IGER, Y.; JENNER, H.A.; BONGA, S.E.W. Celular responses in the skin of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Rhinewater. **Journal of Fish Biology**, v. 45, p. 1119-1132, 1994.

NRIAGU, J. Zinc Toxicity in Humans. Nriagu, J. (editor). **Encyclopedia of Environmental Health** (Second Edition). Elsevier, Pages 500-508, ISBN 9780444639523, doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11836-6, 2019.

JESUS, R.S. **Metais traço em sedimentos e no molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791), municípios de madre de deus e de Saubara, Bahia.** Dissertação (Mestrado em Geoquímica), Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia. p.100, 2011.

JUAN, J.V.M.; Galindo-Riaño, M.D.; ManuelGarcía-Vargas, M.G.; Granado-Castro, M.D. Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediments and fish species from a polluted estuary, **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, 2009.

JÚNIOR, P.V.; BASTOS, A.,C.; QUARESMA, V.S. Morfologia e distribuição sedimentar em um sistema estuarino tropical: Baía de Vitória, ES. **Revista Brasileira de Geofísica**, v.27, 2009.

KHAN, G.B; AKHTAR, N; KHAN, M.F.K; ULLAH, Z; TABASSUM, S., TEDESSE, Z. Toxicological impact of Zinc Nano Particles on tilapia fish (*Oreochromis mossambicus*), **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, p. 1221-1226, 2022.

KIDA, B.M.S., ABDALLA, R.P., MOREIRA, R.G. Effects of acidic water, aluminum, and manganese on testicular steroidogenesis in *Astyanax altiparanae*. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, p. 1347-1356, 2016

KIME D. The effects of pollution on reproduction in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.5, p.52-96, 1995.

KRUMME U; MATTHIAS B. Spring-neap cycle as a major driver of temporal variations in feeding of intertidal fishes: Evidence from the sea catfish *Sciades herzbergii* (Ariidae) of equatorial west Atlantic mangrove creeks, **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 367, p. 91–99, 2008.

KRUMME, U.; SAINT-PAUL, U.; ROSENTHAL, H. Tidal and diel changes in the structure of a nekton assemblage in small intertidal mangrove creeks in northern Brazil. **Aquatic Living Resources**, v. 17, p. 215-229, 2004.

LEE, J. D. **Química Inorgânica não Tão Concisa.** 5. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2000.

LEMOS, C.T.; RODEL, P.M.; TERRA, N.T.; OLIVEIRA, N.C.D.; ERDTMANN, B. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, p. 391-401, 2007.

LI, J.; HUANG, Z. Y.; HU, Y.; YANG, H. Potential risk assessment of heavy metals by consuming shellfish collected from Xiamen, China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 2937-2947, 2013.

LIONETTO, M.G.; CARICATO, R.; CALISI, A.; GIORDANO, M. E.; SCHETTINO, T. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. **BioMed research international**, 2013.

LIU, P.; HU, W.; TIAN, K.; HUANG, B.; ZHAO, Y.; WANG, X.; KHIM, J. S. Accumulation and ecological risk of heavy metals in soils along the coastal areas of the Bohai Sea and the Yellow Sea: A comparative study of China and South Korea. **Environment international**, v. 137, p. 105519, 2020.

LOGAN, D. T. (2007). Perspective on ecotoxicology of PAHs to fish. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 13, p. 302-316, 2007.

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

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

MARTY, G.D.; HOFFMANN, A.; OKIHIRO, M.S.; HEPLER, K.; HANES, D. Retrospective analysis: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. Exxon Valdez, **Marine Environmental Research**, v. 56, p. 569-584, 2003.

MASOOD, Z.; GUL, Y.; GUL, H.; ZAHID, H.; KHAN, M.A.; HASSAN, H.U.; ULLAH, A. Assessments of some trace metals in water samples of nursery pond of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*, Valenciennes, 1844) in Bannu Fish Hatchery of Khyber Pakhtunkhwa, **Pakistan Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e245199, 2021.

MATOVIC, V.; BUHA, A.; BULAT, Z.; DUKI, D. Cadmium toxicity revisited: focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium, **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 62, p. 65–76, 2011.

MCCARTHY, J.F.; SHUGART, L.R. **Biomarkers of Environmental Contamination**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1990.

MCGLASHAN, D.J.; HUGHES, J.M. Genetic evidence for historical continuity between populations of the Australian freshwater fish *Craterocephalus stercusmuscarum* (Atherinidae) east and west of the Great Diving Range. **Journal of Fish Biology**, v. 59, p. 55-67, 2001.

MEDEIROS, A. M. Z.; CÔA, F.; ALVES, O. L.; MARTINEZ, D. S. T.; BARBIERI, E. Metabolic effects in the freshwater fish *Geophagus iporangensis* in response to single and combined exposure to graphene oxide and trace elements. **Chemosphere**, v. 243, 125316, 2020.

MEHRA, S.; CHADHA, P. Naphthalene-2-sulfonate induced toxicity in blood cells of freshwater fish *Channa punctatus* using comet assay, micronucleus assay and ATIR-FTIR approach, **Chemosphere**, v. 265, 2021.

MENDIL, D.; ULUÖZLÜ, Ö. D. Determination of trace metal levels in sediment and five fish species from lakes in Tokat, Turkey. **Food chemistry**, v. 101, n. 2, p. 739-745, 2007.

MILAZZO, A.D.D. **Biodisponibilidade e bioconcentração de metais em ecossistema manguezal do estuário do Rio São Paulo, Baía de Todos os Santos**, Bahia, Brasil. Dissertação (Mestrado em Geoquímica), Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio ambiente, Universidade Federal da Bahia, p.89, 2011.

MINEROPAR. Minerais do Paraná S.A. **Geouímica do solo do estado do Paraná- Horizonte B**. Relatório final do projeto. Curitiba-Mineropar, 2005.

MOHIUDDIN, M.; HOSSAIN, M. B.; ALI, M. M.; HOSSAIN, M. K.; HABIB, A.; SEMME, S. A., ARAI, T. Human health risk assessment for exposure to heavy metals in finfish and shellfish from a tropical estuary. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, p. 102035, 2022.

MONTANHA, F.P.; PIMPÃO, C.T. Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes-Revisão. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v. 9, n. 18, p. 1-58, 2012.

SILVA, M.C.P.; L.F.; NUNES, B.; NUNES, Z.M.P.; FERREIRA, M.A.P.; ROCHA, R.M. Investigating spatial-temporal contamination for two environments of the Amazon estuary: A multivariate approach. **Marine Environmental Research**, p. 105883, 2023.

MORAES, F.D. **Respostas bioquímicas, genotóxicas, fisiológicas e histológicas de matrixã (*Brycon amazonicus*, Spix; Agassiz 1829) expostos à cipermetrina (Galgotrin)**. 2013, p. 147. Tese (doutorado). Genética evolutiva e biologia molecular. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

MORAES, R.; PFEIFFER, W.; TEIXEIRA, A.B.V. **Efeitos de Poluentes em Organismos Marinhos**. São Paulo: Arte & Ciência, p. 288, 2001.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde, **Revista Panam Salud Publica**. v. 15, p.119–29, 2004.

NASCIMENTO, R.C.M, COSTA, C.R.C, MAGAROTTO, M.G, SANTOS SILVA-CAVALCANTI, J.S., COSTA, M.F. Qualidade da água de três estuários tropicais expostos a diferentes níveis de urbanização. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 20, p. 169-178, 2020.

NRC- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Fish**. 2 ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1993. 115 p.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Oil in the Sea - inputs, fates and effects.** Second ed. Washington: National Academy Press, 2003.

NOAA - National oceanic and atmospheric administration [ONLINE]. **Screening quick**, p. 1-34, 2015.

NOLETO, K.S.; OLIVEIRA, S.R.S.; LIMA, I.M.A.; JESUS, W.B.; CASTRO, J.S.; SANTANA, TC.; CARVALHO, -NETA, R.N.F. Biomarcadores bioquímicos e histológicos em *Crassostrea* sp. (Bivalvia, Ostreidae) para monitoramento ambiental de uma Área Estuarina Neotropical (Baía de São José, Nordeste do Brasil). **Boletim de Contaminação Ambiental e Toxicologia**, v. 106, p. 614-621, 2021.

NOLETO, K.S.; MENDES, D.C.S.; CARVALHO, I.F.S.; RIBEIRO, D.L.S.; SANTOS, D.M.S.; FERREIRA, A.P.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S. Aquatic pollutants are associated with reproductive alterations and genotoxicity in estuarine fish (*Sciades herzbergii* - Bloch, 1794) from the Amazon Equatorial Coast, **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, e267996, 2022.

NOVAES, G.H.C.F.; AURELIANO, B.C.; FRAGOSO-MOURA, E.N.; CAVALVANTE, W., FRACÁCIO, R. Toxicidade dos metais níquel e cobre s sua possível atuação como interferentes endócrinos em ambientes aquáticos. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 48, pp. 128-141, 2018.

NTIFORO, A.; DOTSE, S.Q.; GYAMPO, M.A. Preliminary studies on bioconcentration of heavy metals in Nile tilapia from Tono Irrigation facility. **Research Journal in Engineering and Applied Sciences**. Tech 4, p. 5040-5047, 2012.

NUNES K.Z., FIORESI, M. Efeitos tóxicos cardiovasculares do cobre. **Salus Journal of Health Sciences**, v. 2, p.30-8, 2016.

OBUCHI, A.; AOYAMA, H.; OHI, A.; OHUCHI, H. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust particulate matter and diesel fuel oil. **Journal of Chromatography**, v. 312, p. 247-259, 1984.

OECD – Organisation For Economic Co-Operation and Development. **Guidance document on the diagnosis of endocrine-related histopathology in fish gonads.** Series on Testing and Assessment: Testing for Endocrine Disrupters, 114p., N° 123 Paris: OECD, 2010.

OLIVEIRA, J.G.D.; POLETO, M. Drying Characteristics and Heavy Metal Levels in Three Marine Fishes Commercialized in Brazil, **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.6, n.10,p.76897-76912, 2020.

OLIVEIRA, L.F.; MARTINEZ, C.B.R. **Uso da biota no monitoramento da qualidade de ecossistemas aquáticos contaminados por metais.** In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, Londrina, Disponível em: <http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2011/VI011.pdf>. Acesso em: 2 set. 2015, 2011.

OLIVEIRA, R.C.B.; MARINS, R.V. Dinâmica de Metais-Traço em Solo e Ambiente Sedimentar Estuarino como um Fator Determinante no Aporte desses Contaminantes para o Ambiente Aquático: Revisão, **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 88-102, 2011.

OLIVEIRA, V.M.; ASSIS, C.R.D.; COSTA, H.M.S.; SILVA, R.P.F.S.; SANTOS, J.F.; CARVALHO, L.B.; CARVALHO-JUNIOR, R.S.B. Aluminium sulfate exposure: A set of effects on hydrolases from brain, muscle and digestive tract of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 191, p. 101-108, 2017.

PADIAL, P.R. **Qualidade, heterogeneidade e disponibilidade de metais no sedimento de um reservatório tropical urbano eutrofizado (Reservatório. Guarapiranga, SP).** Dissertação (mestrado de ecologia). Apresentada ao programa de pós graduação universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

PALANIAPPAN, P.L.; SABHANAYAKAM, S.; KRISHNAKUMAR, N.; VADIVELU, M. Morphological changes due to lead exposure and the influence of DMSA on the gill tissues of the freshwater fish, *Catla catla*. **Food Chemical Toxicology**, v. 46, p.2440-2444., 2008.

QUALHATO, G.; 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.

PAPAGIANNIS, I.; KAGALOU, I.; LEONARDOS, J.; PETRIDIS, D.; KALFAKAKOU, V. Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). **Environment international**, v. 30, p. 357-362, 2004.

PAULA, A.A.; RISSO, W.; MARTINEZ, C.B.R. Effects of copper on an omnivorous (*Astyanax altiparanae*) and a carnivorous fish (*Hoplias malabaricus*): A comparative approach. **Aquatic Toxicology**, v. 237, 2021.

PEREIRA, C. S.; RODRIGUES, M. O. S.; BARROS, C. L. S.; ALMEIDA, B. L. N.; DIOGO, M. L. S. A. Identificação de impactos ambientais provocados pelo lançamento de resíduos sólidos e líquidos no Rio Itapecuru. **Nature and Conservation**, v.13, n.2, p.58-66, 2020.

PERRY, S.F. The chloride cell: structure and functions in the gills of freshwater fishes. **Annual review of physiology**, v. 59, p.325-347 1997.

PINHEIRO, J.P.S.; ASSIS, C.B.; MUÑOZ-PEÑUELA, M.; JÚNIOR, F.B.; CORREIA, T.G.; MOREIRA, R.G. Water temperature and acid pH influence the cytotoxic and genotoxic effects of aluminum in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). **Chemosphere**, v. 220, p. 266-274, 2019.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; SOARES, S.H.C.; TORRES, H.S.; JESUS, W.B.; 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**, v. 208, 2021.

POLARD, T., JEAN, S., MERLINA, G., LAPLANCHE, C., PINELLI, E. & GAUTHIER, L. Giemsa versus acridine orangestaining in the fish micronucleus assay and validation for use in water quality monitoring. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 144-149, 2011.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fishi gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. (Eds.). **Sblethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Oxford: fishing news books, 1994.

PROSI, F. Factors controlling biological availability and toxic effects of lead in aquatic organisms. **The Science of Total Environment**, v. 79, p. 157–169, 1989.

RAJ, P.R.S.; VISWANATHAN, P.M. Occurrence and distribution of geochemical elements in Miri estuary, NW Borneo: Evaluating for processes, sources and pollution status, **Chemosphere**, v. 316, p. 137838, 202.

RAJESHKUMAR, S.; LI, X. Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. **Toxicology reports**, v. 5, p. 288–295, 2018.

RAMSDORF, W. A.; VICARI, T.; DE ALMEIDA, M. I.; ARTONI, R. F.; CESTARI, M. M. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, p. 5841-5849, 2012.

RERHIEVWIE, G.O.; AKPOGHELIE, J.O. Assessment of the bioaccumulation and the excretion rate of Cd, Zn and Pb in blood, kidney and liver of an African catfish juvenile in an artificial fish pond. **International Journal of Sciences**, p. 2319-7064, 2015.

RAHMAN, M.E.; MOLLA, A.E.; SAHA, N.; RAHMAN, A. Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. **Food chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1847-1854, 2012.

RIBEIRO, E.V.; MAGALHÃES-JR, A.P.; HORN, A.H.; TRINDADE, W.M. Metais pesados e qualidade da água do rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora, M.G.: índice de contaminação. **Geonomos**, v. 20, p. 49-63, 2012.

RIBEIRO, E.B.; NOLETO, K.S.; OLIVEIRA, S.R.S.; JESUS, W.B.J.; SOUSA SERRA, I.M.R.; ALMEIDA, Z.D. S.; NETA, R.N.F.C. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 111348, 2020.

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

ROBERT, A. Goyer and Thomas W. Clarkson. **Toxic effects of metals, HAPTER 23**, by The McGraw-Hill Companies, 2001.

RODRIGUES, M.A.; SILVA, P.P.; GUERRA, Wl. Cobre. **Química nova na escola**, v. 34, n. 3, p. 161-162, 2012.

RODRIGUES, M.L.A. **Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* da Bacia do Rio Doce, três anos após rompimento da barragem de rejeitos em Mariana–MG**. Dissertação (Biológia animal), apresentada à Universidade Federal de Viçosa, Pós-Graduação em Biologia Animal, 2021.

RODRIGUES, G.Z.P.; MACHADO, A.B.; GEHLEN, G. Influência de metais no comportamento reprodutivo de peixes, revisão bibliográfica, Revista GEAMA –Ciências Ambientais e Biotecnologia. **Scientific Journal of Environmental Sciences and Biotechnology**, v. 5, p. 04-13, 2019.

ROTH, H.; KIRCHGAESSNER, M. **Zink, biochemie, physiologie, pathophysiologie und klinik des stoffwechsels des menschen**. In: Roth, H.; KIRCHGAESSNER H. J. M.; HOLTMEIER, J. Kruse-Jarres (Ed.). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, p. 67–101, 1991.

SACHI, I.T.C.; BONOMO, M.M.; SAKURAGUI, M.M.; MODENA, P.Z.; PAULINO, M.G.; CARLOS, M.C.; FERNANDES, J.B.; FERNANDES, M.N. Biochemical and morphological biomarker responses in the gills of a Neotropical fish exposed to a new flavonoid metal-insecticide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, 2021, doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111459, 2021.

SAKURAGUI, M.M.; PAULINO, M.G.; SOUZA, N.E.D.S.; TAVARES, D.; TEREZAN, A.P.; PESENTI, E.; FERNANDES, M.N. Crude extract of cyanobacterium *Radiocystis fernandoi* strain R28 induces anemia and oxidative stress in fish erythrocytes. **Toxicon**, v. 169, p. 18-24, 2019.

SALMASI, F., ABRAHAM, J. e SALMASI, A. Efeito de vertedouros escalonados no aumento do oxigênio dissolvido na água, um estudo experimental. **Jornal de Gestão Ambiental**, v. 299, p. 113600, 2021.

SANTANA, L.M.B.M.; LOTUFO, L.V.C.; ABESSA, D.M.S.A contaminação antrópica e seus efeitos em três estuários do litoral do Ceará, Nordeste do Brasil – revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 48, n. 2, p. 93-115, 2015.

SANTOS, A.A.; EGAMI, M.I.; T; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; JULIANO, Y. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): Seasonal variation, sex and gonadal maturation. **Aquaculture**, 296:3-4., 2009.

SARATHY, Palanivel Partha et al. Seasonal carbonate system vis-à-vis pH and Salinity in selected tropical estuaries: Implications on polychaete diversity and composition towards predicting ecological health. **Oceanologia**, v. 64, n. 2, p. 346-362, 2022.

SAS- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **System for Microsoft Windows: release 8.2**. Cary: 2001. 1 CD-ROM.

SAYADI, M. H.; MANSOURI, B.; SHAHRI, E.; TYLER, C.R.; SHEKARI, H.; KHARKAN, J. Exposure effects of iron oxide nanoparticles and iron salts in blackfish (*Capoeta fusca*): Acute toxicity, bioaccumulation, depuration, and tissue histopathology. **Chemosphere**, v. 247, p. 125900, 2020.

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

SHAH, F.; KAZI T.G.; AFRIDI, H.I.; KAZI, N.; BAIG, J.A.; SHAH, A.Q.; KHAN, S.; KOLACHI, N.F.; WADHWA, S.K. Evaluation of status of trace and toxic metals in biological

samples (scalp hair, blood, and urine) of normal and anemic children of two age groups. **Biological Trace Element Research**, v.141, p. 131-149, 2011.

SHARMA, D.; GANDOTRA, R.; DHIMAN, S.K.; ARIF, M.; DOGRA, A.; LONE, A.; CHOUDHARY, P. Ultrastructural biomarker responses in gill tissues of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) through SEM after exposure to zinc sulphate. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 47, p. 157-162, 2021.

SHUGART, L. Molecular markers to toxic agents. In: NEWMAN, MC; JAGOE, CH, (editors). **Ecotoxicology: a hierarchial treatment**. Boca Raton, USA: CRC Press; 1996. p. 133–61.

SUEIRO, M.C.; PALACIOS, M.G.; TRUDEAU, V.T.; SOMOZA, G.M.; AWRUCH, C.A. Anthropogenic impact on the reproductive health of two wild Patagonian fish species with differing reproductive strategies, **Science of The Total Environment**, v. 838, 2022.

PINHATI, V.R.; ALLGAYER, M.; BREYER, A.; PEREIRA, R.; SILVA, J. Determinação de danos basais no DNA de araras canindé (*Ara ararauna*) através do Teste de Micronúcleos: uma ferramenta na avaliação da saúde animal e seu uso no biomonitoramento da poluição ambiental. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 313-317, 2006.

SILVA, C.A.D.S.; GARCIA, C.A.B.; SANTANA, H.L.P.; PONTES, G.C.D.; WASSERMAN, J.C.; COSTA, S.S.L.D. Metal and metalloid concentrations in marine fish marketed in Salvador, BA, northeastern Brazil, and associated human health risks. **Regional Studies in Marine Science**, v. 43, p. 101716, 2021.

SILVA, D.A.; BUZITIS, J.; KRAHN, M.M.; BÍCEGO, M.C.; PIRES-VANIN, A.M.S. Metabolites in bile from São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil as biomarkers of exposure to petrogenic polycyclic aromatic compounds. **Marine Pollution Bulletin** v. 52, p. 175-183, 2006.

SILVA, M.H.L.; CASTRO, A.C.L.; SILVA, I.S.; CABRAL, P.F.P.; AZEVEDO, J.W.J.; SOARES, L.S.S.; BANDEIRA, A.M.; BASSO, M.J.; NUNES, J.L. Determination of metals in estuarine fishes in a metropolitan region of the coastal zone of the Brazilian Amazon, **Marine Pollution Bulletin**, v. 186, p.114477, 2023.

SILVA, M.H.L.S. **Avaliação da qualidade ambiental do golfo maranhense por meio de variáveis biológicas, químicas e físico-químicas**. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia), apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, 2019.

SIMONATO, J.D.; MELA, M.; DORIA, H.B.; GUILOSKI, I.C.; RANDI, M.A.; CARVALHO, P.S.; MARTINEZ, C.B. Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Aquatic toxicology**, v. 170, p. 31-41, 2016.

SINCLAIR, A.; TAYLER, K.; VAN DAM, R.; HOGAN, A. Site-specific water quality guidelines: 2. Development of a water quality regulation framework for pulse exposures of mine water discharges at a uranium mine in northern Australia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 1, p. 131-140, 2014.

SINGH, M.; BARMAN, A.S.; DEVI, A.L.; DEVI, A.G.; PANDEY, P.K. Iron mediated hematological, oxidative and histological alterations in freshwater fish *Labeo rohita*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 170, p. 87-97, 2019.

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

SOUZA, G.R.; GARCEZ, M.A.P.; SANTOS, V.C.G.; SILVA, D.B.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D.C. Quantificação de metais pesados em peixes de um pesqueiro localizado na cidade de Umuarama. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 12, n. 1, p. 61-66, 2009.

SOUZA, I. C.; DUARTE, I. A. N. D.; PIMENTEL, N. Q.; ROCHA, L. D.; MOROZESK, M.; BONOMO, M. M.; AZEVEDO, V. C.; PEREIRA, C. D. S.; MONFERRÁN, M. V.; MILANEZ, C. R. D.; MATSUMOTO, S. T.; WUNDERLIN, D. A.; FERNANDES, M. N. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. **Environmental Pollution**, v. 180, p. 136-144, 2013.

SOUZA, T.S.; FONTANETTI, C.S. Micronucleus test and observation of nuclear alteration in erythrocytes of Nile tilapia exposed to Waters affected by refinery effluent. *Mutation Res. Genétic toxicologic and Evironmental mutagenesis*, v. 605, p. 87-93, 2006.

SANTOS, M.L.S.; ALVES, I.C.C.A.; BORDALO, A.O.; CORREIA DE MELO, N.F.A.; PALHETA, G.D.; SOUZA, R.A.L. **Ecosistemas aquáticos**. Tópicos Especiais, Cap. II, POLUIÇÃO AQUÁTICA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Editora Associada a Associação Brasileira das Editoras Universitárias, ISBN: 978-85-7295-130-2, 2018.

STATSOFT, INC. **Statistica (data analysis software system) version 7**. Tulsa: Statsoft. Inc., 2007.

TAO, Y.; YUAN, Z.; XIAONA, H.; WEI, M. Distribution and bioaccumulation of heavy metals in aquatic organisms of different trophic levels and potential health risk assessment from Taihu lake, China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 81, p. 55-64, 2012.

TAPIA, J.; CHACOFFL, V.; BERTRÁN, C.; CORTÉS, F.P.; HAUENSTEIN, E.; SCHLATTER, R.; JIMÉNEZ, C.; TAPIA, C. Heavy metals in the liver and muscle of *Micropogonias* mannis from Budi Lake, Araucania Region, Chile: potential risk for humans. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, p. 3141-3151, 2012.

TESSER, M.E.; DE PAULA, A. A.; RISSO, W. E.; MONTEIRO, R.A.; PEREIRA, A.D.E.S.; FRACETO, L.F.; MARTINEZ, C.B.R. Sublethal effects of waterborne copper and copper nanoparticles on the freshwater Neotropical teleost *Prochilodus lineatus*: A comparative approach. **Science of the total environment**, v. 704, p. 135332, 2020.

TETREAULT, G.R.; BENNETT, C.J.C.; SHIRES, K.; CAVALEIRO, B.; SERVOS, M. R.; MCMASTER, M.E. Intersex and reproductive impairment of wild fish exposed to multiple municipal wastewater discharges. **Aquatic Toxicology**, v. 104, p. 3–4, 2011.

TIBURTIUS E.R.L.; PERALTA-ZAMORA P.; LEAL, E.S. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados Contamination of waters by BTXs and processes used in the remediation of contaminated, **Revisão, Química Nova** v. 27, 2004.

UDROIU, I. The micronucleustest in piscineerythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, p. 201-204, 2006.

UNEP, **Intergovernmental oceanographic commission. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments**. N° 20, Unesco, 1992.

UNESCO. **Estuaries: A Lifeline of Ecosystem Services in the Western Indian Ocean**. **Nairobi**: UNESCO Regional Office for Eastern Africa. 133p. ISBN 978-9966-1993-3-3, 2017.

USEPA - UNITED STATES. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. OFFICE OF WATER REGULATIONS. **Technical support document for water quality-based toxics control. Office of Water Enforcement and Permits, Office of Water Regulations and Standards**, US Environmental Protection Agency, 1984.

USEPA - Environmental Protection Agency. **A Field-Based Aquatic Life Benchmark for Conductivity in Central Appalachian Streams**. Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC EPA/ 600/R-10/023F, 2011.

VALENTE, D.; COSTA-AMARAL, I.C.; DE CARVALHO, L.V.B.; DOS SANTOS, M.V.C.; DE CASTRO, V.S.; RODRIGUES, D.; LARENTIS, A.L. Use of genotoxicity biomarkers and gene expression on the evaluation of gas station attendants exposed to gasoline fumes. **Revista Brasileira de Saude Ocupacional**, v. 42, 2017.

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

VAROL, M.; KAÇAR, E.; SÜNBÜL, M.R.; ISLAM, A.R.M.T. Levels of metals and elements in tissues of fish species in the Kızılırmak River (Turkey) and assessment of health risks and nutritional benefits, **Environmental Research**, v. 214, 2022.

VAZ, A. J.; LIMA, I.V.D. Imunotoxicologia dos metais. **Metais Gerenciamento da Toxicidade**. Editora Aterem, 2003. p. 399-414.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia de peixes teleósteos: teoria e prática**. EDUEM, São Paulo, 1996.

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**, v. 7, p. 41047-41065, 2021.

VIGANÒ, L.; BENFENATI, E.; BOTTERO, S.; CEVASCO, A.; MONTEVERDE, M.; MANDICH, A. Endocrine modulation, inhibition of ovarian development and hepatic alterations in rainbow trout exposed to polluted river water. **Environmental Pollution**, p. 3675-3683, 2010.

VILLALON, T.R.V; RONDA, A.C.; OLIVA, A.L., CAZORLA, A.L.C., Marcovecchio, J. Arias, J.E.A. Seasonal distribution pattern and bioaccumulation of Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in four bioindicator coastal fishes of Argentina. **Environmental Pollution**, v. 291, p. 118125, 2021.

VINEETHAA, G; KRIPAA, V. , KARATIB, KK; REHITHAC, TV; VISHALD, CR; VINEETHAA, V , Manu, M. Impact of a catastrophic flood on the heavy metal pollution status and the concurrent responses of the benthic-pelagic community in a tropical monsoonal estuary. **Marine Pollution Bulletin**, b. 155, 2020.

VITEK T, SPURNY P, MARES J E ZIKOVA A. Heavy Metal Contamination of the Loučka River Water Ecosystem. **Acta Veterinaria Brno**, v. 285, p. 149-154, 2007.

WALTON, J.R. Bioavailable Aluminum: Its Metabolism and Effects on the Environment. **Encyclopedia of Environmental Health**, p. 331-342, 2011.

WANG, Q.; XU, H.; YIN, J.; DU, S.; LIU, C.; LI, J. Significance of the great protection of the Yangtze River: Riverine input contributes primarily to the presence of PAHs and HMs in its estuary and the adjacent sea, **Marine Pollution Bulletin**, v. 186, 2023.

WANG, J.; ZHENG, M.; LU, L., J; XUEFU, L.; ZHANG, Z.; RU, S. **Journal of Hazardous Materials**, v. 414, p. 15, 2021.

WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1993. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Environmental Health Criteria 155, **World Health Organization, Geneva**. 1993.

WHO- Library Cataloguing-in-Publication Data Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. **Environmental health criteria**, p. 240, 2020.

WOSNICK, N., CHAVES, A.P; LEITE, R.D., NUNES, J.L.S., DILLENBURG SAINT'PIERRE, T.D, WILLMER, I.Q., HAUSER-DAVI, R.A. Nurse sharks, space rockets and cargo ships: Metals and oxidative stress in a benthic, resident and large-sized mesopredator, *Ginglymostoma cirratum*, **Environmental Pollution**, v. 288 , p. 117784, 2021.

WOSNICK, N., NIELLA, Y., HAMMERSCHLAG, N., CHAVES, A.P; HAUSER-DAVIS, R.A, ROCHA, R.C.C., JORGE, M.B, OLIVEIRA, R,W,S., NUNES, J.L.S. Negative metal bioaccumulation impacts on systemic shark health and homeostatic balance. **Marine Pollution Bulletin**, v. 168, p. 112398, 2021.

XAVIER, DA; Schettini, CAF; Figueira, RCL; França, EJ; Barcellos, RL. Intervenções Antrópicas na Geomorfologia do Estuário do Rio Capibaribe e seus Reflexos na Sedimentação Recente. **Anuário do Instituto de Geociências - UFRJ** v. 41 – 3, p. 492-50, 2018.

YANCHESHMEH, R.A.; BAKHTIARI, A.R.; MORTAZAVI, S.; SAVABIEASFAHANI, M. Sediment PAH: Contrasting levels in the Caspian Sea and Anzali Wetland. **Marine Pollution Bulletin**, v. 84, p. 391 – 400, 2014.

YOUSAFZAI, A.M.; KHAN, A.R.; SHAKOORI, A.R. Trace metal accumulation in the liver of an endangered South Asian fresh water dwelling in sub-lethal pollution. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 141, p. 35-41, 2009.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**: princípios e aplicações. São Carlos: Editora Rima, 2006.

ZENI, T.O.; OSTRENSKY, A.; WESTPHAL, G.G.C. Respostas adaptativas de peixes a alterações ambientais de temperatura e de oxigênio dissolvido. **Archives of Veterinary Science**, v.21, p.01-16, 2016.

ZHANG, J; KEXIN WANG, JING GUO, YONG HUANG, YOU WEI, KUN JIA, YUAN PENG, HUIQIANG LU, Study on the mechanism of liver toxicity induced by acenaphthene in zebrafish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 249, p. 114441, 2023.

ZHANG, W.; ZHANG, S.; WAN, C.; YUE, D.; YE, Y.; WANG, X. Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban road runoff, dust, rain and canopy throughfall. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 594 – 601, 2008.

ZHAO, S; FENG, C.; QUAN, W.; CHEN, X; NIU, J.;SHEN, Z. Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 6, p. 1163–1171, 2012.

ZOURARAH, B., MAANAN, M., CARRUESCO, C., AAJJANE, A., KHALID, M., FREITAS, M. .Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution in the lagoon of Oualidia (Moroccan Atlantic coast). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 72, p. 359-369, 2007.

ZUASTI, A., JARA, J.R., FERRER, C., SOLANO, F., 1989. Occurrence of melanin granules and melanosynthesis in the kidney of *Sparus auratus*. **Pigment Cell Research**, v. 2, p. 93–99, 1989.

ANEXOS

Anexos 1 – Artigo Científico oriundo da tese.



ISSN 1519-6984 (Print)
ISSN 1678-4375 (Online)

Original Article

Aquatic pollutants are associated with reproductive alterations and genotoxicity in estuarine fish (*Sciades herzbergii* - Bloch, 1794) from the Amazon Equatorial Coast

Poluentes aquáticos estão associados a alterações reprodutivas e genotoxicidade em peixe estuarino (*Sciades herzbergii* - Bloch, 1794) da Costa Equatorial Amazônica

K. S. Noletto^a, D. C. S. Mendes^b, I. F. S. Carvalho^c, D. L. S. Ribeiro^b, D. M. S. Santos^{a,d}, A. P. M. Ferreira^a, A. L. B. Marques^a, R. N. F. Carvalho-Neta^{b,d}, L. Tchaicka^{b,d} and J. R. S. Torres-Júnior^{a,e*}

^aUniversidade Federal do Maranhão – UFMA, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – BIONORTE, São Luís, MA, Brazil

^bUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – BIONORTE, São Luís, MA, Brazil

^cUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Departamento de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, São Luís, MA, Brazil

^dUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Departamento de Biologia, Programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, São Luís, MA, Brazil

^eUniversidade Federal do Maranhão – UFMA, Departamento de Oceanografia e Limnologia, São Luís, MA, Brazil

Abstract

Estuaries are constantly subject to continuous environmental impacts of human activities, such as fisheries, port or industry, and domestic sewage, with fish being one of the most affected aquatic animals, reflecting the impacts directly on their bodies. Thus, the aim of this study was to carry out the biomonitoring of an estuary located on the Amazonian Equatorial Coast through analysis of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in the water, in addition to trace metals, histopathological alterations and analysis of erythrocyte micronuclei in *Sciades herzbergii*. *S. herzbergii* was used as a model species, due to its estuarine-resident behavior. Gonad and gill samples were subjected to histopathological evaluations. The quantification of trace metals was performed in samples of skeletal muscles of the animals collected, where concentrations of Lead (Pb), Copper (Cu), Zinc (Zn), Cadmium (Cd), Magnesium (Mg), Iron (Fe) and Aluminum (Al) were found. Except for Cadmium (Cd), all the concentrations were above the recommended limits. The PAHs analysis revealed the presence of Naphthalene and Acenaphthene in the water samples. Histopathological and genotoxic analyses revealed lesions in 100% of the study specimens. Thus, the histological and genotoxic alterations found in 100% of *S. herzbergii* specimens captured in São José Bay-MA are potentially associated with PAH concentrations present in the water. These results are potentially associated with the presence of PAH and trace metals, both in water and in animal tissues, inferring a general scenario of environmental contamination which directly implies a risk to the health and survival of the local biota. This study shows the relevance of continuous biomonitoring of estuarine ecosystems, in order to guide authorities regarding sewage management and ensure the evolutionary development of estuarine species, especially fishes of importance in the local cuisine, therefore related to human food security.

Keywords: biomonitoring, ecotoxicology, chemical compounds, trace metals, polycyclic aromatic hydrocarbon.

Resumo

Os estuários estão constantemente sujeitos a impactos ambientais de atividades antropogênicas, como pesca, movimentação portuária, indústria ou esgoto doméstico, onde os peixes são um dos animais aquáticos mais atingidos, sendo capazes de refletir os impactos diretamente em seu organismo. Assim, o objetivo desse estudo foi realizar o biomonitoramento de um estuário da Costa Equatorial Amazônica por meio de análises de PAHs (Hidrocarboneto Policíclico Aromáticos) na água, além de metais traços, alterações histopatológicas e análises de micronúcleos eritrocitários em *Sciades herzbergii*. O *S. herzbergii* foi utilizado como espécie modelo, devido seu comportamento estuarino residente. Amostras de gônadas e brânquias foram submetidas a avaliações histopatológicas. A quantificação de metais traços foi realizada em amostras de músculos esqueléticos dos animais coletados, onde foram encontrados teores de Chumbo (Pb), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Cádmio (Cd), Magnésio (Mg), Ferro (Fe) e Alumínio (Al), e foram encontradas em concentrações acima dos limites recomendados, à exceção do Cádmio (Cd). A análise dos PAHs revelou a presença de Naftaleno e Acenafeno nas amostras de água. Análises

*e-mail: jose.torres@ufma.br

Received: September 19, 2022 – Accepted: November 13, 2022



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

histopatológicas e genotóxicas revelaram lesões em 100% dos espécimes estudados, resultados estes, potencialmente associados à presença de PAH e de metais traços, tanto na água quanto nos tecidos animais, comprovando um cenário geral de contaminação ambiental implicando diretamente em risco à saúde e sobrevivência da biota local. Esse estudo mostra a relevância do biomonitoramento contínuo dos ecossistemas estuarinos, afim de nortear autoridades no manejo de efluentes e assegurar o desenvolvimento evolutivo de espécies estuarinas, sobretudo dos peixes de importância na culinária regional, diretamente relacionados à segurança alimentar humana.

Palavras-chave: biomonitoramento, ecotoxicologia, contaminantes químicos, metais traços, hidrocarboneto policíclico aromático.

1. Introduction

Estuaries are coastal environments located between the mainland and the sea, in the transition zone (Kennish, 1992). Due to their location, estuaries are subject to industrial and domestic pollution, accumulating excessive amounts of chemical elements (Meng and Liu, 2010). In the island of Maranhão, located on the Equatorial Coast of the Brazilian Amazon, estuaries are influenced by contaminants as trace metal, fuel oils, ores released by activities in the port region (González-Gorbeña et al., 2015), and by domestic sewage (França et al., 2013). Which can be harmful to animal and human health.

Trace metals and PAHs in aquatic environments might bioaccumulate in the fish organism, due to direct contact with water and also through food, after consuming smaller organisms that inhabit that environment (van der Oost et al., 2003). Their ingestion in large quantities may cause chronic poisoning (Oliveira and Poletto, 2020). Considered priority pollutants (Martins et al., 2015) the PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), are composed of fused benzene rings originated from petroleum (Douben, immunotoxic, teratogenic and mutagenic, posing a risk to human health (Martins et al., 2015) and marine life (Silva et al., 2006).

Fish are one of the vertebrate superclasses most affected by contaminants. *Sciades herzbergii*, is an abundant species on the North-Northeast coast of Brazil, being an important food resource for traditional fishing communities in the region (Sousa et al., 2013). It is a species of demersal habits that, throughout its biological cycle, resides in the estuary (non-migratory) where it grows and reproduces (Giarrizzo and Saint-Paul, 2008). According to Krumme and Matthias (2008), the diet of *S. herzbergii* is based on benthic invertebrates and crustaceans which makes them have greater contact with estuarine substrates.

Histological analysis is considered one of the most efficient techniques to investigate contamination of the aquatic environment. It is very sensitive in diagnosing toxic effects that directly affect animal tissues (Albinati et al., 2009). Cellular genotoxic biomarkers are also important bioindicators of contamination, as the presence of micronuclei in erythrocytes from aquatic animals can prove the occurrence of a genetic mutation (Souza and Fontanetti, 2006).

Considering the increase in human activities close to estuarine environments and the continuous need to monitor these regions due to their importance for the ecosystem and public health, in this work we aim to quantify PAHs and histological and genotoxic biomarkers in *Sciades herzbergii* in an estuary on the Amazon Equatorial Coast.

Our hypothesis is that resident estuarine fish may present histological and genotoxic damage due to the presence of chemical contaminants in the water and, in addition, they serve as reference indicators for biological damage resulting from environmental pollution".

2. Material and Methods

2.1. Port areas and sampling

The study area is located near the main artisanal fishing ports in the island of Maranhão, an island of great importance along the Amazonian Coast, where the largest Brazilian port complex is located (2°31'51.30"S 44°5'24.40"W) (See Figure 1). The catches were carried out with a trap made of wood covered by a polyethylene mesh, popularly known as manzuá or covó. During sampling, in-situ physical and chemical data were obtained, including water temperature, salinity, pH, and dissolved oxygen. The multiparameter kit was used *in situ* (Asko®, modelo AK 88).

2.2. Experimental draw

This is a descriptive cohort study of 68 individuals of *Sciades herzbergii* (44 females and 24 males), length between 25 and 40 cm were collected in São José Bay, Island of Maranhão, Amazonian Equatorial Coast, in 4 stages, between the years 2020 and 2021. After collection, the following parameters were measured: total weight (TW), eviscerated weight (EW), total length (TL), partial length (PL) and furcal length (FL). Then the specimens were anesthetized with benzocaine (1.0g/10L in estuary water), previously diluted in ethanol (Ferreira et al., 1984), and blood samples were taken from the branchial vasculature (about 4 mL) using 0.7 x 25 mm needles and insulin syringes lightly moistened with anticoagulant (Liquemine®, Roche) (Santos et al., 2009), immediate preparation of whole blood smear on microscopy slides, in order to evaluate the presence of micronuclei in erythrocytes (Fenech, 2000).

After blood collection, the specimens were again submerged in water containing 3% Benzocaine for the cessation of opercular movements, loss of skin sensitivity and death (Santos et al., 2009), and transported in thermal boxes with ice to the Laboratory of Technology Applied to the Reproduction and Production of Nektonic Organisms (TARPON) of the Federal University of Maranhão (UFMA). In the laboratory, the specimens were eviscerated. After characterization, the gonads were weighed on an analytical balance with a precision of 0.01 grams to calculate the Gonadosomatic Index (GSI). Then, the gonads were fixed in Bouin's solution (75 mL of saturated picric acid solution,

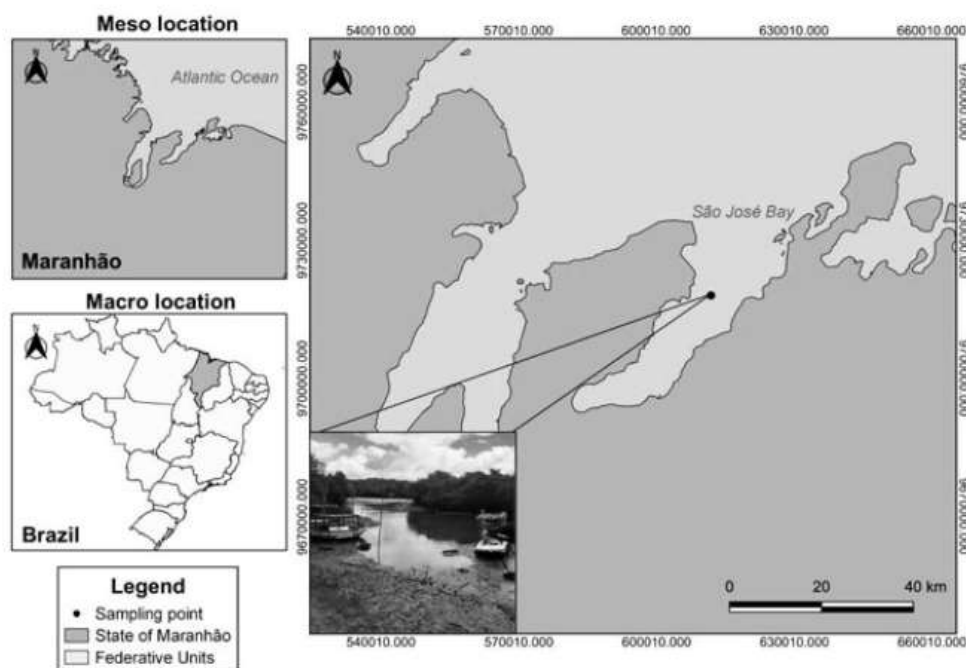


Figure 1. Sampling site: São José Bay, in the Island of Maranhão, Brazil.

20 mL of 37–40% formaldehyde and 5 mL of glacial acetic acid). The gill arches were fixed in 10% formalin for 24 hours and then decalcified in 10% nitric acid for 6 hours (Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994). After fixation, the medial portion of the gonads of both ovaries and the second gill arches were removed to be subjected to usual histological routine Louiz et al. (2009).

2.3. Analysis of metals in fish muscles

Muscle samples were collected from the 68 captured specimens and dried in an oven at 50°C., macerated and stored in propylene bottles. Approximately 1 to 2 grams (dry weight) was used to determine trace elements, by the EPA 3050 B method – SMEWW 23rd Edition - Method - 3130B. Soon after, acid digestion was carried out with nitric acid HNO₃ (65%, Merck®) and hydrogen peroxide (37%, Merck®). Trace elements (Cu, Zn, Fe, Mg, Al, Pb and Cd) were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. (ICP-OES Optima 8300, Perkin Elmer®). The recommended standard for trace elements in fish muscle is showed in Table 1, according to Decree (Brasil, 1965); Brasil (2005a, 2013, 2021) and FAO (1983, 2003).

2.4. Chemical analysis of water

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons were analyzed according to CONAMA (Resolution N° 454/2012). The water was collected directly in amber bottles previously washed by immersion in a 5% neutral laboratory detergent

(Extran® MA 02, Merck Millipore). The samples were stored on ice and transported to the Research Laboratory in Analytical Chemistry (LPQA) of the Federal University of Maranhão (UFMA). Then, the electroanalytical technique of differential pulse voltammetry (DPV) (Mota, 2019), was used to identify the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). The voltammetric experiments were carried out in a potentiostat (µautolab-II, Ecochemie®), coupled to a computer equipped with a GPES interface (Metrohm-Autolab®). For adjustments of the hydrogenic concentration, a pH meter model Analyzer model pH 300® with coupled glass electrode, calibrated with commercial buffers of pH 4.7 and 10 was used. (Merck®). For the electroanalytical procedure, Britton Robinson (BR) buffer solution with a concentration of 0.2 mol/L and with pH 2.0 previously standardized with sodium hydroxide (NaOH) 0.1 mol/L⁻¹ was used. The electrochemical experiments were performed in an electrochemical cell made of Pyrex glass (10ml) containing the electrodes: Ag/AgCl containing 3.0 mol/L⁻¹ KCl, as reference electrode, platinum electrode (Pt) as auxiliary electrode and glassy carbon electrode (GCE), as working electrode. The area of GCE is 0.123 cm², to evaluate the presence of naphthalene and acenaphthene in the water. The PAHs values were compared with Brasil (2012, 2005b) and NOAA (2015) resolutions.

2.5. Biomarkers analysis

Histological analysis of reproductive/gonadal damage in females were performed according to Louiz et al. (2009)

and Vigano et al. (2010). In males, characterizations were performed according to Louiz et al. (2009). The histological alterations of the gills were classified according to (Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994). Histological readings were performed with the aid of a light microscope with 10x and 40x objectives.

Erythrocytes analyzes were performed by reading 2000 cells from each fish, using a 100x objective, where the presence or absence of micronucleus-type anomalies was identified (Fenech, 2000). The photomicrographs of the lesions were captured in a photomicroscope (AXIOSKOP®, Zeiss).

2.6. License and ethics declaration

The research protocol was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals (CEUA) of the Federal University of Maranhão, in accordance with Law N° 11794, of October 8, 2008, Decree N° 6899, of July 15, 2009, and with the rules issued by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), registered under protocol number 23115.030805/2018-23. The SISBIO/ICMBio license protocol was also obtained (number 65479-1).

2.7. Statistical analysis

The relationship between the variables was studied through the principal component analysis (PCA) method, using the Statistica 7.1 (TIBCO Software Inc., California, USA) (Statsoft, Inc. Statistica) data analysis software (StatSoft, 2007), producing a two-axis graph to illustrate the importance of the main components in the total variation.

3. Results

3.1. Chemical analysis of water

During the sampling, the physicochemical characteristics of the water were within the recommended by resolutions n° 357/2005 and 430/2011 of the National Council for the Environment - CONAMA (pH 7.08; temperature 29.3 °C; salinity 18.32‰), except for dissolved oxygen (4.1 mg/L),

which was below the standard established for brackish water (≥ 5 mg/L) (Brasil, 2005b).

Regarding the PAHs, the values found for Acenaphthene and Naphthalene were 0.678mg/L and 0.024mg/L respectively (See Figure 2).

3.2. Analysis of metals in fish muscle

The concentrations of metals (as shown in the Table 1). Lead, Zinc, Iron, Magnesium concentrations are above those recommended by the guidelines and legal limits established by the NATIONAL HEALTH SURVEILLANCE AGENCY (ANVISA), resolutions RDC 42/2013 and DC No. 88 OF 03/26/2021, Decree No. 55,871 (March 26, 1965), and by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 1983 and 2003. FAO does not establish limit

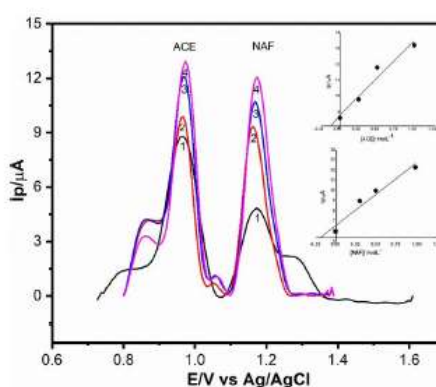


Figure 2. Differential Pulse Voltamograms using ECV/CoPc at different concentrations of Acenaphthene and Naphthalene respectively (1) real sample; (2) 0.0383 mg/L and 0.0319 mg/L (0.249 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.249 $\mu\text{mol L}^{-1}$); (3) 0.0766 mg/L and 0.0637 mg/L (0.497 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.497 $\mu\text{mol L}^{-1}$); (4) 0.0152 mg/L and 0.0126 mg/L (0.99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.99 $\mu\text{mol L}^{-1}$) of buffer solution BR 0.2 mol L^{-1} , pH 2, $v = 0.025$ V s^{-1} .

Table 1. Mean and standard error of metals monitored in the surface waters of São José Bay, Brazil.

	Bay of São José-MA mg/Kg	REFERENCE / BRAZIL	FAO	LQ Mg/Kg
Al (Total)	384.98 (SE±6.63)	---	---	0.10
Pb (Total)	1.17 (SE±0.06)	0.30 mg/Kg *	0.5 mg/Kg****	0.10
Cd (Total)	< 0.100	0.05 mg/Kg *	0.1 mg/Kg****	0.100
Cu (Total)	3.16(SE±0.42)	30.0 mg/Kg **	30 mg/Kg****	0.20
Zn (Total)	50.62 (SE±9.94)	50.0 mg/Kg **	30 mg/Kg****	0.01
Fe (Total)	152.55(SE±3.06)	14 mg/day***	---	0.05
Mg (Total)	840.15 (SE±16.77)	260 mg/day***	---	0.10

Al = Aluminum; Pb = Lead; Cd = Cadmium; Cu = Copper; Zn = Zinc; Fe = Iron; Mg = Magnesium; SE = standard error; --- No limit concentration for aluminum consumption in foods in the Brazilian legislation. *ANVISA RDC42/2013 and ANVISA/Decree N° 88, March 26, 2021 (Brasil, 2013, 2021); **Decree n° 55.871, March 26, 1965 (Brasil, 1965); ***Resolution-RDC N° 269, SEPTEMBER 22, 2005 (Brasil, 2005a); ****FAO. Heavy Metals Regulations Legal Notice No 66/2003 (FAO, 2003); *****FAO. Compilation of legal limits for Hazardous substance in fish and fishery products (FAO, 1983).

concentrations for Aluminum, Iron and Magnesium in fish meat. Also, there is not a limit concentration established for Aluminum in fish meat in the Brazilian resolutions.

3.3. Biomarkers analysis

Total weight average was 345.82 ± 26.94 g (ranging from 117 to 1200g), and total length average was 32.01 ± 0.57 cm (ranging from 24 to 43 cm). The GSI average was 1.34 ± 0.27 g (ranging from 0.03 to 12 g).

The histological analysis of the gonads and gills showed several alterations which were detected in all specimens (see Figure 3).

The following alterations in the reproductive organs of the fish were observed: Melanomacrophages, found in the ovaries and testicles of all individuals, with a frequency (males and females) of 4.81%, SE 0.52; Atretic oocytes and cytoplasmic Retraction, alterations found only in ovaries, with frequencies of 2.88%, SE 0.61, and 5.69%, SE 1.13 respectively.

Alterations in the gill morphology were: Hyperplasia with frequency of $16.11 \pm 1.89\%$, Displacement the lamellar epithelium ($40.76 \pm 3.08\%$), Congestion ($6.51 \pm 0.87\%$) and Lamellar fusion ($6.51 \pm 1.07\%$). The micronucleus frequency reported in this study represent basal rates ($2.95 \pm 0.19\%$).

The association between Gonadosomatic Index and genotoxic biomarkers on the Ovaries and Gills was investigated through Principal Component Analysis (PCA) (as shown in Figure 4).

Results have shown that the two main components, altogether, explained 41.48% of total data variation. GED was the most representative variable in Component 1, since they presented longer-length vectors that were closer to 1 the Component 1 axis. GHL and GLF were the variables that mostly contributed to Component 2. They were highly inversely related to each other, but they were not related to ovarian histopathologic biomarkers nor with GSI. MN, MMC and RET have shown strong association

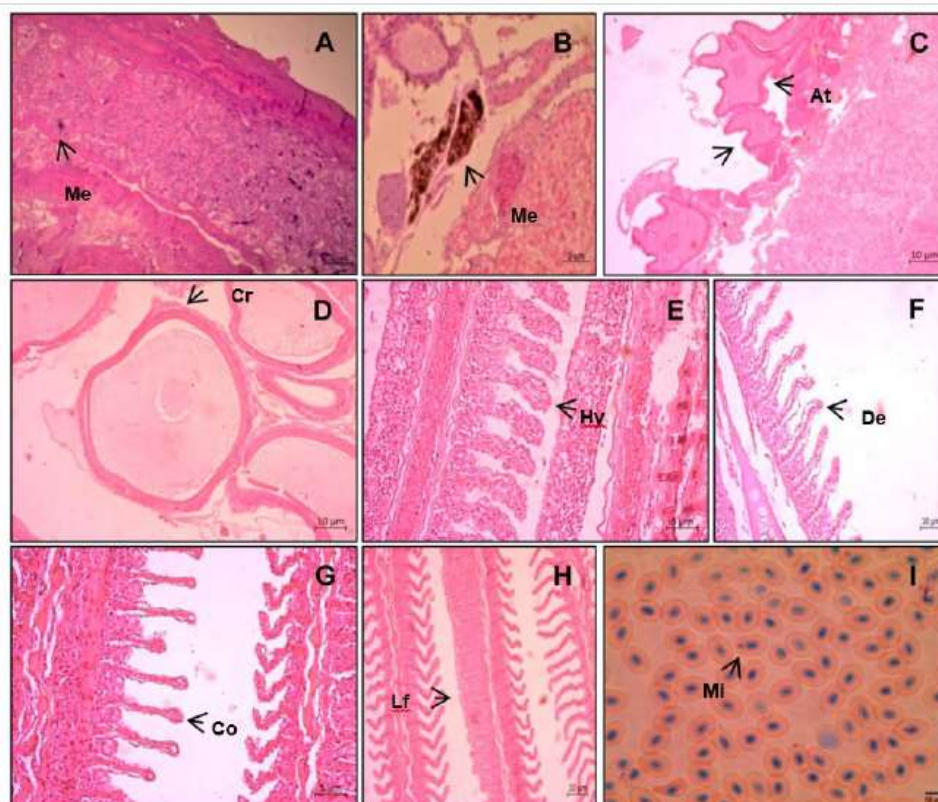


Figure 3. Main cellular damage in *Sciades herzbergii* collected in the community of Pau Deitado, São José Bay-MA, in 2020 and 2021. (S.E=Standard Error). (A) (40x) Gonad-Melanomacrophages of males (Me/arrow); (B) (40x) Gonad: Melanomacrophages of females (Me/arrow); (C) (20x) Gonad-Atretic oocytes (At/arrow); (D) (20x) Gonad-Cytoplasmic retraction (Cr/arrow); (E) (40x) Gill-Hyperplasia (Hy/arrow); (F) (20x) Gill-Displacement of the epithelium (De/arrow); (G) (20x) Gill-Congestion (Co/arrow); (H) (40x) Gill-Lamellar fusion (Lf/arrow); (I) (100x) Blood-Micronucleus (Mi/arrow).

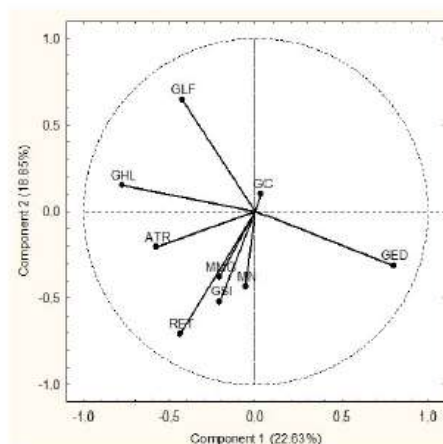


Figure 4. Biplot of Principal Component Analysis (PCA) applied to the association between variables, Gonadosomatic Index and genotoxic biomarkers on the Ovaries and Gills in *S. herzegii* at São José Bay. GSI = gonadosomatic index; ATR = atresic ovarian follicles; MMC = ovarian melanomacrophagus; RET = oocyte cytoplasmic retraction; MN = micronucleus; GHL = gill hyperplasia; GLF = gill lamellar fusion; GC = gill lamellar congestion; GED = gill epithelium displacement.

with each other and with GSI, since they formed acute angles between their respective vectors.

4. Discussion

Initially, this research highlights it is worth that when dealing with biological research associated with wild fish in their natural habitat, characteristics such as selectivity for fishing gear, local fishing pressure, time of year, and effluent leaching, etc., can be determinants of significant biological variation between different studies. Nevertheless, in our research, we have presented scientific evidence that the pollutants affected the development and reproduction potential of *Sciades herzegii* under conditions presented in the methodology.

The physicochemical analysis of São José Bay waters indicated dissolved oxygen below the limits allowed by the regulatory agencies. Dissolved oxygen is an indicator of environmental conditions, since organic matter from domestic sewage and released into the aquatic environment causes changes in the oxygen balance (Cunha et al., 2011). Cantanhede et al. (2016) in previous studies reported low oxygen saturation in estuarine waters after histological and genotoxic study in *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) around the Island of Maranhão.

Chemical analyses (PAHs) of the water were also performed, and the results are in disagreement with the regulatory agencies. The CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), through the resolution n° 454 2012 does not establish minimum values for Acenaphthene and Naphthalene in brackish waters. However, when the lowest

reference value of PAHs is observed in the resolution (0.052 mg/L), the values found in this study are above the suggested for other PAHs (Brasil, 2005b). On the other hand, if we consider the values recommended by NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) that allow up to 2.35mg/L for Naphthalene, and 0.0097 mg/L for Acenaphthene (NOAA, 2015), we observe that Naphthalene concentrations are below and Acenaphthene concentrations are above the recommended by NOAA, which indicates that the study area has low PAHs concentrations, although it shows a low level of contamination. Pinheiro-Sousa et al. (2021) when analyzing estuaries in the North of the Brazilian Amazon, identified trace elements and PAHs in sediments in the region, which explains the changes in the lamellar structure of the gills and also the increasing oxidative stress in the specimens collected. Considering anthropogenic activities such activities may cause an increase in chemical/organic compounds in the environment, which can affect the aquatic organisms that live there, and also human health.

The analysis of metals showed that the muscles analyzed are suffering some level of environmental contamination, once the results showed concentrations above those allowed by national and international resolutions, which are the maximum limits for detection and consumption of this meat. The resolutions establish maximum values for Pb of 0.30 mg/Kg (Brasil, 2013) and 0.5 mg/Kg by FAO, Cu 30 mg/Kg (Decree No. 55.871 of 1965) and 30 mg/Kg (FAO, 2003), Zn 50 mg/Kg (Decree No. 55,871 of 1965) and 30 mg/Kg (FAO, 2003), Cd of 0.05 mg/Kg (Brasil, 2013) Cd of 0.1mg/Kg (FAO, 2003) for fish meat, showing that the results of Pb, Cu and Zn are above those allowed by the agencies. Cd is within the limits. Although ANVISA and

FAO do not establish maximum limits of Mg, Fe and Al in fish muscle, ANVISA does recommend a daily intake (RDI) of 260 mg per day for adults and 14 mg/day for children (Brasil, 2005a).

Altered metal levels were previously found in São José Bay by Noleto et al. (2021), and Ribeiro et al. (2020) when studying metals in oysters of the *Cassostrea* genus (Sacco, 1897). Barbieri et al. (2010), also found accumulation of trace metals in the muscle of *Cathorops spixii* (Agassiz, 1829), in an estuary located in Aracajú-SE, characterizing direct connection with the life cycle and feeding habits of the catfish to a higher incidence of contaminants in its organism. Masood et al. (2021) studying *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844) observed that high concentrations of zinc might cause mortality, showing that human fishing activity and the disposal of domestic effluents in the region may be causing contamination. According to von Sperling (1996) sewage is made up of organic and inorganic matter, such as sugars, oils, proteins, fats, microorganisms, organic salts, components of sanitizing products (such as soap, detergents, disinfectants), salts formed by chlorides, sulfates, nitrates, phosphates, sodium, calcium, potassium, iron and magnesium (von Sperling, 1996).

According to the biometric averages found for the animals in this study, these values may be directly affected by the level of contaminants found in the aquatic environment (Noleto et al., 2021). According to Ribeiro et al.

(2012) species that inhabit impacted areas use the energy stock available to grow to perform detoxification. It is known that animals that live in contaminated environments are likely to have inadequate maturation of the gonads (Vazzoler, 1996) due to the inhibition of estrogen-induced by pollutants (Kime, 1995). Excess of some contaminants in aquatic environments might directly affect the reproductive system of fish, affecting the continuity of the specie (Kime, 1995).

Contaminants are also capable of causing several histological changes in animals. In this study, some of these alterations were observed, such as the appearance of melanomacrophages, which are cells belonging to the nonspecific immune system (Louiz et al., 2009) and are closely associated with chronic inflammatory processes. Furthermore, the presence of this inflammation in the individual is related to the level of stress it is experiencing, often due to exposure to chemicals (Marty et al., 2003). The presence of melanomacrophages was also identified by Marty et al. (2003) when analyzing fish organs that had direct contact with an aquatic environment contaminated with PAHs. Other alterations in the reproductive level also found in this study area, oocyte atresia and cytoplasm retention, which can be found naturally in their ovaries (Louiz et al., 2009; Dutta and Maxwell, 2003) or may appear and increase under the interference of contaminants causing a decrease in the reproduction rates of the individuals (Louiz et al., 2009), also identified in *Gobius Niger* from the Bizerta-Tunisia lake by Louiz et al. (2009).

About the gill alterations, hyperplasia, displacement of the lamellar epithelium, congestion, and lamellar fusion, were observed. These alterations are due to the attempt of the organism to defend itself against pollutants. However, it is a process carried out by the gills, which affects the

respiration and survival of organisms, as they cause derangements in their blood flow structures (Camargo and Martinez, 2007). These changes may be reversed with the improvement of water quality or may be progressive in cases of persistent exposure (Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994). Some of these alterations were also found by Castro et al. (2018) when analyzing catfish of the species *Sciades herzbergii* in estuarine environments, seeking to identify the impact of anthropization in the aquatic environment. Medeiros et al. (2020), also identified lamellar changes in gills of *Geophagus iporangensis* fish (Haseman, 1911), subjected to different concentrations of zinc and cadmium. Barbieri et al. (2016) identified changes in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1759) when exposed to lead and carbon, proving that the association of these metals, even at low concentrations, interfered with the respiratory capacity of the individuals studied.

In this study, all organisms showed some level of the alteration as a result of DNA damage. Cantanhede et al. (2016) studied *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) two different estuaries in the Southeast region of Brazil and, in both, the presence of metals interfered not only with the genetics, but also with the biochemistry and morphology of aquatic organisms.

This work, as well as other studies carried out previously with specimens of *Sciades herzbergii* in estuaries belonging to the North Amazon coast (Pinheiro-Sousa et al., 2021;

Castro et al., 2018) indicates that contaminants present in these environments lethal or chronically alter the health of animals that live there. It can then be suggested that the organisms of São José Bay are under some influence of chemicals. Thus, the histological and genotoxic alterations found in 100% of *S. herzbergii* specimens captured in the São José Bay-MA are potentially associated with the concentrations of PAHs found in the water and metals found in the muscles of the animals collected. Thus, it is necessary to systematize the biomonitoring in the region, to mitigate the harmful effects on the environment and food riverside communities. It is concluded that *S. herzbergii* is a good bioindicator of estuarine pollution, because due to its sensitivity, life cycle and food, its body can respond to an environment with the presence of metals and PAHs.

Acknowledgements

The authors thank the Laboratory of Technology Applied to Reproduction and Production of Nektonic Organisms (TARPON/UFMA), Laboratory of Molecular Biology (LABIMOL/UEMA), Research Laboratory in Analytical Chemistry (LPQA/UFMA CAPES/PROCAD-AM 2018 – Line 2; Number SCBA: 88887.200615/2018-00; ANP (QUALIPETRO Nº 1.028/2021-ANP-PMQC) and Laboratory of Animal Morphophysiology/UEMA and the Biodiversity and Biotechnology Program of the Legal Amazon (BIONORTE/UFMA) for their assistance in the laboratory analysis. We also thank the Brazilian agencies CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, Financial Code 001) and FAPEMA (Foundation for scientific research and Development of Maranhão) for the financial support.

References

- ALBINATI, A.C.L., MOREIRA, E.L.T., ALBINATI, R.C.B., CARVALHO, J.V., LIRA, A.D., SANTOS, G.B. and VIDAL, L.V.O., 2009. Biomarcadores histológicos: toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 61, no. 3, pp. 621-627. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352009000300015>.
- BARBIERI, E., PASSOS, E.A., ARAGÃO, K.A., SANTOS, D.B. and GARCIA, C.A., 2010. Assessment of trace metal levels in catfish (*Cathorops spixii*) from Sal River Estuary, Aracaju, State of Sergipe, Northeastern Brazil. *Water Environment Research*, vol. 82, no. 12, pp. 2301. <http://dx.doi.org/10.2175/106143009X12465435982935>. PMID:21214023.
- BARBIERI, E., CAMPOS-GAREIA, J., MARTINEZ, D., SILVA, J., ALVES, O. and REZENDE, K., 2016. Histopathological effects on gills of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) exposed to Pb and Carbon nanotubes. *Microscopy and Microanalysis*, vol. 22, no. 6, pp. 1162-1169. <http://dx.doi.org/10.1017/S1431927616012009>. PMID:27998365.
- BRASIL, 1965 [viewed 10 September 2022]. *Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961 referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962* [online]. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília*, 19 jul. Available from: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2019/Decreto/D9917.htm#art1

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2005a [viewed 10 September 2022]. *Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005* [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 set. Available from: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-269-de-22-de-setembro-de-2005.pdf/view>
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, 2005b [viewed 10 September 2022]. *Resolução nº 357, de 17 de março de 2005* [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 mar. Available from: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, 2012 [viewed 10 September 2022]. *Resolução nº 454, de 1 de novembro de 2012* [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 6 nov. Available from: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2012/res_conama_454_2012_materiaisdragadoemaguasjurisdicionaisbrasileiras.pdf
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2013 [viewed 10 September 2022]. *Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013* [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 ago. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0042_29_08_2013.html
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2021 [viewed 10 September 2022]. *Instrução normativa nº 88, de 26 de março de 2021* [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 31 mar. Seção 1, pp. 226. Available from: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-88-de-26-de-marco-de-2021-311655598>
- CAMARGO, M.M.P. and MARTINEZ, C.B.R., 2007. Histopathology of gills kidney and liver of a Neotropical fish caged in a urban stream. *Neotropical Ichthyology*, vol. 5, no. 3, pp. 327-336. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252007000300013>.
- CANTANHÊDE, S.M., CASTRO, C.S., PEREIRA, N.J., DE PINHO CAMPOS, J.S., DA SILVA, J., TCHAIKA, L., NETA, R.N., TORRES JUNIOR, J.R.S. and SANTOS, D.M., 2016. Evaluation of environmental quality of two estuaries in Ilha do Maranhão, Brazil, using histological and genotoxic biomarkers in *Centropomus undecimalis* (Pisces, Centropomidae). *Environmental Science and Pollution Research International*, vol. 23, no. 20, pp. 21058-21069. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7294-9>. PMID: 27491417.
- CASTRO, J.S., FRANÇA, C.L., FERNANDES, J.F.F., SILVA, J.S., CARVALHO-NETA, R.N.F. and TEIXEIRA, E.G., 2018. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 70, no. 2, pp. 410-418. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9906>.
- CUNHA, C.D.L., SCUDELARI, A.C., GONÇALVES, J.E. and MERCURI, E., 2011. Assessment of sanitary sewage pollution in the Paranaguá estuarine complex of Paranaguá, Brazil using environmental modeling. *Journal of Coastal Research*, vol. 64, pp. 912-916. <http://dx.doi.org/10.1017/S1431927616012009>.
- DOUBEN, P.E.T., 2003. *PAH: an ecotoxicological perspective*. Chichester: Wiley, 406 p. Ecological & environmental Toxicology Series.
- DUTTA, H.M. and MAXWELL, L.B., 2003. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Environmental Pollution*, vol. 121, no. 1, pp. 95-102. [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00201-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00201-4). PMID: 12475066.
- FENECH, M., 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, vol. 455, no. 1-2, pp. 81-95. [http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00065-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00065-8). PMID: 11113469.
- FERREIRA, J.T., SCHOONBEE, H.J. and SMIT, G.L., 1984. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. *Journal of Fish Biology*, vol. 25, no. 1, pp. 35-41. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1984.tb04848.x>.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO, 1983 [viewed 10 September 2022]. *Compilation of legal limits for hazardous substance in fish and fish and fishery products* [online]. Rome: FAO, pp. 5-100. FAO Fisheries Circular, no. 464. Available from: <https://www.fao.org/3/u2987e/u2987e.pdf>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO, 2003 [viewed 10 September 2022]. *Heavy metals regulations legal notice nº 66/2003* [online]. Rome: FAO. Available from: <https://www.informea.org/en/legislation/heavy-metals-regulations-In-no-66-2003>
- FRANÇA, V.D., MONTELES, J.S., FUNO, I.C.S.A. and CASTRO, A.C.L., 2013. Seleção de áreas potenciais para o cultivo de ostra nativa, *Crassostrea* spp. e Sururu, *Mytella falcata*, em Raposa, Maranhão. *Arquivo de Ciência Marinha*, vol. 46, pp. 62-75. <http://dx.doi.org/10.32360/acmar.v46i1.891>.
- GIARRIZZO, T. and SAINT-PAUL, U., 2008. Ontogenetic and seasonal shifts in the diet of the pemecou sea catfish *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae), from a macrotidal mangrove creek in the Cunucá estuary, Northern Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, vol. 56, no. 2, pp. 861-873. PMID: 19256449.
- GONZÁLEZ-CORBEÑA, R., ROSMAN, P.C.C. and QASSIM, R.Y., 2015. Assessment of the tidal current energy resource in São Marcos Bay, Brazil. *Journal of Ocean Engineering and Marine Energy*, vol. 1, no. 4, pp. 421-433. <http://dx.doi.org/10.1007/s40722-015-0031-5>.
- KENNISH, M.J., 1992. *Ecology of estuaries: anthropogenic effects*. Boca Raton: CRC Press, pp. 45-62. Marine Science Series, no. 2. <http://dx.doi.org/10.1201/9780367811792>.
- KIME, D.E., 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, vol. 5, no. 1, pp. 52-95. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01103366>.
- KRUMME, U. and MATTHIAS, B., 2008. Spring-neap cycle as a major driver of temporal variations in feeding of intertidal fishes: evidence from the sea catfish *Sciades herzbergii* (Ariidae) of equatorial west Atlantic mangrove creeks. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, vol. 367, no. 2, pp. 91-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2008.08.020>.
- LOUIZ, I., BEN-ATTIA, M. and BEN-HASSINE, O.K., 2009. Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobiuniger* (Gobiidae, Teleost) from Bizertalagoon (Tunisia): evidence of reproduction disturbance. *Fisheries Research*, vol. 100, no. 3, pp. 266-273. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2009.08.009>.
- MARTINS, M., SANTOS, J.M., DINIZ, M.S., FERREIRA, A.M., COSTA, M.H. and COSTA, P.M., 2015. Effects of carcinogenic versus non-carcinogenic AHR-active PAHs and their mixtures: lessons from ecological relevance. *Environmental Research*, vol. 138, pp. 101-111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.010>. PMID: 25704830.
- MARTY, G.D., HOFFMANN, A., OKIHIRO, M.S., HEPLER, K. and HANES, D., 2003. Retrospective analysis: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. *Exxon Valdez. Marine Environmental Research*, vol. 56, no. 5, pp. 569-584. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136\(03\)00043-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136(03)00043-6). PMID: 12927739.
- MASOOD, Z., GUL, Y., GUL, H., ZAHID, H., SAFIA, KHAN, M.A., HASSAN, H.U., KHAN, W., GUL, N. and ULLAH, A., 2021. Assessments of

- some trace metals in water samples of nursery pond of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*, Valenciennes, 1844) in Bannu Fish Hatchery of Khyber Pakhtunkhwa. *Brazilian Journal of Biology - Revista Brasileira de Biologia*, vol. 83, pp. e245199. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.245199>. PMID:35043831.
- MEDEIROS, A.M.Z., CÔA, F., ALVES, O.L., TEODORO MARTINEZ, D.S. and BARBIERI, E., 2020. Metabolic effects in the freshwater fish *Geophagus iporangensis* in response to single and combined exposure to graphene oxide and trace elements. *Chemosphere*, vol. 243, pp. 125316. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125316>. PMID:31733537.
- MENG, W. and LIU, L., 2010. On approaches of estuarine ecosystems health studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 86, no. 3, pp. 313-316. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2009.05.009>.
- MOTA, A.P.F., 2019. New voltammetric method for determination of phenanthrene in groundwater. *Periódico Tchê Química*, vol. 16, no. 33, pp. 169-177.
- NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION - NOAA, 2015 [viewed 10 September 2022]. *Screening quick reference tables* [online]. Washington: NOAA, 34 p. Available from: <http://response.restoration.noaa.gov/sites/default/files/SQIRTs.pdf>
- NOLETO, K.S., OLIVEIRA, S.R.S., LIMA, I.M.A., JESUS, W.B., CASTRO, J.S., SANTANA, T.C., CARDOSO, R.L., JORGE, M.B., SANTOS, D.M.S., TORRES-JÚNIOR, J.S.R. and CARVALHO NETA, R.N.F., 2021. Biochemical and Histological Biomarkers in *Crassostrea* sp. (Bivalvia, Ostreidae) for Environmental Monitoring of a Neotropical Estuarine Area (São José Bay, Northeastern Brazil). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 106, no. 4, pp. 614-621. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-021-03149-z>. PMID:33609170.
- OLIVEIRA, J.G.D. and POLETTI, M., 2020. Drying characteristics and heavy metal levels in three marine fishes commercialized in Brazil. *Brazilian Journal of Development*, vol. 6, no. 10, pp. 76897-76912. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n10-206>.
- PINHEIRO-SOUSA, D.B., SOARES, S.H.C., TORRES, H.S., DE JESUS, W.B., DE OLIVEIRA, S.R.S., BASTOS, W.R., RIBEIRO, C.A.O. and CARVALHO-NETA, R.N.F., 2021. Sediment contaminant levels and multibiomarker approach to assess the health of catfish *Sciades herzbergii* in a harbor from the northern Brazilian Amazon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 208, pp. 111540. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111540>. PMID:33157514.
- POLEKSIC, V. and MITROVIC-TUTUNDZIC, V., 1994. Fish gills as monitor of sublethal chronic effects of pollution. In: R. MULLER and R. LLOYD, eds. *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Farnham: Fishing News Books Ltd., pp. 339-352.
- RIBEIRO, E.B., ALMEIDA, Z.S. and CARVALHO-NETA, R.N.F., 2012. Hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos, Maranhão, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 64, no. 6, pp. 1761-1765. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352012000600048>.
- RIBEIRO, E.B., NOLETO, K.S., OLIVEIRA, S.R.S., JESUS, W.B., SERRA, I.M.R.S., ALMEIDA, Z.S., ANDRADE, T.S.O.M., SOARES, R.A., ANTONIO, Í.C., SANTOS, D.M.S., JORGE, M.B. and CARVALHO NETA, R.N.F., 2020. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 158, pp. 111348. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111348>. PMID:32568076.
- SANTOS, A.A., EGAMI, M.I., RANZANI-PAIVA, M.J.T. and JULIANO, Y., 2009. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): seasonal variation, sex and gonadal maturation. *Aquaculture*, vol. 296, no. 3-4, pp. 359. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.08.023>.
- SILVA, D.A., BUZITIS, J., KRAHN, M.M., BÍCEGO, M.C. and PIRES-VANIN, A.M., 2006. Metabolites in bile from São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil as biomarkers of exposure to petrogenic polycyclic aromatic compounds. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 52, no. 2, pp. 175-183. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.08.016>. PMID:16216283.
- SOUZA, T.S. and FONTANETTI, C.S., 2006. Micronucleus test and observation of nuclear alteration in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutation Research*, vol. 605, no. 1-2, pp. 87-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.02.010>. PMID:16678473.
- SOUSA, D.B.P., ALMEIDA, Z.S., and CARVALHO-NETA, R.N.F., 2013. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 65, pp. 369-376. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000200011>.
- STATSOFT, 2007. *Statistica (data analysis software system) version 7*. Tulsa: Statsoft, Inc.
- VAN DER OOST, R., BEYER, J. and VERMEULEN, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 13, no. 2, pp. 57-149. [http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6). PMID:21782649.
- VAZZOLER, A.E.A.M., 1996. *Biologia de peixes teleostes: teoria e prática*. São Paulo: EDUEM, 169 p.
- VIGANÒ, L., BENFENATI, E., BOTTERO, S., CEVASCO, A., MONTEVERDE, M. and MANDICH, A., 2010. Endocrine modulation, inhibition of ovarian development and hepatic alterations in rainbow trout exposed to polluted river water. *Environmental Pollution*, vol. 158, no. 12, pp. 3675-3683. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2010.07.033>. PMID:20864230.
- VON SPERLING, M. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Volume 1: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Volume 2: Princípios básicos do tratamento de esgotos*. 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

ANEXO 2 - Capítulo de Livro oriundo da tese.



Copyright 2022 by i-EDUCAM

Revisão:
Débora Batista Pinheiro Sousa
Jonatas da Silva Castro
Wanda Batista de Jesus

Editoração e capa:
i-EDUCAM

Foto da capa e de início dos capítulos:
fotos cedidas pelos autores de cada capítulo (opcional)
www.freemages.com

INDEXADO POR / INDEXAD BY
Bibliografia Brasileira

Debora Batista Pinheiro Sousa, Jonatas da Silva Castro, Wanda Batista de Jesus (Organizadores).

ISBN 978-65-594-1922-7
DOI 10.29327/576562

Título: Monitoramento Ambiental: metodologias e estudos de casos.

Tipo de Suporte: eBook
Formato de eBook: PDF



i-EDUCAM

www.i-educam.com.br

Link para a publicação: <https://doi.org/10.29327/576562>

Os autores de cada capítulo são responsáveis pelos textos e fotografias.
O conteúdo publicado não representa a posição oficial do i-EDUCAM.

**i-EDUCAM**INSTITUTO DE EDUCAÇÃO CONTINUADA
E CONSULTORIA AMBIENTAL**CONSELHO EDITORIAL**

Ana Luíza Caldas Diniz
(bióloga, mestre em Recursos Aquáticos e Pesca - UEMA)

Elielma Sousa Diniz
(bióloga, mestre em Microbiologia Agropecuária - UNESP)

Gisélia Brito dos Santos
(letróloga, doutora em Letras e Linguística - UFG)

Jaqueline Custódio da Costa
(bióloga, doutora em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva - INPA)

Joel Artur Rodrigues Dias
(engenheiro de Pesca, doutor em Ciência Animal - UFPA)

Matheus Gomes da Cruz
(biólogo, mestre em Aquicultura - Universidade Nilton Lins/INPA)

Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta
(bióloga, doutora em Biotecnologia - RENORBIO/UECE)

Samara Silva de Souza
(bióloga, doutora em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva - INPA)

*Katherine Saldanha Noletto
Denize Carla da Silva Mendez
Irayana Fernanda da Silva Carvalho
Diego Luiz dos Santos Ribeiro
Débora Martins Silva Santos
Ana Paula Mota Ferreira
Aldaléa Lopes Brandes Marques
Raimunda Nonata Fortez Carvalho Neta
Ligia Tchaicka
José Ribamar de Souza Torres-Junior*

Capítulo 12

Métodos utilizados para biomonitoramento de estuários na Amazônia Equatorial Brasileira

Capítulo 12**MÉTODOS UTILIZADOS PARA BIOMONITORAMENTO DE ESTUÁRIOS NA
AMAZÔNIA EQUATORIAL BRASILEIRA**

Katherine Saldanha Noletto¹, Denise Carla da Silva Mendes¹, Irayana Fernanda da Silva Carvalho²,
Diego Luiz dos Santos Ribeiro¹, Débora Martins Silva Santos³, Ana Paula Mota Ferreira¹,
Aldaléa Lopes Brandes Marques¹, Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta^{1,3,4},
Ligia Tchaicka^{1,3,4} & José Ribamar de Souza Torres-Júnior^{5*}

¹ Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE,

² Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UEMA, ³ Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade – UEMA, ⁴ Departamento de Biologia – UEMA,

⁵ Departamento de Oceanografia e Limnologia – UFMA

doi: 10.29327/576562.1-12

View online: <https://doi.org/10.29327/576562>

*e-mail do autor correspondente: jose.torres@ufma.br

INTRODUÇÃO

Na costa do nordeste brasileiro existem diversos sistemas estuarinos, indo de pequenos a grandes sistemas abertos que apresentam grande importância na reprodução de peixes, pois são utilizados como berçários (BLABER *et al.*, 2016).

Devido às ações antrópicas, geralmente os estuários estão sujeitos a descargas diárias de efluentes de resíduos domésticos, além de elementos químicos provenientes de atividades industriais e/ou portuárias, ocasionando acúmulo de metais nos ambientes (LIU *et al.*, 2020). Em ambiente natural, os metais não são decompostos, mas apenas transformados, o que culmina com alteração de longo prazo na qualidade da água (MANJU *et al.*, 2001).

Os contaminantes que estão presentes na coluna d'água têm a capacidade de ser absorvidos pelos organismos aquáticos, via exposição direta e pelo processo de biomagnificação (COSTA *et al.*, 2008). Dependendo da quantidade presente na água, os efeitos da contaminação podem ocorrer em níveis subletais ou crônicos, em diversas formas de organizações biológicas, tais como molecular, fisiológico e reprodutivo que, de acordo com o tempo de exposição, podem prejudicar a comunidade de forma severa ou letal (CONNOR *et al.*, 2012).

Os animais aquáticos, em especial os peixes, quando contaminados representam risco potencial para a saúde da população, pois compõem parte importante e crescente da dieta humana (AGAH *et al.*, 2009). Para a identificação dos possíveis efeitos ocasionados por contaminação em organismos aquáticos, os biomarcadores em peixes vêm sendo cada vez mais utilizados, devido à precisão nas respostas biológicas e danos encontrados (MARTINEZ

et al., 2002). Diante disso, o presente estudo apresenta diferentes técnicas para biomonitoramento na água e em peixes da espécie *Sciades herzbergii*, objetivando observar a aplicabilidade e eficiência de cada técnica.

METODOLOGIA

Área de estudo

A área biomonitorada neste estudo apresenta intensa atividade pesqueira artesanal de subsistência, cuja base operacional se encontra em inúmeros portos comunitários dentro ilha do Maranhão, sendo de grande importância ao longo da Costa Amazônica e próxima ao maior complexo portuário industrial brasileiro ($2^{\circ}31'51.30''S$ $44^{\circ}5'24.40''W$) (Figura 1). Foram capturados peixes da espécie *Sciades herzbergii*, por meio de armadilha artesanal, denominada popularmente como manzuá. Durante a amostragem foram coletados dados físicos e químicos da água *in situ*, incluindo temperatura da água, salinidade, pH e oxigênio dissolvido.

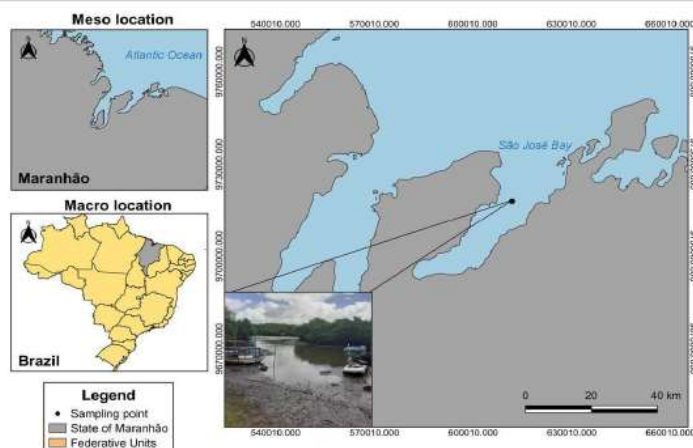


Figura 1. Local de amostragem: Baía de São José, na Ilha do Maranhão, Brasil

Metodologias para realização das análises

Um total de 68 indivíduos de *Sciades herzbergii* (Figura 2), fêmeas e machos, com comprimento entre 25 e 40 cm, foram coletados.



Figura 2. Espécime de *Sciades herzbergii*, capturado na Baía de São José-MA.

Em seguida, os espécimes foram anestesiados com benzocaína (1,0g/10L em água de estuário) (FERREIRA *et al.* 1984), e amostras de sangue foram retiradas da vasculatura branquial, através de seringas de insulina com anticoagulante (Liquemine®, Roche) (SANTOS *et al.* 2009), para as análises sanguíneas. Após a retirada do sangue, foi realizado o esfregaço de sangue total, a fim de quantificar possíveis anomalias celulares adquiridas, avaliando a presença de micronúcleos nos eritrócitos (FENECH *et al.* 2000). Após a coleta de sangue, os espécimes foram novamente submersos em água contendo Benzocaína 3% para eutanásia (SANTOS *et al.* 2009), e transportados em caixas térmicas com gelo para o Laboratório de Tecnologia Aplicada a a Reprodução e Produção de Organismos Nectônicos (TARPON) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Em laboratório, os espécimes foram eviscerados, as gônadas foram fixadas em solução de Bouin (75 mL de solução saturada de ácido picrico, 20 mL de formaldeído 37-40% e 5 mL de ácido acético glacial). Os arcos branquiais foram fixados em formol a 10% por 24 horas e depois descalcificados em ácido nítrico a 10% por seis horas (POLEKSIC e MITROVIC 1994). Após a fixação, a porção medial de ambas as gônadas e o segundo arco branquial foram removidos para serem submetidos ao processamento histológico convencional, segundo a metodologia de Louiz *et al.* (2009).

As análises de metais foram realizadas a partir de amostras da musculatura dorsal, utilizando a metodologia EPA 3050 gramas B – SMEWW 23ª Edição - Método - 3130B, na qual o tecido foi submetido à digestão com ácido nítrico HNO₃ (65%, Merck®) e peróxido de hidrogênio (37%, Merck®), para determinação dos elementos traço (Cu, Zn, Fe, Mg, Al, Pb e Cd) através de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES Optima 8300, Perkin Elmer®).

Nas amostras de água do estuário foi realizada análise de HPAs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos), após coleta direta em garrafas âmbar previamente lavadas por imersão em detergente laboratorial neutro a 5% (Extran® MA 02, Merck Millipore). As amostras foram armazenadas em gelo e transportadas para o Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Em seguida, a técnica eletroanalítica de voltametria de pulso diferencial (DPV) foi utilizada para identificar os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs).

Por meio das análises histológicas, foram caracterizados danos reprodutivos/gonadal em fêmeas e machos, segundo metodologias de Louiz *et al.* (2009) e Vigano *et al.* (2010) e

danos branquiais pela metodologia de Poleksic e Mitrovic (1994). As leituras histológicas foram realizadas com auxílio de microscópio de luz com objetivas de 10x e 40x.

O protocolo experimental desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFMA), registrado sob o protocolo número 23115.030805/2018-23. Também foi obtido o protocolo de licença SISBIO/ICMBio (número 65479-1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise físico-química da água

Foram encontrados valores de pH 7,08; temperatura 29,3 °C; salinidade 18,32% e Oxigênio Dissolvido (OD) 4,1 mg/L, mostrando que todos os parâmetros, exceto OD estavam dentro do indicado pelo CONAMA para água salobra (≥ 5 mg/L) nº 357/2005 e 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA.

As determinação da concentração de OD na água é uma análise inicial para averiguação dos parâmetros de qualidade de água (PINTO *et al.*, 2010), pois através da lixiviação, a matéria orgânica dos efluentes urbanos domésticos e industriais são transportados para a água e com a quantidade excessiva dessa matéria orgânica, ocorre o fenômeno da eutrofização, que consiste no acúmulo de nutrientes, que disputam oxigênio com os organismos aquáticos, alterando o comportamento e a sobrevivência dos peixes (BARRETO, 2013).

Análise química da água

Na água da baía de São José, foram encontrados HPAs como Acenafteno 0,78 mg/L e Naftaleno 0,024 mg/L. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), na resolução 454 de 2012, não estabelece valores mínimos para Acenafteno e Naftaleno em águas salobras, porém o menor valor de referência de HPAs na resolução é de 0,052 mg/L, portanto, os valores encontrados neste estudo para o acenafteno estão acima do sugerido para outros HPAs.

As análises de HPAs são relevantes para o biomonitoramento, pois esses são elementos constituídos por dois ou mais anéis aromáticos condensados, são resistentes no ambiente com a capacidade muito baixa de solubilizar em água (CARUSO *et al.*, 2008). São capazes de causar danos celulares, aparecimento de tumores, alterações reprodutivas, diminuição nas taxas de crescimento e desenvolvimento, e se a contaminação estiver em grau elevado, pode levar os organismos à morte (HSU E ENG, 1996 e UENO *et al.*, 1995). Em peixes e seres humanos os HPAs estão ligados diretamente com mutações, malformações, tumores e câncer (COLLIER *et al.* 1998 e NETTO *et al.*, 2000).

Análise de metais em tecido de *Sciades herzbergii*

Nas análises de metais nos músculos dos peixes, foram observados valores médios para os seguintes oligoelementos (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de metais nos músculos de *Sciades herzbergii* coletados na Baía de São José, Maranhão.

	BAÍA DE SÃO JOSÉ-MA (mg/Kg)	REFERÊNCIA/ Brasil
Al (Total)	384.98 (SE±6,63)	---
Pb (Total)	1.17 (SE±0,06)	0.30 mg/Kg *
Cd (Total)	< 0.100	0.05 mg/Kg *
Cu (Total)	3.16(SE±0,42)	30.0 mg/Kg **
Zn (Total)	50.62 (SE±9,94)	50.0 mg/Kg **
Fe (Total)	152.55(SE±3,06)	14 mg/dia***
Mg (Total)	840.15 (SE±16,77)	260 mg/dia***

* ANVISA RDC42/2013 and ANVISA/Decree Nº 88, March 26, 2021.

**Decreto nº 55.871, Março 26, 1965.

***Resolução-RDC Nº 269, SETEMBRO 22, 2005.

Os valores encontrados estão acima do permitido pelas resoluções nacionais (ANVISA, 2013 e Decreto nº 55.871 de 1965 e Resolução RDC-ANVISA de 2005-ANVISA).

Embora as legislações nacionais não relatam a quantidade máxima para o consumo de Mg, Fe e Al no músculo dos peixes, a ANVISA relata uma ingestão diária recomendada (IDR) de 260 mg/dia para adultos e 14 mg/dia para crianças para ferro (ANVISA, 2005), já o alumínio não foi identificado valores de referência. O biomonitoramento dos metais nos ambientes aquáticos é fundamental, visto que estão relacionados a eventuais distúrbios no crescimento e reprodução dos peixes, bem como alterações histopatológicas na pele, brânquias, fígado, baço e rins dos peixes. Uma vez consumidos, estes animais com excesso de metais em seu organismo podem causar doenças relacionadas aos sistemas respiratório, nervoso, circulatório e até mesmo causar câncer e doenças renais crônicas em seres humanos devido ao consumo (VITEK *et al.*, 2007 e PAULA, 2006).

Análises de biomarcadores

As análises histológicas mostraram alterações que têm sido relacionadas à contaminação de ambientes aquáticos, e possivelmente ocorreram em resposta aos HPAs e metais encontrados também em nosso campo de estudo (Figura 3).

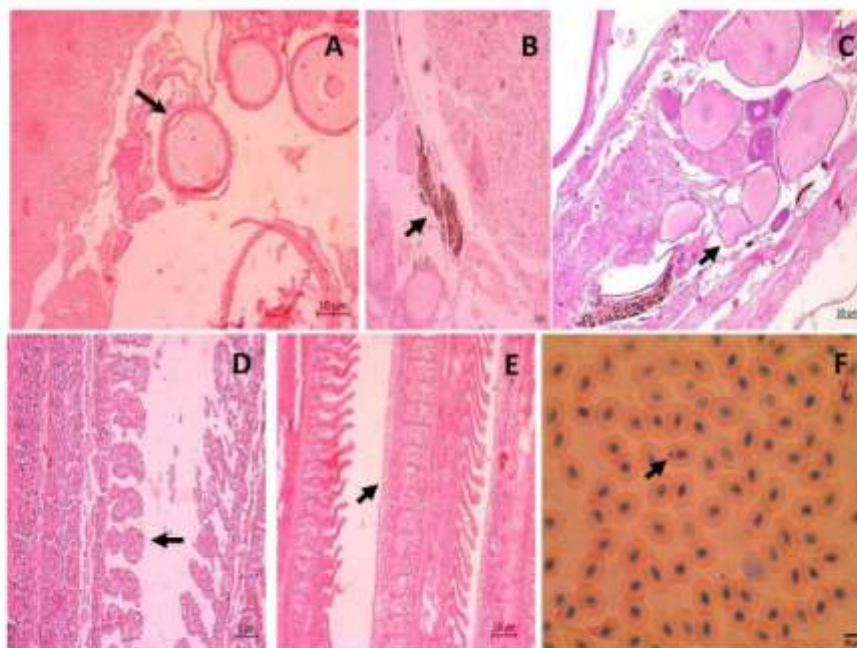


Figura 3. Danos celulares em *Sciades herzbergii* coletados na Baía de São José-MA. A: (20x) Gônada - Retração Citoplasmática (seta); B: (40x) Gônada - Melanomacrófagos (seta); C: (20x) Gônada - Oócitos atresicos (seta); D: (40x) Brânquia - Hiperplasia (seta); E: (40x) Brânquia - Fusão Lamelar (seta); F: (100x) Sangue - Micronúcleo (seta).

As alterações encontradas nas gônadas foram retração citoplasmática, melanomacrófagos e oócitos atresicos, essas são respostas ao sistema imunológico, para combater os agentes causadores das agressões aos organismos (BERNET *et al.*, 1999), podendo expressar suas respostas através de inflamações e desregulação hormonal (LINARES-CASENAVE *et al.*, 2002). Nas brânquias apresentaram alterações como hiperplasia e fusão lamelar, Garcia-Santos *et al.* (2007) relatam que o aparecimento dessas alterações, ocorrem devido às modificações das brânquias para atuar como um mecanismo de defesa, formando barreiras aos contaminantes aquáticos.

As características histológicas encontradas nos órgãos-alvo como brânquias, rins e gônadas, podem expressar diversas alterações decorrentes de contaminantes devido ao

tempo de exposição, mostrando assim os órgãos mais afetados e os animais com maior sensibilidade a contaminantes (AKAISHI *et al.*, 2004).

Na análise sanguínea observou-se variadas frequências de micronúcleos eritrocitários em todos os animais coletados. Os marcadores genotóxicos são bioindicadores de contaminação, podendo evidenciar o potencial mutagênico de origem ambiental (SOUZA *et al.*, 2006).

CONCLUSÃO

Os métodos de quantificação de HPAs na água e metais nos músculos de peixes, complementados por análises de danos celulares em peixes, têm grande potencial para o biomonitoramento aquático, pois, neste estudo, evidenciaram que a Baía de São José, litoral do Estado do Maranhão, está sobre influência antropogênica, com a presença de contaminantes potencialmente mutagênicos para peixes e seres humanos. Isso aponta para a necessidade de sistematizar o biomonitoramento na região, a fim de identificar e mitigar os efeitos nocivos ao meio ambiente e às comunidades.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro na concessão de auxílios e bolsas.

REFERÊNCIAS

AGAH, H., LEERMAKERS, M., ELSKENS, M., FATEMI, S., e BAEYENS, W. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. **Environmental monitoring and assessment**, 157(1), 499-514, 2009.

AKAISHI, F. M., SILVA DE ASSIS, H. C., JAKOBI, S. C. G., EIRAS-STOFELLA, D. R., ST-JEAN, S. D., COURTENAY, S. C. e 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. **Archives of environmental contamination and toxicology**, 46(2), 244-253, 2004.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 269**, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária RESOLUÇÃO - RDC Nº 42**, DE 29 DE AGOSTO DE 2013.

ARANTES, F. P., SAVASSI, L. A., SANTOS, H. B., GOMES, M. V., & BAZZOLI, N. Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium, and lead in muscle, liver, and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 88, 137-147, 2016.

BARRETO, L., BARROS, F., BONOMO, P., ROCHA, F., E AMORIM, J. Eutrofização em rios brasileiros. **Enciclopédia biosfera**, 9(16), 2013.

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.

BLABER SJM, BARLETTA M. Uma revisão da pesquisa de peixes estuarinos na América do Sul: O que foi alcançado e qual é o futuro para a sustentabilidade e Conservação, **Journal of Fish Biology**; 89(1):537-68, 2016.

CARUSO, M. S. F., & ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos-benzo (a) pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 67(1), 1-27, 2008.

COLLIER, T. K., JOHNSON, L. L., STEHR, C. M., MYERS, M. S., e STEIN, J. E. A comprehensive assessment of the impacts of contaminants on fish from an urban waterway. **Marine Environmental Research**, 46(1-5), 243-247, 1998.

COSTA, C. R. *et al.*, (2008) A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.

CONAMA (2005) Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 357, de 17 de Março de 2005.

CONAMA (2012) Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 454, de 1/11/2012.

CONAMA (2011) Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 430 de 2011.

CONNON, R. E., GEIST, J., & WERNER, I. Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. **Sensors**, 12(9), 12741-12771, 2012.

DECRETO Nº 55871, DE 26 DE MARÇO DE 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961.

U.S. EPA (1996) "Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils," Revision 2. Washington, DC.

FENEC, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**. 455:81-95, 2000.

FERREIRA, J. T.; SCHOONBEE, H. J.; SMIT, G. L. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. **Journal of Fish Biology**, v. 25, n. 1, p. 35-41, 1984.

GARCIA-SANTOS, S., MONTEIRO, S. M., CARROLA, J., e FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59, 376-381, 2007.

HSU T.; ENG, F. Studies on the susceptibility of various organs of zebrafish (*Brachydanio rerio*) to benzo(a)pyrene-induced DNA adduct formation. **Chemosphere**. v. 33, n. 10, p. 1975-1980, 1986.

LINARES-CASENAVE, J.; VAN EENENNAAM, J. P.; DOROSHOV, S. I. Ultrastructural and histological observations on temperature-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 18, n. 4-6, p. 382-390, 2002.

LIU, WC; LIU, HM e KEN, PJ. Investigando o transporte de contaminantes de metais pesados em águas estuarinas. **Monitoramento e Avaliação Ambiental** , vol. 192, nº. 1, pp. 31, 2020.

LOUIZ, I., BEN-ATTIA, M., e 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(3), 266-273, 2009.

MANJU, MR; BALAKRISHNAN, K.P. Physiological resposta à concentração subletal de níquel em marinha e algas de água doce. **Indian Journal Fish**. 48,159-164, 2001.

MARTINEZ, CBR.; CÓLUS, I. M. S. (2002) Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E. et al (Eds.). A bacia do Rio Tibagi. Londrina-Paraná: UFPR, parte C, p. 551-577.

PEREIRA, G. A., OLIVEIRA, G. H., e PINTO, A. L. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador da qualidade das águas superficiais da bacia do córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Revista Geomae**, 1(1), 69-82, 2010.

PAULA, M. INIMIGO INVISÍVEL: METAIS PESADOS E A SAÚDE HUMANA. **Periódico Tchê Química**. Vol. 3 - N. 6 – AGO/2006. Porto Alegre – RS. Brasil, 2006.

POLEKSIC, V; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish Gills as Monitor of Sublethal Chronic Effects of Pollution. In: Muller, R. and Lloyd, R., Eds., Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. **Fishing News Books Ltd. Farnham** pp 339-352, 1994.

PEREIRA NETTO, A. D., MOREIRA, J. C., DIAS, A. E. X., ARBILLA, G., FERREIRA, L. F. V., OLIVEIRA, A. S., & BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química nova**, 23, 765-773, 2000.

SANTOS, A. A., EGAMI, M. I., RANZANI-PAIVA, M. J. T., & JULIANO, Y. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): Seasonal variation, sex and gonadal maturation. **Aquaculture**, 296(3-4), 359-366, 2009.

DA SILVA SOUZA, TATIANA; FONTANETTI, CARMEM S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 605, n. 1-2, p. 87-93, 2006.

UENO, S., *et al.*. (1995) Role of cytochrome P450 in hepatotoxicity induced by di- and tributyltin compounds in mice. *Archives of Toxicology*. v. 69, p. 655-658.

VIGANÒ, L., BENFENATI, E., BOTTERO, S., CEVASCO, A., Monteverde, M., e Mandich, A. Endocrine modulation, inhibition of ovarian development and hepatic alterations in rainbow trout exposed to polluted river water. **Environmental Pollution**, 158(12), 3675-3683, 2010.

VITEK, T., SPURNÝ, P., MAREŠ, J., e ZIKOVA, A. Heavy metal contamination of the Loučka River water ecosystem. **Acta Veterinaria Brno**, 76(1), 149-154, 2007.