



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

SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

**BIOMARCADORES ENZIMÁTICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*
LINNAEUS, 1763 (CRUSTACEA, DECAPODA) PARA AVALIAÇÃO DE
IMPACTO ANTRÓPICO NA REGIÃO PORTUÁRIA DE SÃO LUÍS,
MARANHÃO**

São Luís – MA

2018

SUELEN ROSANA SAMPAIO DE OLIVEIRA

**BIOMARCADORES ENZIMÁTICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*
LINNAEUS, 1763 (CRUSTACEA, DECAPODA) PARA AVALIAÇÃO DE
IMPACTO ANTRÓPICO NA REGIÃO PORTUÁRIA DE SÃO LUÍS,
MARANHÃO**

Dissertação de mestrado apresentada em
cumprimento às exigências do Programa
de Pós-Graduação em Oceanografia da
Universidade Federal do Maranhão, para
a obtenção do título de mestre.

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

São Luís – MA

2018

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

Oliveira, Suelen Rosana Sampaio de.

Biomarcadores enzimáticos e histológicos em *Ucides cordatus* Linnaeus, 1763 Crustacea, Decapoda para avaliação de impacto antrópico na região portuária de São Luís, Maranhão / Suelen Rosana Sampaio de Oliveira. - 2018.
93 f.

Orientador(a): Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Áreas portuárias. 2. Biomarcadores bioquímicos. 3. Biomarcadores histológicos. 4. Biomonitoramento. 5. Caranguejo-uçá. I. Carvalho Neta, Raimunda Nonata Fortes. II. Título.

**BIOMARCADORES ENZIMÁTICOS E HISTOLÓGICOS EM *Ucides cordatus*
LINNAEUS, 1763 (CRUSTACEA, DECAPODA) PARA AVALIAÇÃO DE
IMPACTO ANTRÓPICO NA REGIÃO PORTUÁRIA DE SÃO LUÍS,
MARANHÃO**

Dissertação de mestrado apresentada em
cumprimento às exigências do Programa
de Pós-Graduação em Oceanografia da
Universidade Federal do Maranhão, para
a obtenção do título de mestre.

Aprovada em: 30 / 01 / 2018

Banca examinadora

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

Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
1º examinador

Profa. Dra. Marianna Basso Jorge
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
2º examinador

“A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca e que, esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade.”

Carlos Drummond de Andrade

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é uma missão nada fácil! Espero conseguir expressar nessas linhas minha gratidão a todos que me ajudaram e me apoiaram durante esta caminhada.

Sou muito grata a Deus pela minha vida e a vida de todos que cruzaram meu caminho, por ser a luz que ilumina meus passos e pelo seu infinito amor e cuidado. É na Tua palavra encontro a força que preciso para continuar caminhando! Obrigada por tudo, meu querido Deus! És a Luz do mundo e a minha fortaleza!

À minha base, minha família, agradeço por todos esses anos de cuidado e amor e pelo apoio incessante nas minhas atividades. Agradeço em especial aos meus queridos pais Maria e Valdecy, que deram o melhor de si para os filhos e que não pouparam esforços para a minha formação. Amo vocês!

Agradeço a minha orientadora, Raimunda Fortes, por mais esta oportunidade de trabalharmos juntas, partilhar seu conhecimento, apoio e dedicação. Obrigada por ser exemplo de profissional ético e acima de tudo, amável. Posso afirmar que foste uma das pessoas mais importantes para a minha formação profissional. Minha querida “mãe científica”, muito obrigada!

Sou grata também a minha amiga Wanda Batista, pelo grande auxílio na organização das coletas de campo, procedimentos laboratoriais e por dedicar parte do seu tempo a esta pesquisa. Muito obrigada pela sua amizade, amabilidade e dedicação. Sou sua fã!

Agradeço ao meu amigo e namorado Nathanael, pelo companheirismo, estímulo e cuidado, e também por seu esforço em me auxiliar na elaboração de partes desta dissertação. Obrigada por tudo, meu bem.

A Ticianne Andrade e Eliane Ribeiro, agradeço pela disponibilidade de tempo, instrução dos procedimentos bioquímicos e dicas durante as análises. Vocês são ótimas professoras, muito obrigada!

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

Ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) - Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), agradeço pelo suporte durante a pesquisa.

A minha equipe executora, composta por voluntários e amigos, em especial a Jucimary Braga, Ione Marly e Katherine Noleto. Sou infinitamente grata por participarem

ativamente do projeto, auxiliando nas atividades de campo e laboratório. Obrigada pelo esforço de cada um!

Agradeço aos catadores artesanais Seu Norato, do Coqueiro, e Seu Ribamar, da Raposa, pelo transporte até os pontos de coleta, seu trabalho de catação e conhecimento popular. A pesquisa não seria possível sem vocês! Muito obrigada!

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

Agradeço ao Laboratório de Genética da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), por nos ceder espaço para a análise de proteínas nas amostras de hepatopâncreas.

Agradeço ao Laboratório de Físico-química de Alimentos e Água da UEMA, pelo auxílio na preparação das soluções químicas para os procedimentos bioquímicos.

Ao Laboratório de Ficologia (LabFic) da UFMA, em especial a Bethânia, Lisana, Jordana e Amanda, agradeço pelo auxílio na fotomicrografia das lâminas histológicas. Obrigada pelos ensinamentos!

Quero expressar também meus agradecimentos à Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Naturais (SEMA – MA) e ao Instituto Federal do Maranhão (IFMA) pela disponibilidade do transporte e traslado para os locais de coleta e à Ticianne e Adriana que intermediaram nosso pedido de transporte a estas instituições.

A todos da minha turma do PPGOceano, em especial a Lorena, Katherine, Lisana, Bethânia, Jefferson, Rayone, Louíse, Regiane e Isabela, agradeço pelos momentos de descontração, aprendizado e cumplicidade. Com vocês os dias tornaram-se mais suaves e alegres. Desejo a todos, muito sucesso e um lindo caminho a trilhar.

Agradeço à Universidade Federal do Maranhão, por proporcionar a oportunidade de desenvolver este trabalho e o suporte necessário para concluí-la, através do Programa de Pós-graduação em Oceanografia (PPGOceano). Estendo os agradecimentos à secretaria pelo apoio e aos professores do PPGOceano, pela excelente contribuição em cada disciplina, dedicação e incentivo à pesquisa. Muito obrigada!

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

RESUMO

O uso de biomarcadores é cada vez mais frequente em programas de biomonitoramento, dada a eficácia na avaliação de ambientes impactados, como regiões portuárias. Neste trabalho objetivou-se: 1) quantificar respostas bioquímicas e histológicas em *Ucides cordatus* oriundo da zona de influência do complexo industrial portuário de São Luís (Maranhão); e 2) identificar e caracterizar as principais metodologias que utilizam biomarcadores aplicados a organismos biomonitores para a avaliação de ambientes portuários, através de artigos científicos publicados em bases de dados no período de 2000 a 2016. Para a revisão de literatura, foi realizado uma busca de artigos que continham as palavras chaves “biomonitoring”, “biomarker”, “port” e/ou “harbor” em cinco bases de dados (BioOne, SciELO, ScienceDirect, Scopus e Wiley Online Library). Para a análise de respostas biológicas, *Ucides cordatus* (caranguejo-uçá) foram capturados bimestralmente no complexo estuarino de São Marcos (região impactada) e no estuário do rio Paciência (pouco impactada) – Maranhão, Brasil. De cada espécime, foi registrado os dados biométricos e realizada a extração das brânquias para realização do exame histológico e do hepatopâncreas para análise da atividade das enzimas Catalase (CAT) e Glutathione-S-Transferase (GST). Como resultado da análise experimental com o uso de biomarcadores em caranguejos, todas as brânquias apresentaram lesões em ambas as áreas, sendo as lesões mais frequentes o rompimento das células pilastras e o colapso lamelar. A atividade da CAT e GST mostrou um padrão diferenciado nas duas áreas analisadas, sendo a atividade da GST considerada o melhor biomarcador com maior sensibilidade nos caranguejos da região portuária. Quanto a análise biométrica, os valores mostram que os exemplares da área impactada estavam com medidas inferiores aos da área de pouco impacto. No geral, esses achados apoiam o uso de biomarcadores para avaliação de regiões portuárias, sendo a análise integrada (bioquímica e histológica) em *U. cordatus* mais indicada para identificar os impactos nos organismos ocasionados pela poluição dos ambientes estuarinos.

Palavras-chave: Áreas portuárias, Biomarcadores bioquímicos, Biomarcadores histológicos, Biomonitoramento, Caranguejo-uçá.

ABSTRACT

The use of biomarkers is increasingly frequent in biomonitoring programs, given the effectiveness of evaluating impacted environments such as port regions. This work aimed to: 1) quantify biochemical and histological responses in *Ucides cordatus* from the zone of influence of the port complex of São Luís (Maranhão); and 2) identify and characterize the main methodologies that use biomarkers applied to biomonitor organisms for the evaluation of port environments, through scientific articles published in databases from 2000 to 2016. For the literature review, a search was carried out for articles that contained the key words "biomonitoring", "biomarker", "port" and/or "harbor" five databases of data. in five databases (BioOne, SciELO, ScienceDirect, Scopus and Wiley Online Library). For the analysis of biological responses, *Ucides cordatus* (uçá-crab) were captured bimonthly in the estuarine complex of São Marcos (impacted region) and in the estuary of the Paciência river (low impact area) - Maranhão, Brazil. From each specimen, the biometric data were recorded and the gills were extracted for histological examination and of the hepatopancreas to analyze the activity of the enzymes Catalase (CAT) and Glutathione-S-Transferase (GST). As results of the experimental analysis with the use of biomarkers in crabs in the island of São Luís, all gills had lesions in both areas, being the most frequent lesions the breakdown of pilasters and lamellar collapse. The activity of CAT and GST showed a different pattern in the two areas analyzed, with GST activity being considered the best biomarker with the highest sensitivity in the crabs of the port region. In general, these findings support the use of biomarkers to evaluate port regions, and the integrated analysis (biochemical and histological) in *U. cordatus* is best suited to identify identify impacts on organisms caused by pollution from estuarine environments.

Keywords: Biomonitoring, Biochemical biomarkers, Hitological biomarkers, Port areas, Uça crab.

LISTA DE FIGURAS

TEXTO INTEGRADOR

Figura 1. Localização dos pontos de coleta no complexo estuarino de São Marcos e no estuário do rio Paciência, na Ilha de São Luís – MA.	20
Figura 2. Exemplar de <i>Ucides Cordatus</i>	21
Figura 3. Procedimentos de coleta. A: catador utilizando a técnica de braceamento para a captura do recurso; B: dissecção dos órgãos de <i>U. cordatus</i>	22
Figura 4. Ilustração demonstrativa das medidas biométricas em <i>U. cordatus</i> . A – Visão dorsal do caranguejo-uçá. LC: Largura da carapaça; CC: comprimento da carapaça. B – Face externa do própodo quelar. CDM: Comprimento do dedo móvel; LQ: largura da quela; CQ: comprimento da quela.	23

Artigo I

Figura 1. Porcentagem de monitoramento de regiões portuárias por continente e organismos utilizados no trabalho, com base nas análises de biomarcadores.....	34
Figura 2. Frequência de publicações citando a utilização das espécies mais representativas em monitoramentos de regiões portuárias (um organismo por monitoramento)	34

Artigo II

Figura 1. Localização dos pontos de coleta no complexo estuarino de São Marcos e no estuário do rio Paciência, na Ilha de São Luís, no nordeste brasileiro.	52
Figura 2. Alterações visualizadas no filamento branquial de <i>U. cordatus</i> . A – Deformação do canal marginal; B – Colapso lamelar seguido de inchaço; C – Rompimento das células pilastras; D – Descolamento da cutícula. E – Nódulo hemocítico; F – Rompimento da cutícula. HE	55
Figura 3. Atividade da CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) em espécimes de <i>U. cordatus</i> , durante o período chuvoso de 2016.....	
Figura 4. Atividade da CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) em espécimes de <i>U. cordatus</i> , durante o período de estiagem de 2016.	57

Figura 5. Atividade da GST ($\mu\text{mol/mg prot}$) em espécimes de <i>U. cordatus</i> , durante o período chuvoso e de estiagem de 2016	57
--	----

LISTA DE TABELAS

Artigo I

Tabela 1. Artigos selecionados que continham uso de biomarcadores para a avaliação de áreas portuárias ou de influência portuária.....	31
---	----

Artigo II

Tabela 1. Valores em mg/kg de metais pesados em sedimentos das duas áreas de amostragem.....	54
---	----

Tabela 2. Média e desvio padrão dos parâmetros biométricos de <i>U. cordatus</i> capturados nos ambientes estuarinos amostrados, no período chuvoso e de estiagem de 2016.....	54
---	----

Tabela 3. Porcentagem das lamelas afetadas por alterações nas brânquias de <i>U. cordatus</i> capturados nos ambientes estuarinos amostrados.....	55
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
---------------------------------	-----------

2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 METODOLOGIA	18
3.1 Levantamento bibliográfico.....	18
3.2 Área de estudo	18
3.3 Táxon <i>Ucides cordatus</i>	20
3.4 Obtenção das amostras	21
3.5 Análise Biométrica	22
3.6 Análise Bioquímica	23
3.7 Análise Histológica	24
3.8 Tratamento estatístico dos dados.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Artigo I – Uso de biomarcadores em organismos biomonitores para avaliação de regiões portuárias: uma revisão	25
4.2 Artigo II – Biomarcadores enzimáticos e morfológicos em <i>Ucides cordatus</i> (Crustacea, Decapoda) em um complexo industrial portuário da costa norte do Brasil	48
5 CONCLUSÃO GERAL	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXOS.....	76

1 INTRODUÇÃO GERAL

As atividades portuárias são os grandes impulsores da economia brasileira, beneficiando o crescimento do Brasil através da importação e exportação de produtos que abrangem desde a agricultura, aos aparelhos eletrônicos (KAPPEL et al., 2005). Devido ao seu custo-benefício, as operações portuárias tornam-se mais frequentes, tendo grande potencial para introduzir contaminantes no meio ambiente, por meio da geração de resíduos sólidos, de efluentes, além da probabilidade de acidentes, como derramamento de petróleo (CHOPRA; MEINDL, 2011; SILVA; GOMES, 2012). Estes empreendimentos geralmente estão inseridos ou próximos a áreas industriais (potencialmente poluidoras), o que aumenta o risco de impactos no meio ambiente. Deste modo, o monitoramento ambiental envolvendo organismos em zonas portuárias é de extrema relevância, uma vez que diversos tipos de poluentes são resultantes deste tipo de atividade (ANTAQ, 2011).

Neste cenário, o ecossistema aquático é um dos ambientes que mais são impactados pela atividade antrópica, pois são os receptores finais de efluentes e altamente suscetíveis a contaminantes provenientes de outros compartimentos ambientais, lixiviados pelas chuvas ou até mesmo através de deposição atmosférica (DOMINGOS, 2006). Neste tipo de ambiente vêm ocorrendo o lançamento deliberado de contaminantes devido ao aumento da atividade antrópica sobre o recurso, que somado a outros fatores, perturba o funcionamento e a organização dos ecossistemas, constituindo uma ameaça para os organismos que dependem direta ou indiretamente deste recurso (DELUNARDO, 2010; GOULART; CALLISTO, 2003).

Os organismos aquáticos, principalmente aqueles que ocupam o topo da cadeia alimentar, acabam sendo expostos de forma excessiva direta ou indireta às substâncias em concentrações “normais”, que por efeito acumulativo, se somam tornando-se cada vez mais tóxicas, podendo assim afetar toda a biota e também o homem, causando riscos pouco conhecidos para a saúde do ambiente e também de gerações futuras (FREITAS; BRILHANTE; ALMEIDA, 2001; SODRÉ; LENZI; COSTA, 2001; MORAES; JORDÃO, 2002).

Através da exposição a compostos xenobióticos, a biota aquática participa de processos de bioacumulação, que resultam em efeitos adversos: o de bioconcentração e o de biomagnificação (GOMES; SATO, 2011). A bioconcentração é a capacidade de concentrar um elemento nos tecidos dos organismos, em função da concentração da água,

enquanto que a biomagnificação é um processo de bioacumulação de substâncias, no qual leva-se em consideração os níveis tróficos da cadeia alimentar, ou seja, quanto maior o nível trófico, maior a bioacumulação de determinadas substâncias (GRAY, 2002; BISINOTI; JARDIM, 2004; KEHRIG et al., 2011).

Os efeitos adversos dos xenobiontes nos organismos aquáticos são difíceis de serem mensurados, mas as metodologias precisam ser testadas em diferentes regiões e com diferentes espécies. Para se conhecer os malefícios de xenobiontes lançados no meio ambiente, ensaios de toxicidade são aplicados em organismos-testes em condições laboratoriais e de campo, para monitorar e medir a intensidade dos efeitos sobre a biota aquática (MARTINEZ; CÓLUS, 2002). Tal monitoramento é mais eficaz quando se utiliza as respostas dos organismos aquáticos aos xenobiontes, especialmente aqueles do topo da cadeia trófica. Atualmente, existem metodologias que descrevem estes efeitos na biota aquática, utilizando como técnica, as respostas biológicas a níveis celular, tecidual, morfológicos ou comportamentais dos organismos, denominadas biomarcadores (FREIRE et al., 2008).

O uso de biomarcadores é cada vez mais frequente em estudos ecotoxicológicos, pois possibilita resultados a curto prazo, além de ser uma metodologia de fácil execução (FREIRE et al., 2008). Segundo Stegeman et al. (1992), a frequência da utilização de marcadores biológicos em trabalhos ecotoxicológicos pode ser explicada pelo fato de alertar detecção precoce de perturbação ambiental ocasionados por substâncias tóxicas, verificarem a intensidade da contaminação e dos efeitos adversos e também por ajudar a proteger espécies ou populações de possíveis contaminações. Dentro deste contexto, os biomarcadores são instrumentos que atuam de forma preditiva, possibilitando melhor gestão ambiental e medidas corretivas no ambiente e, como a biorremediação, minimizando danos ecológicos severos (CAJARAVILLE et al., 2000; DELUNARDO, 2010).

Várias classes de biomarcadores têm sido utilizadas como ferramentas no biomonitoramento de ecossistemas, pois é uma metodologia de alta sensibilidade, rapidez, baixo custo e proporciona um diagnóstico da “saúde” dos organismos aquáticos e informações científicas relacionadas a riscos e/ou perturbações ambientais, que podem ser utilizadas por gestores e sociedade em geral (FREIRE et al., 2008). Portanto, o uso desses biomarcadores assume extrema importância, pois possibilita o diagnóstico da qualidade do ecossistema e também a saúde da população local.

Neste contexto, biomarcadores bioquímicos, como as enzimas catalase e glutathione S-transferase, compõem a primeira linha de defesa das células contra as espécies reativas de oxigênio e agentes destrutivos (FERNANDES, 2012). Já os biomarcadores histológicos, como lesões branquiais, mensuram danos a níveis teciduais, ocasionados em virtude do contato a de substâncias estranhas ao organismo (SILVA, 2004). A utilização destas metodologias em espécies marinhas, contribuem para o entendimento da saúde dos organismos, principalmente em áreas potencialmente contaminadas.

Em áreas de intensas atividades econômicas, como o Complexo Portuário de São Luís (Maranhão), o crescimento nas últimas décadas tem aumentado a probabilidade de ocorrer poluição de águas costeiras, degradação de manguezais e acidentes ambientais (AMARAL; ALFREDIN, 2010; MARANHÃO, 2017). Este empreendimento portuário é um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento da economia no estado do Maranhão, possuindo grande profundidade no canal estuarino, o que possibilita o atracamento de navios de grande calado para importação e exportação de minério de ferro, manganês, soja, alumínio e derivados de petróleo (SOUSA, 2009; ASSIS et al., 2013). Há dados que comprovam a perturbação nos ambientes do complexo portuário (CARVALHO-NETA et al., 2016). Portanto, faz-se necessário, estudos relacionados com novas metodologias para o monitoramento de organismos da região (utilizando espécies nativas, como o *Ucides cordatus*), bem como diagnósticos sobre a qualidade dos ambientes aquáticos próximos à zona de influência do complexo portuário de São Luís.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Quantificar respostas biológicas de *Ucides cordatus* indicativas de impacto ambiental oriundo da zona de influência do complexo portuário de São Luís, Maranhão.

2.2 Objetivos Específicos

- Averiguar a atividade enzimática da Catalase e da Glutathione-S-transferase em *Ucides cordatus* coletados da região do complexo portuário e de uma área de pouco impacto, em duas estações do ano;
- Analisar lesões histológicas branquiais em *Ucides cordatus* oriundos da região de influência portuária e de uma área de pouco impacto, em duas estações do ano;

- Identificar as principais metodologias que utilizam biomarcadores aplicados a organismos biomonitores para a avaliação de ambientes portuários através de artigos científicos publicados em bases de dados no período de 2000 a 2016.

3 METODOLOGIA

3.1 Levantamento bibliográfico

O material para esta revisão de literatura foi obtido através de cinco base de dados de artigos científicos: ScienceDirect (<http://www.sciencedirect.com/>), SciELO (<http://www.scielo.org/php/index.php>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), BioOne (<http://www.bioone.org/>) e Wiley Online Library (<http://onlinelibrary.wiley.com/>). As palavras-chave utilizadas na pesquisa foram “biomonitoring”, “biomarker”, “port” e “harbor” em conjunto com os operadores booleanos (And, Or e And Not).

Somente artigos publicados ou submetidos entre o período de 2000 a 2016, que continham o uso de biomarcadores para a avaliação de áreas portuárias ou de influência portuária, foram selecionados.

Assim como Oliveira, Evêncio-Neto e Baratella-Evêncio (2016), foram considerados apenas artigos de investigação científica, excluindo quaisquer artigos de revisão de literatura e resumos de conferências. Para a seleção dos artigos, foi levado em consideração apenas o título, o resumo, destaques e palavras-chave. Somente os artigos escolhidos foram lidos em sua totalidade, dando ênfase ao resumo, metodologia e conclusão. A análise do conteúdo foi sistemática e quantitativa, permitindo a inferências sobre os dados coletados, conforme o método de Cavalcante, Calixto e Pinheiro, (2014). Os textos lidos foram organizados em uma tabela em ordem alfabética e classificados por autores e ano, tipo de biomarcador (biomarcador bioquímico, biomarcador genotóxico, biomarcador histológico e biomarcador molecular) e organismo biomonitor.

3.2 Área de estudo

A região de estudo abrange manguezais da ilha de São Luís - MA, sujeitos à influência de atividades industriais portuárias da baía de São Marcos, bem como em manguezais da região estuarina do rio Paciência – duas áreas de importância econômica no Maranhão (Fig. 1).

A baía de São Marcos (complexo estuarino de São Marcos) é uma região estuarina localizada na porção ocidental da costa da ilha de São Luís, onde deságuam os rios Mearim e Pindaré (FEITOSA, 1983; SOUSA, 2009). Este ambiente é caracterizado

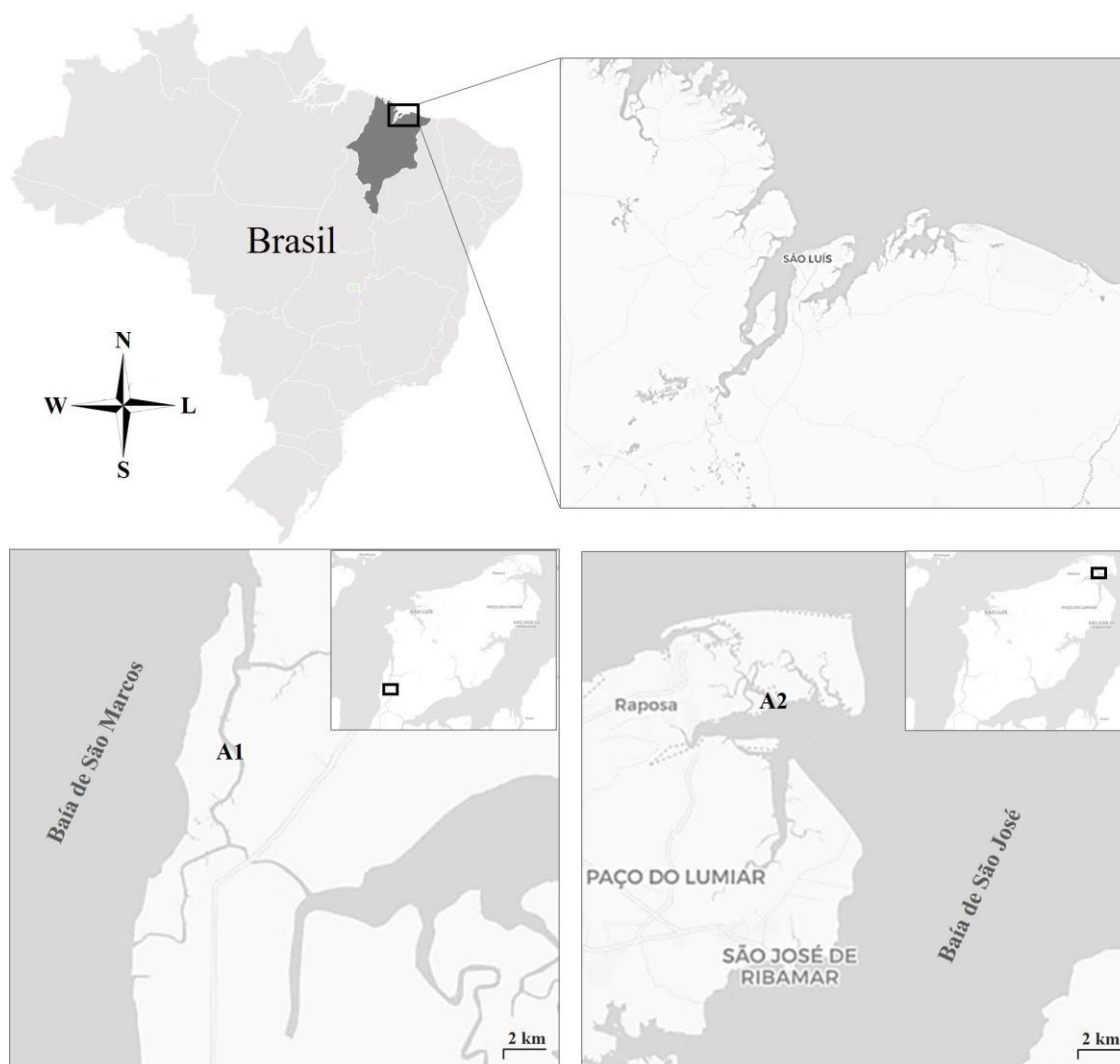
por possuir um “*canal central bem desenvolvido, abrindo-se largamente sobre a Plataforma Continental Maranhense e, muitos dos seus atributos físicos e biológicos mais importantes, contudo, não são transicionais e sim exclusivos*” (SÁ, 2014). Além destas particularidades, é um importante local de pesca e abriga o Complexo Portuário de São Luís, um dos maiores em movimentação de carga da América Latina, onde estão localizados o Terminal Marítimo de Ponta da Madeira, Porto do Itaqui e Porto da Alumar/ALCOA (AMARAL; ALFREDIN, 2010). Destes portos, os principais produtos para importação e exportação são o minério de ferro, manganês, soja, alumínio e derivados de petróleo (SOUSA, 2009).

A grande profundidade do canal estuarino permite receber navios nacionais e internacionais de grande porte, sendo um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento da economia no estado do Maranhão (ASSIS et al., 2013). Nesta região, o impacto sobre as espécies foi descrito por vários pesquisadores (CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2013; CARVALHO-NETA; TORRES; ABREU-SILVA, 2012; PINHEIRO-SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA, 2013), desta forma, classificada como área potencialmente impactada.

O estuário do rio Paciência está situado na porção nordeste da ilha de São Luís, sendo formado pelas águas do rio Paciência e pelas massas de água salgada da baía de São José (CASTRO, 2001). É considerada uma importante região pesqueira e livre de empreendimentos portuários.

Assim como Andrade (2016) os caranguejos foram coletados em manguezais adjacentes aos portos. O ponto A1 está localizado nas proximidades da comunidade de Coqueiro e ao porto privativo de um empreendimento econômico que produz e exporta alumina (Complexo estuarino de São Marcos – São Luís). Este empreendimento é conhecido por impactos ambientais e sociais em comunidades que habitam em seu entorno e, portanto, foi considerada como área impactada neste trabalho. O ponto A2 está localizado na ilha do Facão, no município de Raposa (estuário do rio Paciência), cidade onde a maioria dos moradores sobrevive da atividade pesqueira artesanal (MONTELES et al., 2009). Neste ponto de amostragem não há residências próximas, porém há o escoamento de contaminantes provenientes das bacias de drenagem da região. Assim, este local foi denominado como região pouco impactada. Os pontos A1 e A2 podem ser visualizados na Figura 1.

Figura 1. Localização dos pontos de coleta no complexo estuarino de São Marcos e no estuário do rio Paciência, na Ilha de São Luís – MA.



Fonte: Imagens obtidas do banco de dados TargetMap.

3.3 Táxon *Ucides cordatus*

O crustáceo decápode *Ucides cordatus* Linnaeus (1763), conhecido popularmente no Brasil como caranguejo-uçá (Fig. 2), é uma espécie eurialina endêmica de manguezais tropicais e subtropicais da costa leste das Américas, com sua ocorrência registrada desde a Flórida (Estados Unidos da América) até Santa Catarina (Brasil) (MELO, 1996). É um dos principais recursos explorados por comunidades brasileiras que vivem no entorno de manguezais (SILVA, 2002), sendo, na maioria das vezes, a principal fonte de renda para esta população (GLASER; DIELE, 2004).

Figura 2. Exemplar de *Ucides Cordatus*



O caranguejo-uçá apresenta hábito alimentar essencialmente herbívoro, estocando folhas senescentes de mangue em suas galerias subterrâneas, o que possibilita sua participação no processo de ciclagem de nutrientes (PEROTE, 2010) e também no aumento do fluxo de energia na cadeia alimentar do manguezal (SCHORIES et al., 2003). Por ser uma espécie escavadora, revolve as partículas de sedimento (bioturbação), promovendo a oxigenação do solo e disponibilidade de nutrientes (VASCONCELOS, 2008).

Apesar de apresentar relevante importância econômica e ecológica, este táxon aparece nas listas de espécies ameaçadas de extinção, devido a frequente degradação do seu habitat e a sobre-exploração sobre este recurso (PINHEIRO et al., 2016; PINHEIRO; RODRIGUES, 2011). Por apresentar tais importâncias, resistência, relevância para a região e ser considerada espécie-chave atuando como “engenheiros do manguezal” (KRISTENSEN, 2008), *U. cordatus* foi escolhido neste estudo, para a investigação de impacto em regiões portuárias.

3.4 Obtenção das amostras

Foram realizadas coletas bimestrais em 2016 (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro) na área impactada (A1) e na área pouco impactada (A2) durante a maré baixa, sob a autorização nº 019/2015 e processo nº 130687/2015 da Secretaria do Estado de Meio Ambiente e Recursos Naturais (SEMA – MA). Utilizando a técnica de braceamento, os catadores capturaram 20 exemplares de *U. cordatus* em cada área por

coleta (Fig. 3A). Para fins de padronização, foram coletados apenas exemplares machos em intermuda, evitando quaisquer efeitos da fase de muda e sexo, assim como proposto por Pinheiro et al. (2012).

Os exemplares foram dissecados com uma tesoura e pinças esterilizadas, para remoção das amostras biológicas (Fig. 3B). Após a extração do hepatopâncreas, as amostras do tecido foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para posterior análise enzimática. As brânquias retiradas de cada exemplar foram fixadas em Solução de Davidson durante 24 horas. Em seguida, foram lavadas e mantidas em álcool 70% até o processamento histológico. Paralelo à estas análises, também foram realizadas coletas de amostras de sedimento em frascos esterilizados nos dois locais (segundo a norma ABNT NBR 9898/1987) para análise química, utilizando o método 3051/2007 da U.S. EPA.

Figura 3. Procedimentos de coleta. A: catador utilizando a técnica de braceamento para a captura do recurso; B: dissecção dos órgãos de *U. cordatus*.

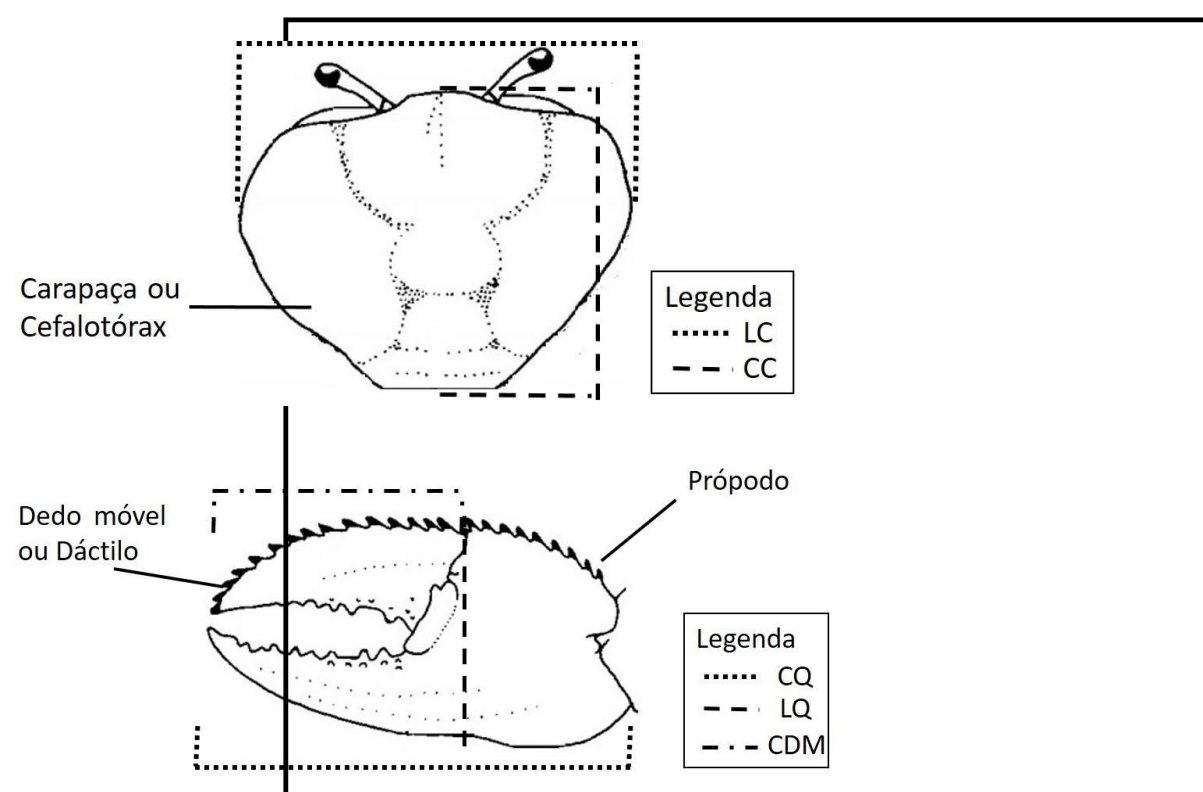


3.5 Análise Biométrica

De cada exemplar de *U. cordatus*, foram registrados os valores biométricos de acordo com Pinheiro e Fiscarelli (2001), onde foram coletados os seguintes dados: peso

total (PT) em gramas, mensurado em uma balança; largura da carapaça ou cefalotórax (LC), comprimento da carapaça (CC), largura da quela ou própodo quelar (LQ), comprimento da quela (CQ) e comprimento do dedo móvel (CDM) em centímetros, mensurados com auxílio de um paquímetro (Fig. 3).

Figura 4. Ilustração demonstrativa das medidas biométricas em *U. cordatus*. A – Visão dorsal do caranguejo-uçá. LC: Largura da carapaça; CC: comprimento da carapaça. B – Face externa do própodo quelar. CDM: Comprimento do dedo móvel; LQ: largura da quela; CQ: comprimento da quela.



Fonte: Adaptado de Pinheiro e Fiscarelli (2001)

3.6 Análise Bioquímica

As amostras de hepatopâncreas foram homogeneizadas e centrifugadas em solução tampão (Tris-HCl 50mM, KCl 0.15M pH 7.4), sendo o sobrenadante utilizado para determinação da atividade enzimática da glutathione-S-transferase (GST) e da catalase (CAT).

A atividade da GST foi quantificada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 340nm a 25° C, conforme Keen, Habig e Jakoby (1976) e modificado por Camargo e Martinez (2006), utilizando-se 10µl glutathione reduzida (GSH) e 10µl 1-chloro-2,4 dinitrobenzene (CDNB) como substrato, adicionados a 20µl da amostra em 960µl tampão fosfato de potássio (0,1M), pH 7,0 em uma cubeta. Já a atividade da CAT

foi avaliada, a 240nm, pela taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), utilizando 990µl de meio de reação e 10µL de amostra em uma cubeta, de acordo com Tagliari et al. (2004) e Ventura et al. (2002).

3.7 Análise Histológica

Para análise histopatológica, as brânquias foram submetidas à técnica histológica padrão, sendo desidratadas em série crescente de álcoois, diafanizado em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Os cortes transversais de 5µm de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Foram analisados dois cortes para cada órgão de cada animal. As alterações foram identificadas de acordo com Maharajan et al. (2015), Negro (2015), Rebelo et al. (2000) e Welsh, King e Maccarthy (2013). A contagem foi realizada de acordo com Rebelo et al. (2000), por meio da contabilização do número de lamelas afetadas por cada alteração, em relação ao número total de lamelas em cada brânquia.

3.8 Tratamento estatístico dos dados

Os dados das médias obtidas para a atividade da Catalase (CAT) e da Glutathione-S-Transferase (GST) e das lesões nas brânquias dos caranguejos foram submetidos ao teste de normalidade e foram comparados entre as regiões e entre as estações do ano pelo teste-t de Student.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação estão apresentados em forma de artigo em dois tópicos, sendo o primeiro relacionado ao levantamento de dados na literatura sobre o uso de biomarcadores em organismos biomonitores para avaliação de regiões portuárias ou de influência portuária; o segundo aborda sobre atividade enzimática da CAT e GST e alterações histológicas no tecido branquial em espécimes de *U. cordatus* provenientes de uma região portuária do Brasil.

4.1 Artigo I – Uso de biomarcadores em organismos biomonitores para avaliação de regiões portuárias: uma revisão *

Suelen Rosana Sampaio de Oliveira¹, Ticianne Sousa de Oliveira de Mota Andrade², Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta²

¹ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil. E-mail: suelenrsdo@gmail.com

² Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, São Luís, Maranhão, Brasil.

Abstract

Atividades portuárias são potenciais geradores de impactos ambientais e o seu crescimento aumenta a probabilidade de ocorrer poluição de águas costeiras, degradação de manguezais e acidentes ambientais, onde estes empreendimentos estão instalados. A geração de impactos de origem portuária, revela a importância de investigações ambientais nessas localidades. Para avaliar os danos causados pelos impactos portuários, diferentes organismos têm sido utilizados como biomonitores, principalmente moluscos e peixes, por apresentarem características que favorecem o resultado da análise. No biomonitoramento, o uso de biomarcadores proporcionam uma rápida resposta dos efeitos da exposição de organismos biomonitores a poluentes. Neste trabalho de revisão debatemos as principais metodologias utilizadas no biomonitoramento de ambientes portuários e as características dos principais organismos biomonitores empregados neste tipo de monitoramento. Os principais tipos de biomarcadores utilizados nessa abordagem são os bioquímicos, os genotóxicos e os histológicos; já os organismos biomonitores mais utilizados na avaliação de ambientes portuários são *Mytilus galloprovincialis*, *Carcinus maenas* e *Zoarcetes viviparus*. No geral, esses achados apoiam o uso combinado de biomarcadores para avaliação em regiões portuárias e recomenda-se a utilização de múltiplos biomarcadores na detecção de danos biológicos em resposta a exposição da biota a componentes xenobióticos.

Palavras-chave: Áreas portuárias, Biomarcadores, Biomonitoramento, Organismos biomonitores.

1 Introdução

A expansão de empreendimentos industriais gera uma grande preocupação em relação à riscos ambientais, havendo uma boa probabilidade de introdução de contaminantes químicos – sejam eles emergentes ou não, no meio ambiente (Bini and Wahsha 2014; Godoi et al. 2003). Uma vez acidentes ocorrem, trazem sérios danos à fauna e flora onde estes empreendimentos estão instalados, e dependendo do grau de impacto, a recuperação do ecossistema pode ser muito lenta.

Empreendimentos portuários são potenciais geradores de resíduos e impactos ambientais (Castro and Almeida 2012) por vários fatores: água de lastro (favorecendo a introdução de espécies exóticas), inserção de metais pesados e outros contaminantes através de resíduo de cargas e pinturas anti-incrustantes a base de elementos nocivos persistentes (tributilestanho – TBT, utilizado no passado) e outros componentes tóxicos (Bollmann et al. 2010; Godoi et al. 2003; Pletsch et al. 2010). Tais fatores alertam

* Este artigo será submetido para publicação na revista Environmental Monitoring and Assessment. ISSN: 1573-2959.

para o risco de acidentes ambientais, trazendo a preocupação do monitoramento da biota nestes locais potencialmente impactados.

O monitoramento ambiental consiste em avaliar periodicamente um local para obter resultados sobre a qualidade do ambiente (Bitar and Ortega 1998). As técnicas de monitoramento que utilizam organismos são denominadas “biomonitoramento”, tendo o propósito de auxiliar na mensuração de produtos químicos em tecidos e fluidos corporais e avaliar o efeito biológico de organismos (U.S. E.P.A. 2017), sendo consideradas ferramentas sensíveis que ajudam a avaliar a situação dos organismos e do ambiente (Buss et al. 2003).

Pesquisas têm demonstrando a preocupação de biomonitorar áreas sob influência de atividades portuárias, utilizando como método os biomarcadores em organismos biomonitores, a fim de avaliar as condições e vulnerabilidade do ambiente. A escolha desta metodologia baseia-se na rápida resposta aos efeitos de exposição a poluentes (Zorita et al. 2007). Partindo desta premissa, o presente estudo é uma revisão de literatura sobre as principais metodologias utilizadas no biomonitoramento de ambientes portuários e as características dos principais organismos biomonitores empregados neste tipo de monitoramento.

Biomarcadores como ferramentas para avaliação de ambientes perturbados

Metodologias que descrevem os efeitos adversos na biota aquática em resposta a exposição de perturbações no ambiente e que utilizam como técnica alterações biológicas a níveis molecular, celular, tecidual, morfológicos ou comportamentais dos organismos, são denominadas biomarcadores, um instrumento de fácil execução e que possibilita resultados a curto prazo (Freire et al. 2008; Walker et al. 2012).

Segundo Stegeman et al. (1992), é uma análise frequentemente utilizada em trabalhos ecotoxicológicos, por alertar precocemente perturbações ambientais ocasionadas por substâncias tóxicas, verificar a intensidade da contaminação e dos efeitos adversos, além de ajudar a proteger espécies ou populações de possíveis contaminações. Isto posto, os biomarcadores são instrumentos que atuam de forma preditiva, possibilitando medidas corretivas no ambiente, como a biorremediação, minimizando danos ecológicos severos (Cajaraville et al. 2000; Delunardo et al. 2013).

Esta abordagem vem sendo utilizada em muitos trabalhos de biomonitoramento em regiões portuárias potencialmente contaminadas (Fig. 1), por ser capaz de indicar e diagnosticar a qualidade ou perturbação no ambiente, uma vez que os organismos apresentam alterações em decorrência de ambientes em desequilíbrio. Um outro aspecto favorável ao uso dessa metodologia é a facilidade de detecção de contaminantes, que mesmo em baixos níveis para detecção em métodos analíticos, é mais facilmente encontrado nos tecidos destas espécies (Crouch and Barker 1997; Francioni et al. 2007; Richir and Gobert 2014).

Os biomarcadores podem ser classificados em biomarcadores de exposição, biomarcadores de efeito e biomarcadores de suscetibilidade. Os biomarcadores de exposição medem a quantidade e a concentração de um composto químico no ambiente ou o produto da interação entre o xenobiótico e a molécula ou célula; os biomarcadores de efeito incluem alterações bioquímicas, fisiológicas ou qualquer outra alteração nos tecidos ou fluidos corporais de um organismo que podem ser associados com uma doença e prejuízo a saúde; e os biomarcadores de suscetibilidade indicam a habilidade adquirida de um

organismo a responder a exposição a xenobiótico específico, incluindo fatores genéticos e mudanças nos receptores que alteram a suscetibilidade de um organismo a uma dada exposição (van der Oost et al. 2003). Uma outra classificação, divide os biomarcadores de acordo com o nível de alteração biológica, como o biomarcador molecular, biomarcador morfológico, biomarcador fisiológico e biomarcador comportamental, mensurando efeitos a níveis moleculares, celular, fisiológicos e também sobre o comportamento de organismos expostos a estressores ambientais (Livingstone 1993).

Principais biomarcadores para avaliação de ambientes portuários

Apesar de ser uma atividade potencialmente poluidora, as operações portuárias exercem papel fundamental para o desenvolvimento econômico local e mundial. Assim como descrito, todos os portos citados nos artigos desta pesquisa apresentam importância na geração de riquezas para seu país, seja na atividade de movimentação de cargas ou através do turismo. No entanto, os estudos demonstraram a ocorrência de perturbações no ambiente com base nas respostas biológicas a diferentes níveis organizacionais (ver tabela 1).

As respostas biológicas ocasionadas por efeitos de distúrbios nos ambientes ocorrem primeiramente a níveis mais sensíveis, como os moleculares, bioquímicos e genotóxicos. Por esta razão, diz-se que são os biomarcadores mais precisos na predição de impacto ambiental (Nigro et al. 2006).

Os biomarcadores genotóxicos são aqueles que mensuram danos na molécula de DNA, nos cromossomos e danos genéticos nas células dos organismos, ocasionados pela exposição a compostos xenobióticos genotóxicos (Bacolod et al. 2017). São exemplos de metodologia utilizados como biomarcadores de genotoxicidade, o teste micronúcleo e ensaio cometa, os mais utilizados para o monitoramento de regiões portuárias.

O teste de micronúcleos é utilizado para detectar danos citogenéticos com base na frequência de alterações em células expostas a agentes genotóxicos, podendo ser usados tanto em células vegetais, quanto em células animais (Benincá et al. 2012; Bückner et al. 2006; Carvalho et al. 2002). É uma metodologia amplamente utilizada que permite identificar um aumento na frequência de mutação em células, sendo um instrumento de avaliação rápida e prática (Viegas et al. 2010). Essa abordagem é bem documentada no monitoramento do bem-estar de organismos provenientes de áreas potencialmente contaminadas (Arcand-Hoy and Metcalfe 2000; Arslan et al. 2015).

Os micronúcleos são denominados como pequenos fragmentos de cromatina dotados de membrana, sendo este separado do núcleo principal, sendo que sua gênese está relacionada com falhas durante a divisão celular, na qual cromossomos acêntricos ou cromossomos inteiros são perdidos, originando assim, um núcleo a parte (Magni et al. 2006; Teles et al. 2006). Além de falhas no mecanismo de divisão celular, a origem dos micronúcleos está relacionada também a exposição de agentes genotóxicos (Luzhna et al. 2013), gerando uma maior frequência mutações nucleares.

O ensaio cometa é um método eficiente no monitoramento ambiental, sendo uma metodologia simples, de alta sensibilidade e rapidez nos resultados, amplamente utilizada em estudos ecotoxicológicos (Abdelfattah et al. 2017; Reis et al. 2017). A análise baseia-se na inserção de células em agarose, “*lisadas e submetidas a eletroforese*” em um pH alcalino (Collins 2014). Como resultado, o DNA que contém quebras é facilmente induzido em direção ao ânodo, formando um rastro, semelhante a um cometa, resultante da trajetória migração para fora do núcleo (Benincá et al. 2012; Collins 2014). Nesta análise, o

tamanho da cauda é proporcional ao dano no DNA, sendo visualizado em microscopia de fluorescência (Collins 2014).

Quanto aos biomarcadores bioquímicos, há uma variedade que pode ser utilizada na avaliação de risco ambiental, tais como atividades de enzimas, concentrações de proteínas e a integridade e estabilidade de membranas.

Quando fala-se em estresse oxidativo, sabe-se que há um número maior que o esperado de espécies reativas de oxigênio (ERO) no meio celular produzidos durante o metabolismo da fase I dos organismos, promovendo assim, um desequilíbrio (Barbosa et al. 2010). O aumento significativo da produção de EROs, está relacionado à exposição a compostos tóxicos e com metabólitos gerados durante a detoxificação do organismo, e como resultado, ocorre o dano nas funções da célula (e. g. peroxidação lipídica de membranas) ou em outros casos, provocar a morte celular (Barreiros et al. 2006). Para combater danos oxidativos, existem mecanismos bioquímicos que promovem o equilíbrio celular, constituídos por compostos antioxidantes não-enzimáticos (e.g. vitaminas C e E) e enzimas antioxidantes (e.g. superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase) (Rodrigues and Pardal 2014; Sussarellu et al. 2012). A atividade alterada dessas enzimas é definida como biomarcadores de estresse oxidativo.

Outras enzimas são capazes de reagir a poluentes específicos, como a glutathione S-transferase (GST), que atua na quebra de pesticidas organoclorados e outros xenobióticos orgânicos; e a acetilcolinesterase (AChE), envolvida nos processos sinápticos, inibida por alguns pesticidas (organofosforados e carbamatos), sendo considerada uma boa indicadora de neurotoxicidade (Fitzpatrick et al. 1997; Rodrigues and Pardal 2014). Esses dados enzimáticos oferecem diagnósticos precisos nos testes de ecotoxicidade.

Ainda a nível bioquímico, o uso de concentração de proteínas como biomarcadores de contaminação aquática é uma metodologia amplamente difundida no meio científico, principalmente a dosagem de metalotioneína – MT (Giarratano et al. 2016). As MTs possuem capacidade de se ligar a diversos metais, assim, quanto maior a concentração de MT, maior o grau de exposição. Esta análise auxilia na avaliação de predição de impactos por metais pesados (Figueira et al. 2012; Le et al. 2016).

A presença de substâncias de origem orgânica e inorgânica no meio ambiente, além de trazer danos a níveis mais sensíveis, podem facilmente induzir a alterações teciduais nos organismos. Assim, as abordagens histológicas mais comuns para avaliação de impacto são realizadas nos tecidos branquiais, hepáticos e renais, devido ao papel importante que estes órgãos desempenham (Costa and Costa 2008).

As brânquias são um órgão que constantemente estão em contato com contaminantes e por isso é considerada alvo em estudos histológicos (Garcia-Santos et al. 2007; Nogueira et al. 2009). Além disso, apresentam funcionalidades importantes para a vida do organismo, como trocas gasosas, excreção de compostos nitrogenados e equilíbrio ácido-base (McDonald et al. 1991). Alterações como infiltração hemocítica, inchaço das lamelas branquiais, levantamento do epitélio lamelar, fusão de lamelas e malformações de canais marginais, são comumente associadas a exposição a endossulfan, metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e bifenilas policloradas (Bhavan and Geraldine 2000; Costa et al. 2009; Griffitt et al. 2009). Estas reações são interpretadas como mecanismo de proteção contra agentes xenobióticos, porém atrapalham nas funções exercidas pela brânquia, resultando em trocas gasosas ineficientes (Bhavan and Geraldine 2000).

O fígado, assim como o hepatopâncreas, é o principal órgão de detoxificação de um organismo, sendo capaz de transformar compostos em moléculas menores para excretá-las, além participar de vários outros processos metabólicos (Costa et al. 2015). Por apresentar essa capacidade biotransformadora, é um tecido ideal para análise da concentração de compostos xenobióticos, principalmente de metais pesados e pesticidas, como também avaliação de danos teciduais ocasionados por exposição (James 1989; Wu et al. 2008). As desestruturas do tecido hepático como a congestão de vasos sanguíneos, vacuolização associada à acumulação de lipídios e inchaço celular, são facilmente encontradas na literatura como resultado de exposição a químicos como o cádmio, zinco, amônia e cobre, que mesmo em baixas concentrações, interferem no metabolismo deste órgão (Arellano et al. 1999; Benli et al. 2008; van Dyk et al. 2007).

Outros tecidos são utilizados na análise histológica, mas em menor proporção, como os tecidos do rim, do baço e do timo. O rim, dependendo do organismo, pode apresentar funções diferentes: pode atuar como órgão excretor ou realizar regulação osmótica entre sais e a água em organismos marinhos, além de participar de diversos processos metabólicos, incluindo o de composto xenobióticos (Brzóska et al. 2003), o que o torna eficaz em exames histológicos, sendo comumente mencionados na literatura (e. g. Camargo & Martinez, 2007; Mela et al., 2007). Já o timo e o baço são órgãos importantes do sistema imunológico, pois são produtores das células de defesa do organismo (em vertebrados), os leucócitos (Kerambrun et al. 2012; Wester et al. 1994). Os estudos histológicos são geralmente para relatar o efeito adverso de agentes imunossupressores na estrutura desses órgãos (Omar et al. 2013; Pislyagin et al. 2016).

Principais organismos biomonitoradores

Em trabalhos de biomonitoramento, são utilizadas espécies-chaves para avaliar a qualidade de ambientes perturbados. Estas espécies são denominadas biomonitoras e possuem características peculiares que ajudam nos resultados sobre a qualidade do ambiente. Os biomonitoras são organismos ou comunidades que conseguem representar dados de contaminação ambiental, indicando sobre a qualidade do meio ambiente em partes ou em sua totalidade (Souza et al. 2016). Espécies de moluscos, crustáceos e peixes se enquadram nesta categoria e por isso são as mais representativas em programas de biomonitoramentos (Fig. 2).

Classe Bivalvia

Os moluscos bivalves são organismos constantemente utilizados em programas de monitorização por serem espécimes sentinelas, sendo capazes de representar claramente as perturbações no ambiente (Chandurvelan et al. 2013; Rainbow 2002). Sua natureza sésil ou sedentária e filtradora, contribuem para bioacumulação e altas concentrações de compostos tóxicos em seu tecido (Chandurvelan et al. 2012, 2013; Dailianis 2010), fornecendo dados importantes sobre o situação de seu habitat (Jena et al. 2009). Além disso, apresentam características que auxiliam na escolha deste táxon para a utilização em técnicas de biomonitoramento: fácil amostragem, manuseio e ampla distribuição geográfica (Melwani et al. 2014; Regoli et al. 2014).

Há dados desde a década de 70 que evidenciam o sucesso do uso de mexilhões para a monitorização de ambientes, como o programa “*mussel watch*” (Zorita et al. 2007), realizado pela primeira vez por Goldberg (1975). Em seu trabalho propõe análise anual de mexilhões *Mytilus edulis* e espécies

similares para medir os níveis poluentes orgânicos e inorgânicos (Chase et al. 2001; Freitas et al. 2017; Kampire et al. 2015). A principal motivação é a preocupação em “medir os níveis de exposição dos principais poluentes já identificados em várias partes do oceano” (Goldberg 1975). Ainda de acordo com o autor, o emprego destes organismos é devido sua capacidade de acumulação de substâncias nocivas em seus tecidos moles e ser capaz de realizar o processo de depuração em águas livres de contaminantes (Chandurvelan et al. 2015; Goldberg 1975).

O mexilhão *Mytilus galloprovincialis* é citado como um organismo resistente a elevadas concentrações de metais pesados e outros compostos tóxicos, no entanto, essas substâncias provocam alterações bioquímicas, morfológicas e fisiológicas (Jena et al. 2009). Estes efeitos biológicos tornam esta espécie como uma excelente biomonitora e indicada para estudos de monitoramento (Zorita et al. 2007), além de serem importantes para futuras avaliações de impacto (Barut et al. 2016) através de alterações biológicas (e. g. biomarcadores) ou com base na quantificação de concentrações de substâncias químicas exógenas (Benali et al. 2017). Tais características demonstram claramente, o motivo desta espécie ser mundialmente utilizada em estudos de biomonitoramento.

Ordem Decapoda

Os decápodos são os maiores em número e diversidade da classe Malacostraca, tendo como representantes as lagostas, camarões e caranguejos (Creed 2009; Cumberlidge et al. 2015). A diversidade desta ordem vai desde a variação morfológica ao habitat destes organismos: presentes em ambientes marinhos, águas continentais e até ambientes terrestres (Álvarez et al. 2014; Cumberlidge et al. 2015). Muitas espécies deste táxon são ubíquas nos ecossistemas aquáticos e este é o principal motivo que as tornam foco de muitos estudos científicos (Álvarez et al. 2014), além de serem organismos chave na estruturação de populações de vertebrados e invertebrados (Creed 2009).

Os decápodes bentônicos, como os caranguejos, apresentam estreita relação com os sedimentos, estabelecendo-se cada vez mais como bons biomonitores (Díaz-Jaramillo et al. 2013; Ng et al. 2007; Ricciardi et al. 2010). Esse argumento baseia-se na melhor capacidade de biotransformação de compostos apolares em moléculas polares menores, quando comparado a outros organismos (e. g. mexilhões), pois o hepatopâncreas (órgão biotransformador) fornece informações reais sobre os níveis de substâncias tóxicas no ambiente (Fillmann et al. 2004; Nudi et al. 2007).

O caranguejo *Carcinus maenas* é um macroinvertebrado onívoro da família Carcinidae de fácil identificação e manuseio, cuja distribuição vem demonstrando preocupação, por ela ser uma potencial espécie bioinvasora, apresentando resistência a altas variações ambientais de temperatura, oxigênio e salinidade, além de ser uma espécie predadora de moluscos e outros organismos invertebrados, dificultando a pesca comercial (Lee and Bishop 2005; Murray et al. 2007). Devido a sua distribuição na costa atlântica europeia e ambientes marinhos adjacentes, há vários estudos que demonstram a sua biologia e ecologia, bem como estudos que sugerem este organismo como modelo para avaliação de toxicidade (Crothers J. H. 1968; González-Gordillo et al. 2004; Lee and Vespoli 2015; Martín-Díaz et al. 2008; Mente et al. 2010; Murray et al. 2007; Pedersen et al. 1997; Rewitz et al. 2004; Rodrigues and Pardal 2014; Yamada et al. 2010), o que a torna uma importante espécie biomonitora.

Peixes

O uso de peixes como biomonitores tem se mostrado um excelente instrumento de avaliação ambiental, uma vez que estes organismos reagem com sensibilidade a compostos químicos, a mudanças ambientais e à concentração de substâncias, além de acumular poluentes diretamente da água contaminada (absorção pela pele e brânquias) ou indiretamente através da ingestão de alimentos contaminados (Albergaria-Barbosa et al. 2017; Rocha et al. 2010; Soares et al. 2016).

Pesquisas demonstram a utilização de peixes para avaliação de ambientes impactados (Alpuche-Gual and Gold Bouchot 2008; Chupani et al. 2016; Lu et al. 2010; Métais et al. 2012; Oliveira et al. 2010; Regoli et al. 2002; Wang et al. 2012), porém há uma objeção quanto a isto: nem todos os peixes são bons biomonitores. Um exemplo são os peixes migratórios, que acumulam substâncias de diversos locais e não oferecem um diagnóstico preciso no monitoramento (Sousa et al. 2013). Além disso, quanto maior o nível da cadeia trófica, maior será a capacidade de acumulação de substâncias (Lacerda and Malm 2008; Sanches Filho et al. 2013). O tempo de vida também é outra característica que é proporcional à acumulação de compostos, ou seja, o tempo de exposição (Seixas et al. 2007).

Dependendo do tipo de análise, espécies juvenis são mais apropriadas que as de fase adulta em testes de toxicidade (e. g. metais pesados e HPA's), devido ao pouco tempo de exposição ao ambiente (Linde et al. 1998; O'Hare et al. 1995). Para outras análises, espécies de fase adulta são mais eficientes para diferenciar locais tidos como controles e perturbados (Linde et al. 1998).

O peixe marinho *Zoarcetes viviparus* – organismo mais utilizado em estudos de monitoramento de regiões portuárias – são habitantes de fundo, de pouca mobilidade e vivíparos, sendo considerada uma espécie sentinela para monitorar impactos (Almroth et al. 2005; Asker et al. 2013, 2015; Schiedek et al. 2006; Sturve et al. 2005). Em fêmeas grávidas, pode ocorrer a transferência de substâncias nocivas para as larvas causando efeitos sobre o desenvolvimento larval, uma vez que as fêmeas são fonte de alimentação para os filhotes (Korsgaard 1986; Rasmussen et al. 2002). As características desta espécie fornecem bons resultados em estudos de ecotoxicologia.

Tabela 1. Artigos selecionados que continham uso de biomarcadores para a avaliação de áreas portuárias ou de influência portuária.

Authors and year of publication	Biomonitor species	Biomarker type
Arcand-Hoy and Metcalf (2000)	<i>Ameiurus nebulosus</i>	Genotoxic biomarker
Lafontaine et al. (2000)	<i>Dreissena polymorpha</i>	Biochemical biomarker
Petrović et al. (2001)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Lionetto et al. (2003)	<i>Mytilus galloprovincialis</i> and <i>Mullus barbatus</i>	Biochemical biomarker
Miller et al. (2003)	<i>Pleuronectes vetulus</i>	Biochemical biomarker
Roméo et al. (2003)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Roméo et al. (2003)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Bedini et al. (2004)	<i>Phascolosoma granatum</i>	Molecular biomarker
Manduzio et al. (2004)	<i>Mytilus edulis</i>	Biochemical biomarker
Almroth et al. (2005)	<i>Zoarcetes viviparus</i>	Biochemical biomarker
Borković et al. (2005)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker

Çavaş and Ergene-Gözükara et al. (2005)	<i>Mugil cephalus</i>	Genotoxic biomarker
Devier et al. (2005)	<i>Mytilus</i> sp.	Biochemical biomarker
Moreira and Guilhermino (2005)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Sturve et al. (2005)	<i>Zoarcetes viviparus</i>	Biochemical biomarker
Baršienė et al. (2006)	<i>Platichthys flesus</i> and <i>Mytilus edulis</i>	Biochemical biomarker, genotoxic biomarker and histological biomarker
Magni et al. (2006)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker and genotoxic biomarker
Schiedek et al. (2006)	<i>Mytilus edulis</i> and <i>Zoarcetes viviparus</i>	Biochemical biomarker and genotoxic biomarker
Zanette, et al. (2006)	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Biochemical biomarker
Da Ros et al. (2007)	<i>Mytilus edulis</i>	Biochemical biomarker and histological biomarker
Damiens et al. (2007)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Martín-Díaz et al. (2007)	<i>Carcinus maenas</i>	Biochemical biomarker
Quiniou et al. (2007)	<i>Crassostrea gigas</i>	Biochemical biomarker
Zorita et al. (2007)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker and histological biomarker
Bocchetti et al. (2008)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker and genotoxic biomarker
Martín-Díaz et al. (2008)	<i>Carcinus maenas</i> and <i>Ruditapes philippinarum</i>	Biochemical biomarker
Myers et al. (2008)	<i>Parophrys vetulus</i>	Biochemical biomarker and histological biomarker
Bozcaarmutlu et al. (2009)	<i>Mugil soiuy</i> , <i>Mugil cephalus</i> and <i>Liza aurata</i>	Biochemical biomarker
Jena et al. (2009)	<i>Perna viridis</i>	Biochemical biomarker
Kilemade et al. (2009)	<i>Scophthalmus maximus</i> L.	Biochemical biomarker
Taleb et al. (2009)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Fang et al. (2010)	<i>Perna viridis</i>	Biochemical biomarker
Andreani et al. (2011)	<i>Scapharca inaequivalvis</i>	Biochemical biomarker
Kerambrun et al. (2012)	<i>Scophthalmus maximus</i>	Biochemical biomarker and histological biomarker
Martins et al. (2012)	<i>Mytilus edulis</i>	Biochemical biomarker and genotoxic biomarker
Shirani et al. (2012)	<i>Periophthalmus waltoni</i>	Biochemical biomarker and genotoxic biomarker
Asker et al. (2013)	<i>Zoarcetes viviparus</i>	Molecular biomarker
Carvalho-Neta and Abreu-Silva (2013)	<i>Sciades herzbergii</i>	Biochemical biomarker
Jebali et al. (2013)	<i>Sparus aurata</i>	Biochemical biomarker
Pinheiro-Sousa et al. (2013)	<i>Sciades herzbergii</i>	Histological biomarker
Sifi et al. (2013)	<i>Donax trunculus</i> L.	Biochemical biomarker

Sousa et al. (2013)	<i>Sciades herzbergii</i> and <i>Bagre bagre</i>	Histological biomarker
Aly et al. (2014)	<i>Cerastoderma edule</i> and <i>Haliclona oculata</i>	Biochemical biomarker
Lacroix et al. (2014)	<i>Mytilus</i> spp.	Molecular biomarker
Pereira et al. (2014)	<i>Perna perna</i> and <i>Crassostrea rhizophorae</i>	Biochemical biomarker and histological biomarker
Vidal-Liñán et al. (2014)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Arslan et al. (2015)	<i>Pagellus erythrinus</i> , <i>Diplodus vulgaris</i> , <i>Serrano cabrilla</i> , <i>Boops boops</i> and <i>Solea solea</i>	Genotoxic biomarker
Asker et al. (2015)	<i>Zoarces viviparus</i>	Biochemical biomarker, genotoxic biomarker and histological biomarker
Azevedo-Linhares and Freire (2015)	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Biochemical biomarker
Benali et al. (2015)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Lacroix et al. (2015)	<i>Mytilus</i> spp.	Biochemical biomarker
Carić et al. (2016)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Genotoxic biomarker
Gagnon and Rawson (2016)	<i>Trachurus novaezelandiae</i> and <i>Pseudocaranx wright</i>	Biochemical biomarker and molecular biomarker
Giarratano et al. (2016)	<i>Neohelice granulata</i>	Biochemical biomarker
Moschino et al. (2016)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Sardi et al. (2016)	<i>Anomalocardia flexuosa</i> , <i>Crassostrea rhizophorae</i> , <i>Neritina virginea</i> , <i>Uca maracoani</i> and <i>Genidens genidens</i>	Biochemical biomarker
Touahri et al. (2016)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Genotoxic biomarker
Benali et al. (2017)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Biochemical biomarker
Breitwieser et al. (2017)	<i>Mimachlamys varia</i> , <i>Crassostrea gigas</i> and <i>Mytilus edulis</i>	Biochemical biomarker

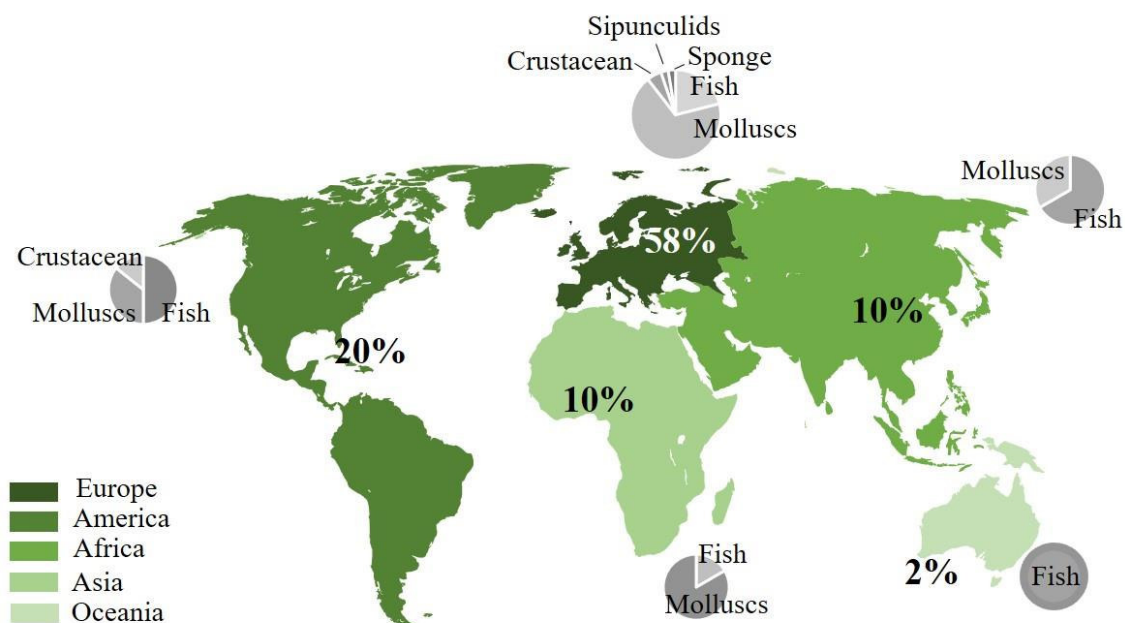


Figura 1. Porcentagem de monitoramento de regiões portuárias por continente e organismos utilizados no trabalho, com base nas análises de biomarcadores.

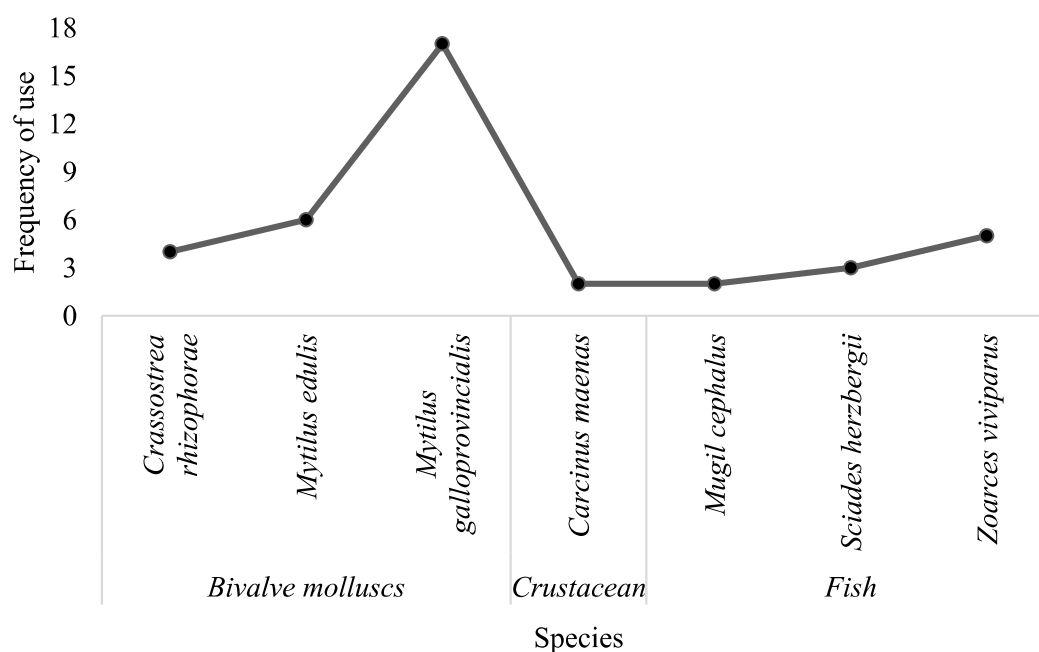


Figura 2. Frequência de publicações citando a utilização das espécies mais representativas em monitoramentos de regiões portuárias (um organismo por monitoramento).

5 Considerações finais

Os organismos aquáticos, descritos nos trabalhos científicos são excelentes espécies biomonitoras, mostrando visivelmente efeitos biológicos que diferenciam locais controles de ambientes perturbados. Com base nestas informações, as espécies que apresentam essa característica são melhores

para utilização em programas de biomonitoramento. Um exemplo são os moluscos *Mytilus galloprovincialis* e *Mytilus edulis*, que se apresentaram como organismos biomonitores por excelência.

Quanto ao método no biomonitoramento, os biomarcadores bioquímicos são eficientes e dão confiabilidade aos dados, além de ser um método acessível e rotineiro em laboratórios pelo mundo. Ressalta-se também que a observação individual de efeitos biológicos nas espécies biomonitoras (como apresentado em alguns artigos), não oferece um diagnóstico completo do ecossistema. Este é um dos grandes problemas na abordagem de biomarcadores, mensurar unicamente danos ao menor nível de organização biológica para avaliação da integridade de níveis superiores de organização biológica.

No geral, os autores de trabalhos científicos aqui analisados apoiam o uso de biomarcadores para avaliação em regiões portuárias e recomenda-se a utilização de múltiplos biomarcadores na detecção de danos biológicos em resposta a exposição da biota a componentes xenobióticos.

Acknowledgments

As autoras agradecem o incentivo financeiro Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA.

Referências

- Abdelfattah, E. A., Augustyniak, M., & Yousef, H. A. (2017). Biomonitoring of genotoxicity of industrial fertilizer pollutants in *Aiolopus thalassinus* (Orthoptera: Acrididae) using alkaline comet assay. *Chemosphere*, 182(2), 762–770. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.05.082
- Albergaria-Barbosa, A. C. R. de, Patire, V. F., Taniguchi, S., Fernandez, W. S., Dias, J. F., & Bicego, M. C. (2017). *Mugil curema* as a PAH bioavailability monitor for Atlantic west sub-tropical estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 114(1), 609–614. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.09.039
- Almroth, B. C., Sturve, J., Berglund, Å., & Förlin, L. (2005). Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 73(2), 171–180. doi:10.1016/j.aquatox.2005.03.007
- Alpuche-Gual, L., & Gold Bouchot, G. (2008). Determination of esterase activity and characterization of cholinesterases in the reef fish *Haemulon plumieri*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 787–797. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.01.024
- Álvarez, F., Villalobos, J. L., Hendrickx, M. E., Escobar-Briones, E., Rodríguez-Almaraz, G., & Campos, E. (2014). Biodiversidad de crustáceos decápodos (Crustacea: Decapoda) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.), 208–219. doi:10.7550/rmb.38758
- Aly, W., Williams, I. D., & Hudson, M. D. (2014). Limitations of metallothioneins in common cockles (*Cerastoderma edule*) and sponges (*Haliclona oculata*) as biomarkers of metal contamination in a semi-enclosed coastal area. *Science of the Total Environment*, 473–474, 391–397. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.136
- Andreani, G., Carpenè, E., Capranico, G., & Isani, G. (2011). Metallothionein cDNA cloning, metallothionein expression and heavy metals in *Scapharca inaequivalvis* along the Northern Adriatic coast of Italy. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3), 366–372. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.12.008

- Arcand-Hoy, L. D., & Metcalfe, C. D. (2000). Hepatic micronuclei in brown bullheads (*Ameiurus nebulosus*) as a biomarker for exposure to genotoxic chemicals. *Journal of Great Lakes Research*, 26(4), 408–415. doi:10.1016/S0380-1330(00)70704-0
- Arellano, J. M., Storch, V., & Sarasquete, C. (1999). Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the *Senegales Sole*, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44(1), 62–72. doi:10.1006/eesa.1999.1801
- Arslan, Ö. Ç., Boyacıoğlu, M., Parlak, H., Katalay, S., & Karaaslan, M. A. (2015). Assessment of micronuclei induction in peripheral blood and gill cells of some fish species from Aliğa Bay Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 94(1–2), 48–54. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.03.018
- Asker, N., Carney Almroth, B., Albertsson, E., Coltellaro, M., Bignell, J. P., Hanson, N., et al. (2015). A gene to organism approach-assessing the impact of environmental pollution in eelpout (*Zoarces viviparus*) females and larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(7), 1511–1523. doi:10.1002/etc.2921
- Asker, N., Kristiansson, E., Albertsson, E., Larsson, D. G. J., & Förlin, L. (2013). Hepatic transcriptome profiling indicates differential mRNA expression of apoptosis and immune related genes in eelpout (*Zoarces viviparus*) caught at Göteborg harbor, Sweden. *Aquatic Toxicology*, 130–131, 58–67. doi:10.1016/j.aquatox.2012.12.017
- Azevedo-Linhares, M., & Freire, C. A. (2015). Evaluation of impacted Brazilian estuaries using the native oyster *Crassostrea rhizophorae*: Branchial carbonic anhydrase as a biomarker. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 483–489. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.09.027
- Bacolod, E. T., Uno, S., Villamor, S. S., & Koyama, J. (2017). Oxidative stress and genotoxicity biomarker responses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to environmental concentration of 1-nitropyrene. *Marine Pollution Bulletin*, 1–6. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.01.077
- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. C. G., Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutricao*, 23(4), 629–643. doi:10.1590/S1415-52732010000400013
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., & David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quimica Nova*, 29(1), 113–123. doi:10.1590/S0100-40422006000100021
- Baršienė, J., Lehtonen, K. K., Koehler, A., Broeg, K., Vuorinen, P. J., Lang, T., et al. (2006). Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipėda-Būtingė area (Baltic Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 53(8–9), 422–436. doi:10.1016/j.marpolbul.2006.03.009
- Barut, I. F., Meriç, E., & Yokeş, M. B. (2016). Assessment of recent and chalcolithic period environmental pollution using *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 from Yarimbürgaz Cave, the northern Marmara Sea and Bosphorus coasts. *Oceanologia*, 58(2), 135–149. doi:10.1016/j.oceano.2016.01.001
- Bedini, R., Pucciarelli, S., Gatta, R., Nannelli, A., & Miceli, C. (2004). HSP70 gene expression in sipunculids: A new biomarker for monitoring marine deposits. *Chemistry and Ecology*, 20(SUPPL. 1), 37–41. doi:10.1080/02757540310001629143
- Benali, I., Boutiba, Z., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., Rouane-Hacene, O., & Chèvre, N. (2017).

- Spatial distribution and biological effects of trace metals (Cu, Zn, Pb, Cd) and organic micropollutants (PCBs, PAHs) in mussels *Mytilus galloprovincialis* along the Algerian west coast. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1–2), 539–550. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.12.028
- Benali, I., Boutiba, Z., Merabet, A., & Chèvre, N. (2015). Integrated use of biomarkers and condition indices in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for monitoring pollution and development of biomarker index to assess the potential toxic of coastal sites. *Marine Pollution Bulletin*, 95(1), 385–394. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.03.041
- Benincá, C., Ramsdorf, W., Vicari, T., Oliveira Ribeiro, C. A., Almeida, M. I., Silva de Assis, H. C., & Cestari, M. M. (2012). Chronic genetic damages in *Geophagus brasiliensis* exposed to anthropic impact in Estuarine Lakes at Santa Catarina Coast–Southern of Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(4), 2045–2056. doi:10.1007/s10661-011-2098-3
- Benli, A. Ç. K., Köksal, G., & Özkul, A. (2008). Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere*, 72(9), 1355–1358. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.04.037
- Bhavan, P. S., & Geraldine, P. (2000). Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*, 50(4), 331–339. doi:10.1016/S0166-445X(00)00096-5
- Bini, C., & Wahsha, M. (2014). Potentially Harmful Elements and Human Health. In C. Bin & J. Bech (Eds.), *PHEs, Environment and Human Health* (pp. 401–463). Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-017-8965-3_11
- Bitar, O. Y., & Ortega, R. . (1998). Geologia de Engenharia. In A. M. S. Oliveira & S. N. Brito (Eds.), *Gestão Ambiental* (pp. 499–508). São Paulo: ABGE. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000085&pid=S1413-4152200400040001200004&lng=pt. Accessed 7 December 2017
- Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F., et al. (2008). Contaminant accumulation and biomarker responses in caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. *Aquatic Toxicology*, 89(4), 257–266. doi:10.1016/j.aquatox.2008.07.011
- Bollmann, M., Bosch, T., Colijn, F., Ebinghaus, R., Körtzinger, A., Latif, M., et al. (2010). *Living With the Oceans. World Ocean Review: Living with the oceans* (Vol. 1).
- Borković, S. S., Saponjić, J. S., Pavlović, S. Z., Blagojević, D. P., Milosević, S. M., Kovacević, T. B., et al. (2005). The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*, 141(4), 366–374. doi:10.1016/j.cbpc.2005.08.001
- Bozcaarmutlu, A., Sapmaz, C., Aygun, Z., & Arinç, E. (2009). Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. *Marine Environmental Research*, 67(4–5), 167–176. doi:10.1016/j.marenvres.2008.12.009
- Breitwieser, M., Viricel, A., Churlaud, C., Guillot, B., Martin, E., Stenger, P.-L., et al. (2017). First data on three bivalve species exposed to an intra-harbour polymetallic contamination (La Rochelle, France). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 199, 28–37.

doi:10.1016/j.cbpc.2017.02.006

- Brzóska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J., Pilat-Marcinkiewicz, B., & Sawicki, B. (2003). Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol and Alcoholism*, 38(1), 2–10. doi:10.1093/alcalc/agg006
- Bücker, A., Carvalho, W., & Alves-Gomes, J. A. (2006). Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. *Acta Amazonica*, 36(3), 357–364. doi:10.1590/S0044-59672006000300011
- Buss, D. F., Baptista, D. F., & Nessimian, J. L. (2003). Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cadernos de Saúde Pública*, 19(2), 465–473. doi:10.1590/S0102-311X2003000200013
- Cajaraville, M. P., Bebianno, M. J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C., & Viarengo, A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: A practical approach. *Science of the Total Environment*, 247(2–3), 295–311. doi:10.1016/S0048-9697(99)00499-4
- Camargo, M. M. P., & Martinez, C. B. R. (2007). Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5(3), 327–336. doi:10.1590/S1679-62252007000300013
- Carić, H., Klobučar, G., & Štambuk, A. (2016). Ecotoxicological risk assessment of antifouling emissions in a cruise ship port. *Journal of Cleaner Production*, 121, 159–168. doi:10.1016/j.jclepro.2014.08.072
- Carvalho-Neta, R. N. F., & Abreu-Silva, A. L. (2013). Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) for environmental monitoring: the case study of São Marcos Bay, Maranhão, Brazil. *Lat. Am. J. Aquat.*, 41(2), 217–225. doi:10.3856/vol41-issue2-fulltext-2
- Carvalho, M. B. De, Ramirez, A., Gattás, G. J. F., Guedes, A. L., Amar, A., Rapoport, A., et al. (2002). Correlação entre a evolução clínica e a frequência de micronúcleos em células de pacientes portadores de carcinomas orais e da orofaringe. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 48(4), 317–322. doi:10.1590/S0104-42302002000400037
- Castro, S. M. de, & Almeida, J. R. de. (2012). Dragagem e conflitos ambientais em portos clássicos e modernos: uma revisão. *Sociedade & Natureza*, 24(3), 519–534. <http://www.redalyc.org/html/3213/321327330010/>
- Çavaş, T., & Ergene-Gözükara, S. (2005). Micronucleus test in fish cells: A bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 46(1), 64–70. doi:10.1002/em.20130
- Chandurvelan, R., Marsden, I. D., Gaw, S., & Glover, C. N. (2012). Impairment of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) physiology by waterborne cadmium: Relationship to tissue bioaccumulation and effect of exposure duration. *Aquatic Toxicology*, 124–125, 114–124. doi:10.1016/j.aquatox.2012.07.013
- Chandurvelan, R., Marsden, I. D., Gaw, S., & Glover, C. N. (2013). Waterborne cadmium impacts immunocytotoxic and cytogenotoxic endpoints in green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Aquatic Toxicology*, 142–143, 283–293. doi:10.1016/j.aquatox.2013.09.002

- Chandurvelan, R., Marsden, I. D., Glover, C. N., & Gaw, S. (2015). Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: Relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. *Science of the Total Environment*, 511, 663–675. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.12.064
- Chase, M. E., Jones, S. H., Hennigar, P., Sowles, J., Harding, G. C. H., Freeman, K., et al. (2001). Gulfwatch: Monitoring Spatial and Temporal Patterns of Trace Metal and Organic Contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the Blue Mussel, *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 42(6), 490–504. doi:10.1016/S0025-326X(00)00193-4
- Chupani, L., Savari, A., Zolgharnein, H., Rezaie, A., & Zeinali, M. (2016). Enzymatic and histopathologic biomarkers in the flatfish *Euryglossa orientalis* from the northwestern Persian Gulf. *Toxicology and Industrial Health*, 32(5), 866–876. doi:10.1177/0748233713513490
- Collins, A. R. (2014). Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(2), 794–800. doi:10.1016/j.bbagen.2013.04.022
- Costa, G. M., Oliveira, L. C., Muniz, C. C., Oliveira, A. S., Vieira, B. S., Lima, M. G., & Schuingues, C. O. (2015). Histomorfologia do fígado de bicuda, *Boulengerella cuvieri* (Agassiz, 1829) (Teleostei, Ctenoluciidae). *Revista de Ciências Agroambientais*, 13(2), 45–49.
- Costa, P. M., & Costa, M. H. (2008). Respuestas bioquímicas e histopatológicas a la toxicidad por cadmio in vivo en *Sparus aurata*. *Ciencias Marinas*, 34(3), 349–361. <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v34n3/v34n3a8.pdf>
- Costa, P. M., Diniz, M. S., Caeiro, S., Lobo, J., Martins, M., Ferreira, A. M., et al. (2009). Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: A weighted indices approach. *Aquatic Toxicology*, 92(3), 202–212. doi:10.1016/j.aquatox.2008.12.009
- Creed, R. (2009). Decapoda. In *Encyclopedia of Inland Waters* (pp. 271–279). Elsevier. doi:10.1016/B978-012370626-3.00169-1
- Crothers J. H. (1968). The biology of the shore crab *Carcinus maenas* (L.) 2. The life of the adult crab. *Field Studies*, 2(5), 579–614.
- Crouch, M. D., & Barker, S. A. (1997). Analysis of toxic wastes in tissues from aquatic species Applications of matrix solid-phase dispersion. *Journal of Chromatography A*, 774(1–2), 287–309. doi:10.1016/S0021-9673(97)00089-7
- Cumberlidge, N., Hobbs, H. H., & Lodge, D. M. (2015). Class Malacostraca, Order Decapoda. In *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates* (pp. 797–847). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-385026-3.00032-2
- Da Ros, L., Moschino, V., Guerzoni, S., & Halldórsson, H. P. (2007). Lysosomal responses and metallothionein induction in the blue mussel *Mytilus edulis* from the south-west coast of Iceland. *Environment International*, 33(3), 362–369. doi:10.1016/j.envint.2006.11.016
- Dailianis, S. (2010). Environmental Impact of Anthropogenic Activities: The use of mussels as a reliable. *Mussels: Anatomy, Habitat and Environmental Impact*, 1–30.
- Damiens, G., Gnassia-Barelli, M., Loquès, F., Roméo, M., & Salbert, V. (2007). Integrated biomarker response index as a useful tool for environmental assessment evaluated using transplanted mussels.

- Chemosphere*, 66(3), 574–583. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.032
- Delunardo, F. A. C., Silva, B. F. da, Paulino, M. G., Fernandes, M. N., & Chippari-Gomes, A. R. (2013). Genotoxic and morphological damage in *Hippocampus reidi* exposed to crude oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 87, 1–9. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.09.029
- Devier, M.-H., Augagneur, S., Budzinski, H., Le Menach, K., Mora, P., Narbonne, J.-F., & Garrigues, P. (2005). One-year monitoring survey of organic compounds (PAHs, PCBs, TBT), heavy metals and biomarkers in blue mussels from the Arcachon Bay, France. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(3), 224. doi:10.1039/b409577d
- Díaz-Jaramillo, M., Socowsky, R., Pardo, L. M., Monserrat, J. M., & Barra, R. (2013). Biochemical responses and physiological status in the crab *Hemigrapsus crenulatus* (Crustacea, Varunidae) from high anthropogenically-impacted estuary (Lenga, south-central Chile). *Marine Environmental Research*, 83, 73–81. doi:10.1016/j.marenvres.2012.10.012
- Fang, J. K. H., Wu, R. S. S., Zheng, G. J., Lam, P. K. S., & Shin, P. K. S. (2010). Seasonality of bioaccumulation of trace organics and lysosomal integrity in green-lipped mussel *Perna viridis*. *Science of the Total Environment*, 408(6), 1458–1465. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.12.044
- Figueira, E., Branco, D., Antunes, S. C., Gonçalves, F., & Freitas, R. (2012). Are metallothioneins equally good biomarkers of metal and oxidative stress? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 185–190. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.07.012
- Fillmann, G., Watson, G. M., Howsam, M., Francioni, E., Depledge, M. H., & Readman, J. W. (2004). Urinary PAH Metabolites as Biomarkers of Exposure in Aquatic Environments. *Environmental Science and Technology*, 38(9), 2649–2656. doi:10.1021/es0350839
- Fitzpatrick, P. J., O'Halloran, J., Sheehan, D., & Walsh, A. R. (1997). Assessment of a glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland of *Mytilus edulis* (L.), as potential organic pollution biomarkers. *Biomarkers*, 2(1), 51–56. doi:10.1080/135475097231977
- Francioni, E., Wagener, A. L. R., Scofield, A. L., Depledge, M. H., & Cavalier, B. (2007). Evaluation of the mussel *Perna perna* as a biomonitor of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and effects. *Marine Pollution Bulletin*, 54(3), 329–338. doi:10.1016/j.marpolbul.2006.11.003
- Freire, M. M., Santos, V. G., Ginuino, I. S. F., & Arias, A. R. L. (2008). Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. *Oecologia Brasiliensis*, 12(3), 347–354. doi:10.4257/oeco.2008.1203.01
- Freitas, R., De Marchi, L., Bastos, M., Moreira, A., Velez, C., Chiesa, S., et al. (2017). Effects of seawater acidification and salinity alterations on metabolic, osmoregulation and oxidative stress markers in *Mytilus galloprovincialis*. *Ecological Indicators*, 79(April), 54–62. doi:10.1016/j.ecolind.2017.04.003
- Gagnon, M. M., & Rawson, C. A. (2016). Integrating Multiple Biomarkers of Fish Health: A Case Study of Fish Health in Ports. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(2), 192–203. doi:10.1007/s00244-015-0258-0
- Garcia-Santos, S., Monteiro, S. M., Carrola, J., & Fontainhas-Fernandes, A. (2007). Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(2), 376–381. doi:10.1590/S0102-09352007000200017

- Giarratano, E., Gil, M. N., Marinho, C. H., & Malanga, G. (2016). Metals from mine waste as potential cause of oxidative stress in burrowing crab *Neohelice granulata* from San Antonio bay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 68–76. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.05.029
- Godoi, A. F. L., Favoreto, R., & Santiago-Silva, M. (2003). Contaminação ambiental por compostos organoestênicos. *Química Nova*, 26(5), 708–716. doi:10.1590/S0100-40422003000500015
- Goldberg, E. D. (1975). The mussel watch - A first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 6(7), 111. doi:10.1016/0025-326X(75)90271-4
- González-Gordillo, J. I., Rodríguez, A., & Queiroga, H. (2004). Characterization of the megalopal premoult stages of the green crab, *Carcinus maenas* (Decapoda, Portunidae) from laboratory culture. *Journal of Crustacean Biology*, 24(3), 502–510. doi:10.1651/C-2434
- Griffitt, R. J., Hyndman, K., Denslow, N. D., & Barber, D. S. (2009). Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 107(2), 404–415. doi:10.1093/toxsci/kfn256
- James, M. O. (1989). Cytochrome P450 monooxygenases in crustaceans. *Xenobiotica*, 19(10), 1063–1076. doi:10.3109/00498258909043162
- Jebali, J., Chicano-Gálvez, E., Banni, M., Guerbej, H., Boussetta, H., López-Barea, J., & Alhama, J. (2013). Biochemical responses in seabream (*Sparus aurata*) caged in-field or exposed to benzo(a)pyrene and paraquat. Characterization of glutathione S-transferases. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88, 169–177. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.11.013
- Jena, K. B., Verlecar, X. N., & Chainy, G. B. N. (2009). Application of oxidative stress indices in natural populations of *Perna viridis* as biomarker of environmental pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 58(1), 107–113. doi:10.1016/j.marpolbul.2008.08.018
- Kampire, E., Rubidge, G., & Adams, J. B. (2015). Distribution of polychlorinated biphenyl residues in sediments and blue mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Port Elizabeth Harbour, South Africa. *Marine Pollution Bulletin*, 91(1), 173–179. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.12.008
- Kerambrun, E., Henry, F., Marechal, A., Sanchez, W., Minier, C., Filipuci, I., & Amara, R. (2012). A multibiomarker approach in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*, exposed to contaminated sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 45–53. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.02.010
- Kilemade, M., Hartl, M. G. J., O'Halloran, J., O'Brien, N. M., Sheehan, D., Mothersill, C., & van Pelt, F. N. A. M. (2009). Effects of contaminated sediment from Cork Harbour, Ireland on the cytochrome P450 system of turbot. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 747–755. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.09.026
- Korsgaard, B. (1986). Trophic adaptations during early intraovarian development of embryos of *Zoarces viviparus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 98(1–2), 141–152. doi:10.1016/0022-0981(86)90079-1
- Lacerda, L. D. de, & Malm, O. (2008). Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. *Estudos Avançados*, 22(63), 173–190. doi:10.1590/S0103-40142008000200011
- Lacroix, C., Coquillé, V., Guyomarch, J., Auffret, M., & Moraga, D. (2014). A selection of reference genes and early-warning mRNA biomarkers for environmental monitoring using *Mytilus* spp. as sentinel species. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1–2), 304–313. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.06.049

- Lacroix, C., Richard, G., Seguineau, C., Guyomarch, J., Moraga, D., & Auffret, M. (2015). Active and passive biomonitoring suggest metabolic adaptation in blue mussels (*Mytilus* spp.) chronically exposed to a moderate contamination in Brest harbor (France). *Aquatic Toxicology*, 162, 126–137. doi:10.1016/j.aquatox.2015.03.008
- Lafontaine, Y. de, Gagné, F., Blaise, C., Costan, G., Gagnon, P., & Chan, H. (2000). Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). *Aquatic Toxicology*, 50(1–2), 51–71. doi:10.1016/S0166-445X(99)00094-6
- Le, T. T. Y., Zimmermann, S., & Sures, B. (2016). How does the metallothionein induction in bivalves meet the criteria for biomarkers of metal exposure? *Environmental Pollution*, 212, 257–268. doi:10.1016/j.envpol.2016.01.070
- Lee, K. T., & Bishop, P. J. e R. E. (2005). A Low Cost, Reliable Method for Quantifying Coloration in *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana*, 78, 579–590. doi:10.2307/20107522
- Lee, K. T., & Vespoli, J. L. (2015). Tracking color change in individual green crabs, *Carcinus maenas* (L.). *Northeastern Naturalist*, 22(2), 413–423.
- Linde, A. R., Sanchez-Galan, S., Izquierdo, J. I., Arribas, P., Maranon, E., & Garcia-Vazquez, E. (1998). Brown trout as biomonitor of heavy metal pollution: Effect of age on the reliability of the assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40(1–2), 120–125. doi:https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1652
- Lionetto, M. G., Caricato, R., Giordano, M. E., Pascariello, M. F., Marinosci, L., & Schettino, T. (2003). Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Marine Pollution Bulletin*, 46(3), 324–330. doi:10.1016/S0025-326X(02)00403-4
- Livingstone, D. R. (1993). Review Biotechnology and Pollution Monitoring : Use of Molecular Biomarkers in the Aquatic Environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol*, 57, 195–211. doi:10.1002/jctb.280570302
- Lu, G. H., Ji, Y., Zhang, H. Z., Wu, H., Qin, J., & Wang, C. (2010). Active biomonitoring of complex pollution in Taihu Lake with *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 79(5), 588–594. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.01.053
- Luzhna, L., Kathiria, P., & Kovalchuk, O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Frontiers in Genetics*, 4(JUL), 1–17. doi:10.3389/fgene.2013.00131
- Magni, P., De Falco, G., Falugi, C., Franzoni, M., Monteverde, M., Perrone, E., et al. (2006). Genotoxicity biomarkers and acetylcholinesterase activity in natural populations of *Mytilus galloprovincialis* along a pollution gradient in the Gulf of Oristano (Sardinia, western Mediterranean). *Environmental Pollution*, 142(1), 65–72. doi:10.1016/j.envpol.2005.09.018
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., & Rocher, B. (2004). Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: Major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology*, 70(1), 83–93. doi:10.1016/j.aquatox.2004.07.003
- Martín-Díaz, M. L., Jiménez-Tenorio, N., Sales, D., & DelValls, T. A. (2008). Accumulation and

- histopathological damage in the clam *Ruditapes philippinarum* and the crab *Carcinus maenas* to assess sediment toxicity in Spanish ports. *Chemosphere*, 71(10), 1916–1927. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.01.022
- Martín-Díaz, M. L., Kalman, J., Riba, I., de la Reguera, D. F., Blasco, J., & DelValls, Á. (2007). The use of a metallothionein-like-proteins (MTLP) kinetic approach for metal bioavailability monitoring in dredged material. *Environment International*, 33(4), 463–468. doi:10.1016/j.envint.2006.11.008
- Martins, M., Costa, P. M., Raimundo, J., Vale, C., Ferreira, A. M., & Costa, M. H. (2012). Impact of remobilized contaminants in *Mytilus edulis* during dredging operations in a harbour area: Bioaccumulation and biomarker responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 85, 96–103. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.08.008
- McDonald, D. G., Cavdek, V., & Ellis, R. (1991). Gill design in freshwater fishes: interrelationships among gas exchange, ion regulation, and acid-base regulation. *Physiological Zoology*, 64, 103–123.
- Mela, M., Randi, M. A. F., Ventura, D. F., Carvalho, C. E. V., Pelletier, E., & Oliveira Ribeiro, C. A. (2007). Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68(3), 426–435. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.11.013
- Melwani, A. R., Gregorio, D., Jin, Y., Stephenson, M., Ichikawa, G., Siegel, E., et al. (2014). Mussel watch update: Long-term trends in selected contaminants from coastal California, 1977–2010. *Marine Pollution Bulletin*, 81(2), 291–302. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.04.025
- Mente, E., Davidson, I., Karapanagiotidis, I. T., Fountoulaki, E., & Nengas, I. (2010). Amino acid analysis in the shore crab *Carcinus maenas* (Decapoda: Brachyura). *Journal of Crustacean Biology*, 30(4), 643–650. doi:10.1651/09-3258.1
- Métais, I., Ekouma, E. M., Ngpan, R., Planes, S., & Mouneyrac, C. (2012). Oxidative stress responses and biological indices in the giant clam *Tridacna maxima* and the reef fish *Epinephelus merra* from the French Polynesian Moorea Island. *Marine Pollution Bulletin*, 64(10), 2233–2237. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.06.019
- Miller, K. A., Addison, R. F., & Bandiera, S. M. (2004). Hepatic CYP1A levels and EROD activity in English sole: Biomonitoring of marine contaminants in Vancouver Harbour. *Marine Environmental Research*, 57(1–2), 37–54. doi:10.1016/S0141-1136(03)00059-X
- Moreira, S. M., & Guilhermino, L. (2005). The use of *Mytilus galloprovincialis* acetylcholinesterase and glutathione S-transferases activities as biomarkers of environmental contamination along the northwest Portuguese coast. *Environmental Monitoring and Assessment*, 105(1–3), 309–325. doi:10.1007/s10661-005-3854-z
- Moschino, V., Del Negro, P., De Vittor, C., & Da Ros, L. (2016). Biomonitoring of a polluted coastal area (Bay of Muggia, Northern Adriatic Sea): A five-year study using transplanted mussels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128, 1–10. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.02.006
- Murray, L. G., Seed, R., & Jones, T. (2007). Predicting the impacts of *Carcinus maenas* predation on cultivated *mytilus edulis* beds. *Journal of Shellfish Research*, 26(4), 1089–1098. doi:10.2983/0730-8000(2007)26[1089:PTIOCM]2.0.CO;2
- Myers, M. S., Anulacion, B. F., French, B. L., Reichert, W. L., Laetz, C. A., Buzitis, J., et al. (2008).

- Improved flatfish health following remediation of a PAH-contaminated site in Eagle Harbor, Washington. *Aquatic Toxicology*, 88(4), 277–288. doi:10.1016/j.aquatox.2008.05.005
- Ng, J. S. S., Lui, K. K. Y., Lai, C. H., & Leung, K. M. Y. (2007). *Harpiosquilla harpax* (Crustacea, Stomatopoda) as a biomonitor of trace metal contamination in benthic sediments in Hong Kong waters. *Marine Pollution Bulletin*, 54(9), 1523–1529. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.05.016
- Nigro, M., Falleni, A., Barga, I. D., Scarcelli, V., Lucchesi, P., Regoli, F., & Frenzilli, G. (2006). Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: Transplanted versus native mussels. *Aquatic Toxicology*, 77(4), 339–347. doi:10.1016/j.aquatox.2005.12.013
- Nogueira, D. J., Castro, S. C. de, & Sá, O. R. de. (2009). Utilização das brânquias de *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000) (Teleostei, Characidae) como biomarcador de poluição ambiental no reservatório UHE Furnas-MG. *Revista Brasileira de Zootecias*, 11(3), 227–232.
- Nudi, A. H., de Luca Rebello Wagener, A., Francioni, E., de Lemos Scofield, A., Sette, C. B., & Veiga, A. (2007). Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. *Environment International*, 33(3), 315–327. doi:10.1016/j.envint.2006.11.001
- O'Hare, D. B., Robotham, P. W. J., & Gill, R. (1995). EROD MEASUREMENT USING POST MR' OCHONDRIAL SUPERNATANT OPMS) IN ROACH. *Chemosphere*, 30(2), 257–264.
- Oliveira, M., Ahmad, I., Maria, V. L., Ferreira, C. S. S., Serafim, A., Bebianno, M. J., et al. (2010). Evaluation of oxidative DNA lesions in plasma and nuclear abnormalities in erythrocytes of wild fish (*Liza aurata*) as an integrated approach to genotoxicity assessment. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 703(2), 83–89. doi:10.1016/j.mrgentox.2010.08.003
- Omar, H. E.-D. M., Saad Eldien, H. M., Badary, M. S., Al-Khatib, B. Y., & Abdelgaffar, S. K. (2013). The immunomodulating and antioxidant activity of fucoidan on the splenic tissue of rats treated with cyclosporine A. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 66(5), 243–254. doi:10.1016/j.jobaz.2013.05.003
- Pedersen, S. N., Lundebye, A.-K., & Depledge, M. H. (1997). Field application of metallothionein and stress protein biomarkers in the shore crab (*Carcinus maenas*) exposed to trace metals. *Aquatic Toxicology*, 37(2–3), 183–200. doi:10.1016/S0166-445X(96)00816-8
- Pereira, C. D. S., Abessa, D. M. S., Choueri, R. B., Almagro-Pastor, V., Cesar, A., Maranhão, L. A., et al. (2014). Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach. *Marine Environmental Research*, 96, 118–126. doi:10.1016/j.marenvres.2013.11.002
- Petrović, S., Ozretić, B., Krajnović-Ozretić, M., & Bobinac, D. (2001). Lysosomal Membrane Stability and Metallothioneins in Digestive Gland of Mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) as Biomarkers in a Field Study. *Marine Pollution Bulletin*, 42(12), 1373–1378. doi:10.1016/S0025-326X(01)00167-9
- Pinheiro-Sousa, D. B., Almeida, Z. da S. de, & Carvalho-Neta, R. N. F. (2013). Integrated analysis of two biomarkers in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes), to assess the environmental impact at São Marcos ' Bay, Maranhão, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(2), 305–312. doi:10.3856/vol41-issue2-fulltext-9
- Pislyagin, E. A., Manzhulo, I. V., Dmitrenok, P. S., & Aminin, D. L. (2016). Cucumarioside A2-2 causes changes in the morphology and proliferative activity in mouse spleen. *Acta Histochemica*, 118(4),

- 387–392. doi:10.1016/j.acthis.2016.03.009
- Pletsch, A. L., Beretta, M., & Tavares, T. M. (2010). Distribuição espacial de compostos orgânicos de estanho em sedimentos costeiros e em *Phallusia nigra* da Baía de Todos os Santos e litoral norte da Bahia - Brasil. *Química Nova*, 33(2), 451–457. doi:10.1590/S0100-40422010000200037
- Quiniou, F., Damiens, G., Gnassia-Barelli, M., Geffard, A., Mouneyrac, C., Budzinski, H., & Roméo, M. (2007). Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae. *Environment International*, 33(1), 27–33. doi:10.1016/j.envint.2006.06.020
- Rainbow, P. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120(3), 497–507. doi:10.1016/S0269-7491(02)00238-5
- Rasmussen, T. H., Andreassen, T. K., Pedersen, S. N., Van der Ven, L. T. M., Bjerregaard, P., & Korsgaard, B. (2002). Effects of waterborne exposure of octylphenol and oestrogen on pregnant viviparous eelpout (*Zoarces viviparus*) and her embryos in ovario. *The Journal of experimental biology*, 205(Pt 24), 3857–76. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12432009>
- Regoli, F., Pellegrini, D., Cicero, A. M., Nigro, M., Benedetti, M., Gorbi, S., et al. (2014). A multidisciplinary weight of evidence approach for environmental risk assessment at the Costa Concordia wreck: Integrative indices from Mussel Watch. *Marine Environmental Research*, 96, 92–104. doi:10.1016/j.marenvres.2013.09.016
- Regoli, F., Pellegrini, D., Winston, G. W., Gorbi, S., Giuliani, S., Virno-Lamberti, C., & Bompadre, S. (2002). Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: The relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). *Marine Pollution Bulletin*, 44(9), 912–922. doi:10.1016/S0025-326X(02)00120-0
- Reis, G. B. dos, Andrade-Vieira, L. F., Moraes, I. de C., César, P. H. S., Marcussi, S., & Davide, L. C. (2017). Reliability of plant root comet assay in comparison with human leukocyte comet assay for assessment environmental genotoxic agents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142(March), 110–116. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.04.004
- Rewitz, K., Styrihave, B., Depledge, M. H., & Andersen, O. (2004). Spatial and temporal distribution of shore crabs *Carcinus maenas* in a small tidal estuary (Looe estuary, Cornwall, England). *Journal of Crustacean Biology*, 24(1), 178–187. doi:10.1651/C-2417
- Ricciardi, F., Matozzo, V., Binelli, A., & Marin, M. G. (2010). Biomarker responses and contamination levels in crabs (*Carcinus aestuarii*) from the Lagoon of Venice: An integrated approach in biomonitoring estuarine environments. *Water Research*, 44(6), 1725–1736. doi:10.1016/j.watres.2009.11.042
- Richir, J., & Gobert, S. (2014). A reassessment of the use of *Posidonia oceanica* and *Mytilus galloprovincialis* to biomonitor the coastal pollution of trace elements: New tools and tips. *Marine Pollution Bulletin*, 89(1–2), 390–406. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.08.030
- Rocha, R. M., Coelho, R. P., Montes, C. S., Santos, S. S. D., & Ferreira, M. A. P. (2010). Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) da baía do Guajará, Belém, Pará. *Ciência Animal Brasileira*, 11(1), 2–5. doi:10.5216/cab.v11i1.3028
- Rodrigues, E. T., & Pardal, M. Â. (2014). The crab *Carcinus maenas* as a suitable experimental model in

- ecotoxicology. *Environment International*, 70, 158–182. doi:10.1016/j.envint.2014.05.018
- Roméo, M., Hoarau, P., Garelo, G., Gnassia-Barelli, M., & Girard, J. P. (2003). Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environmental Pollution*, 122(3), 369–378. doi:10.1016/S0269-7491(02)00303-2
- Roméo, M., Mourgaud, Y., Geffard, A., Gnassia-Barelli, M., Amiard, J. C., & Budzinski, H. (2003). Multimarker approach in transplanted mussels for evaluating water quality in Charentes, France, coast areas exposed to different anthropogenic conditions. *Environmental Toxicology*, 18(5), 295–305. doi:10.1002/tox.10128
- Sanches Filho, P. ., Fonseca, V. K., & Holbig, L. (2013). Avaliação de metais em pescado da região do Pontal da Barra, Laguna dos Patos, Pelotas-RS. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 8(1), 104–111. doi:10.5132/eec.2013.01.015
- Sardi, A. E., Renaud, P. E., Lana, P. da C., & Camus, L. (2016). Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 113(1–2), 496–508. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.08.014
- Schiedek, D., Broeg, K., Baršiene, J., Lehtonen, K. K., Gercken, J., Pfeifer, S., et al. (2006). Biomarker responses as indication of contaminant effects in blue mussel (*Mytilus edulis*) and female celpout (*Zoarces viviparus*) from the southwestern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 53(8–9), 387–405. doi:10.1016/j.marpolbul.2005.11.013
- Seixas, T. G., Moreira, I., Kehrig, H. D. A., & Malm, O. (2007). Distribuição de selênio em organismos marinhos da Baía de Guanabara/RJ. *Química Nova*, 30(3), 554–559. doi:10.1590/S0100-40422007000300009
- Shirani, M., Mirvaghefi, A., Farahmand, H., & Abdollahi, M. (2012). Biomarker responses in mudskipper (*Periophthalmus waltoni*) from the coastal areas of the Persian Gulf with oil pollution. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(3), 705–713. doi:10.1016/j.etap.2012.09.018
- Sifi, K., Amira, A., & Soltani, N. (2013). Oxidative stress and biochemical composition in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Advances in Environmental Biology*, 7(4), 595–604.
- Soares, J. L. F., Goch, Y. G. F., Peleja, J. R. P., Fosberg, B. R., Lemos, E. J. S., & Sousa, O. P. (2016). Bioacumulação de Mercúrio Total (Hg T) e hábitos alimentares de peixes da bacia do Rio Negro , 102–106. doi:10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n1p102-106
- Sousa, D. B. P., Almeida, Z. S., & Carvalho-Neta, R. N. F. (2013). Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(2), 369–376. doi:10.1590/S0102-09352013000200011
- Souza, C. P., Guedes, T. de A., & Fontanetti, C. S. (2016). Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(12), 1–12. doi:10.1007/s10661-016-5702-8
- Stegeman, J. J., Brouwer, M., Di Giulio, R. T., Förlin, L., Fowler, B. A., Sanders, B. M., & Van Veld, P. A. (1992). Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In R. J. Huggett, R. A. Kimerle, P. M. Mehrle Jr, & H. L. Bergman (Eds.), *Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress* (pp.

- 235–335). Chelsea: Lewis Publishers.
- Sturve, J., Berglund, Å., Balk, L., Broeg, K., & al. et. (2005). Effects of Dredging in Göteborg Harbor, Sweden, Assessed By Biomarkers in Eelpout (*Zoarces Viviparus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(8), 1951–1961. doi:10.1897/04-449R1.1
- Sussarellu, R., Fabioux, C., Camacho Sanchez, M., Le Goïc, N., Lambert, C., Soudant, P., & Moraga, D. (2012). Molecular and cellular response to short-term oxygen variations in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 412, 87–95. doi:10.1016/j.jembe.2011.11.007
- Taleb, Z. M., Benali, I., Gherras, H., Ykhlef-Allal, A., Bachir-Bouiadjra, B., Amiard, J. C., & Boutiba, Z. (2009). Biomonitoring of environmental pollution on the Algerian west coast using caged mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Oceanologia*, 51(1), 63–84. doi:10.5697/oc.51-1.063
- Teles, M., Pacheco, M., & Santos, M. A. (2006). Biotransformation, stress and genotoxic effects of 17 β -estradiol in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Environment International*, 32(4), 470–477. doi:10.1016/j.envint.2005.11.006
- Touahri, H. G., Boutiba, Z., Benguedda, W., & Shaposhnikov, S. (2016). Active biomonitoring of mussels *Mytilus galloprovincialis* with integrated use of micronucleus assay and physiological indices to assess harbor pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 52–64. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.06.029
- U.S. Environmental Protection Agency. (2017). *Interim Revised NPDES Inspection Manual*. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-01/documents/npdesinspect.pdf>
- van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. . (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57–149. doi:10.1016/S1382-6689(02)00126-6
- van Dyk, J. C., Pieterse, G. M., & van Vuren, J. H. J. (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3), 432–440. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.10.012
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Etxebarria, N., Nieto, O., & Beiras, R. (2014). Glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and acetylcholinesterase activities in mussels transplanted to harbour areas. *Science of the Total Environment*, 470–471, 107–116. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.09.073
- Viegas, S., Ladeira, C., Nunes, C., Malta-Vacas, J., Gomes, M., Brito, M., et al. (2010). Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: A study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 5(1), 25. doi:10.1186/1745-6673-5-25
- Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M., & Peakall, D. B. (2012). *Principles of ecotoxicology* (4th ed.). Boca Raton: CRC Press. https://books.google.com.br/books?id=szTGbn0oH7QC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. Accessed 12 December 2017
- Wang, Z., Yan, C., Vulpe, C. D., Yan, Y., & Chi, Q. (2012). Incorporation of in situ exposure and biomarkers response in clams *Ruditapes philippinarum* for assessment of metal pollution in coastal areas from the Maluan Bay of China. *Marine Pollution Bulletin*, 64(1), 90–98.

doi:10.1016/j.marpolbul.2011.10.017

- Wester, P. W., Vethaak, A. D., & van Muiswinkel, W. B. (1994). Fish as biomarkers in immunotoxicology. *Toxicology*, 86(3), 213–232. doi:10.1016/0300-483X(94)90005-1
- Wu, J.-P., Chen, H.-C., & Huang, D.-J. (2008). Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium and zinc in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere*, 73(7), 1019–1026. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.08.019
- Yamada, S., Davidson, T., & Fisher, S. (2010). Claw morphology and feeding rates of introduced European green crabs (*Carcinus maenas* L, 1758) and native Dungeness crabs (*Cancer magister* Dana, 1852). *Journal of Shellfish Research*, 29(2), 471–477. doi:10.2983/035.029.0225
- Zanette, J., Monserrat, J. M., & Bianchini, A. (2006). Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 143(2), 187–195. doi:10.1016/j.cbpc.2006.02.001
- Zorita, I., Apraiz, I., Ortiz-Zarragoitia, M., Orbea, A., Cancio, I., Soto, M., et al. (2007). Assessment of biological effects of environmental pollution along the NW Mediterranean Sea using mussels as sentinel organisms. *Environmental Pollution*, 148(1), 236–250. doi:10.1016/j.envpol.2006.10.022

4.2 Artigo II – Biomarcadores enzimáticos e morfológicos em *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) em um complexo industrial portuário da costa norte do Brasil *

Suelen Rosana Sampaio de Oliveira^{1*}, Wanda dos Santos Batista², Jucimary Braga Machado Sousa³, Katherine Saldanha Noletto¹, Ione Marly Arouche Lima⁴, Ticianne S. O. Mota Andrade², Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta⁵

1. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 65080-805, Brasil

* Este artigo será submetido para publicação na revista Marine Pollution Bulletin. ISSN: 0025-326X

2 Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 65055-310, Brasil

3. Bolsista de Apoio Técnico Institucional (BATI), Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 65055-310, Brasil

4. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 65055-310, Brasil

5. Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 65055-310, Brasil.

•Corresponding author. E-mail addresses: suelenrsdo@gmail.com

Abstract

Neste trabalho objetivou-se avaliar biomarcadores enzimáticos (glutathione-s-transferase e catalase) e morfológicos (lesões branquiais) em *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) de uma região industrial portuária da costa norte do Brasil. Os caranguejos foram capturados em dois locais diferenciados do litoral do Brasil: A1 = região sob influência de impactos portuários; e A2 = área pouco impactada, para exame o exame histológico nas brânquias e análise da atividade de glutathione-s-transferase (GST) e catalase (CAT) no hepatopâncreas. Não foram visualizadas brânquias saudáveis nos indivíduos de ambas regiões, sendo as lesões histológicas mais frequentes e severas em A1, especialmente a ruptura nas células pilastras e colapso lamelar. As médias para atividade das enzimas CAT e GST demonstraram que a espécie apresentou estresse oxidativo em reação ao ambiente poluído, principalmente durante o período chuvoso. Estas análises foram sugerem que a espécie está suscetível ao estresse ambiental, uma vez que alterações a diferentes níveis organizacionais foram constatados.

Palavras-chave: área portuária, biomarcador bioquímico, biomarcador histológico, caranguejo-uçá.

1. Introdução

Ambientes costeiros, tais como estuários e baías, são áreas de grande potencial econômico e, historicamente, vem sofrendo severos impactos antrópicos através da geração de resíduos e rejeitos de atividades industriais e portuárias, crescimento urbano, além de descargas *in natura* de efluentes domésticos (Macêdo et al., 2002; Miranda et al.,

2002). Esses impactos tendem a causar efeitos adversos em organismos, podendo modificar a dinâmica do ecossistema local.

A exposição de organismos a poluentes, resulta em efeitos nos vários níveis de organização biológica (Yavaşoğlu et al., 2016). Uma forma de se verificar estes efeitos é através do biomonitoramento, que além de avaliar a qualidade do ambiente, mensura impactos sobre as espécies (Aly et al., 2014). Uma metodologia eficiente e mundialmente utilizada em monitoramentos ambientais para avaliar respostas biológicas (em diferentes níveis) causadas por xenobióticos é descrita como biomarcador (Lam and Gray, 2003).

As abordagens de biomarcadores em estudos de biomonitoramento é frequentemente através de análises bioquímicas (e. g. atividades das enzimas catalase e glutathione-S-transferase) e teciduais (e. g. danos histológicos branquiais) em órgãos de espécies biomonitoras, pois mostram alta sensibilidade (Negro and Collins, 2017; Zanette et al., 2006). Além de relatar a situação atual dos organismos, este tipo de metodologia auxilia na previsão de futuros impactos em níveis superiores de organização biológica (Depledge, 1994).

Os efeitos adversos sobre as espécies que habitam baías e estuários que contém atividades portuárias são bem descritos na literatura (Devier et al., 2005; Lacroix et al., 2015; Moschino et al., 2016). A baía de São Marcos é conhecida por conter um dos maiores complexos portuários em movimentação de carga da América Latina, abrigando o Terminal Marítimo de Ponta da Madeira, Porto do Itaqui e Porto da Alumar/ALCOA (Amaral and Alfredin, 2010), sendo cercados por manguezais (áreas legalmente protegidas) onde já foram documentados efeitos de impactos em organismos aquáticos (Carvalho-Neta et al., 2016).

A utilização de espécies nativas para análise de biomarcadores é imprescindível. O crustáceo *Ucides cordatus* (caranguejo-uçá) é uma espécie endêmica da costa atlântica do continente americano (Burggren and McMahon, 1988), bem representativa em manguezais da costa norte do Brasil e de grande importância ecológica e econômica, sendo uma das principais fontes de renda para comunidades ribeirinhas (Vieira et al., 2004). Pensando na qualidade ambiental, preservação do ambiente e saúde das espécies (e. g. *U. cordatus*), objetivou-se com este trabalho, avaliar biomarcadores enzimáticos (glutathione-s-transferase e catalase) e morfológicos (lesões branquiais) em *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) em uma região industrial portuária e em outra área sem influência de impactos industriais, da costa norte do Brasil, relacionando-se com dados de metais pesados em sedimentos da região.

2. Materiais e métodos

2.1 Área de estudo e procedimento de amostragem

As amostras foram coletadas durante a estação chuvosa (fevereiro, abril e junho) e seca (agosto, outubro e dezembro) de 2016 em manguezais de duas regiões estuarinas brasileiras. As estações chuvosa (janeiro a junho) e seca (julho a dezembro), são definidas como padrão para a região (INMET, 2017). A área de estudo compreende o complexo estuarino de São Marcos e o estuário do rio Paciência, localizadas na Ilha de São Luís, no nordeste brasileiro (Fig. 1).

O complexo estuarino de São Marcos é a maior região estuarina da costa norte do Brasil, economicamente importante para o país devido ao grande fluxo de cargas para importação e exportação através do complexo portuário de São Luís (Amaral and Alfreidin, 2010; Rios, 2001). Além de receber resíduos de carga de atividades portuárias, a baía recebe um grande aporte fluvial do rio Mearim, onde ocorre o escoamento de efluentes domésticos dos municípios do seu entorno e lixiviação de pesticidas, como resultado das atividades agrícolas (Gaspar et al., 2005). Por esse motivo, essa região foi considerada como área impactada. O estuário do rio Paciência está localizado na porção nordeste da Ilha de São Luís (Castro, 2001) e abrange parte de uma importante região pesqueira da região. Os pontos de amostragem deste estuário são livres de empreendimentos portuários, não possui residências e não são observados impactos diretos de fontes poluidoras, sendo considerada área menos impactada.

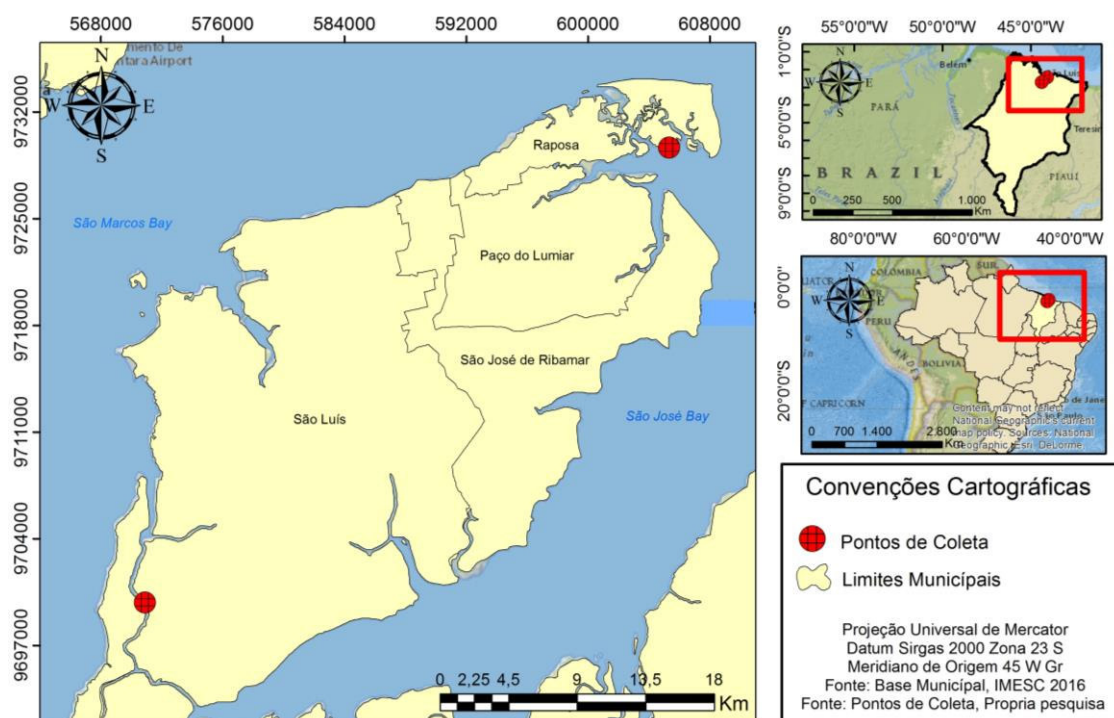


Figura 1. Localização dos pontos de coleta no complexo estuarino de São Marcos e no estuário do rio Paciência, na Ilha de São Luís, no nordeste brasileiro.

As amostras foram obtidas em pontos aleatórios nos manguezais próximos do complexo industrial portuário – A1, denominada impactada ($2^{\circ}43'16.1''\text{S } 44^{\circ}21'38.7''$) e em locais de pouco impacto e sem influência do complexo industrial portuário, onde a comunidade costuma capturar caranguejos para consumo familiar ou comércio – A2 ($2^{\circ}26'37.8''\text{S } 44^{\circ}03'39.6''\text{W}$).

Amostras de sedimentos dos manguezais foram obtidas para análise química, através da digestão ácida em forno de micro-ondas (método 3051 U.S.EPA, 2007). As soluções digeridas foram filtradas e analisadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, para análise do teor de Arsênio, Cádmio, Chumbo, Cobre, Cromo, Níquel e Zinco e por espectrometria de absorção atômica no vapor frio para análise da concentração de Mercúrio.

2.2 Análise biométrica

Duzentos e trinta e seis caranguejos foram capturados nos manguezais das regiões estuarinas. Em laboratório foram tomadas medidas biométricas dos caranguejos, relacionadas ao peso total (TW) do organismo em gramas, comprimento do cefalotórax (CL), largura do cefalotórax (CW), comprimento do própodo quelar (LC) e largura do própodo quelar (WC) em centímetros, mensurados com paquímetro (Andrade, 2016; Pinheiro and Fiscarelli, 2001).

2.3 Análise histológica

Brânquias extraídas dos caranguejos ($n=58$) foram fixadas em Solução de Davidson, desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol, incluídas e impregnadas em parafina líquida. Para a coloração dos tecidos, utilizou-se Hematoxilina e Eosina. Para a identificação de lesões branquiais nos caranguejos os autores-base foram Maharajan et al. (2015), Negro (2015), Negro and Collins (2017), Rebelo et al. (2000) e Welsh et al. (2013). A contagem de alterações branquiais nos caranguejos, foi de acordo com Rebelo et al. (2000), verificando a porcentagem de lamelas afetadas por cada lesão.

2.4 Análise bioquímica

Uma grama de hepatopâncreas de cada caranguejo foi extraída e imediatamente congelada e armazenada em nitrogênio líquido. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas em solução tampão (Tris–HCl 50mM, KCl 0.15M pH 7.4). O sobrenadante

foi utilizado na análise da atividade enzimática da Catalase (CAT) e Glutathione-S-Transferase (GST).

A atividade da GST foi quantificada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 340 nm a 25° C, utilizando como substrato 10µl de glutathione reduzida (GSH) e 10 µl de 1-chloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), 960µl tampão fosfato de potássio (0,1M), pH 7,0 e 20µl da amostra, conforme descrito por Keen et al. (1976), modificado por Camargo and Martinez (2006). A atividade da CAT foi analisada através da taxa de decomposição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), quantificada a 240 nm em espectrofotômetro, utilizando 990µl de meio de reação (solução aquosa de Tris-base, EDTA e peróxido de hidrogênio) e 10µL de amostra, assim como realizado por Tagliari et al. (2004) e Ventura et al. (2002).

3. Resultados

3.1 Análise química do sedimento

Valores sobre a concentração de metais pesados analisados em A1 (região impactada) e A2 (área pouco impactada) em sedimentos podem ser visualizados na tabela 1. Os dados demonstram valores maiores na área de influência industrial portuária (A1).

Tabela 1. Valores em mg/kg de metais pesados em sedimentos provenientes das áreas de amostragem.

Metais pesados (mg/kg)	Áreas*		Valores de referência (mín. - máx.)**
	A1	A2	
Arsênio	5,9 ± 0,2	2,0 ± 0,1	19-70
Cádmio	< 0,6	< LD (0,6)	1,2-7,2
Chumbo	7,9 ± 0,2	2,4 ± 0,3	46,7-218
Cobre	9,1 ± 0,5	2,5 ± 0,2	34-270
Cromo	18,2 ± 0,8	5,3 ± 0,3	81-370
Mercúrio	< 0,05	< 0,05	0,3-1,0
Níquel	7,1 ± 0,2	1,9 ± 0,1	20,9-51,6
Zinco	27 ± 1,0	10 ± 1,0	150-410

* A1 = região impactada; A2 = área pouco impactada; ** Legislação brasileira (Resolução CONAMA n°454/2012).

3.2 Dados biométricos

Os resultados dos dados biométricos de *U. cordatus* para os locais de estudo podem ser observados na Tabela 2. Os valores mostram que os exemplares da área poluída estavam com medidas inferiores aos da área pouco impactada.

Tabela 2. Média e desvio padrão dos parâmetros biométricos de *U. cordatus* capturados nos ambientes estuarinos amostrados, no período chuvoso e de estiagem de 2016.

Biometric data ²	Áreas de amostragem ¹			
	A1		A2	
	Período chuvoso	Período seco*	Período chuvoso*	Período seco*
TW (g)	113,2* ± 22	95,2* ± 22	149,6* ± 31,8	149,9* ± 29,3
CW(cm)	5,8* ± 1,1	6,2* ± 0,4	6,2* ± 0,9	7,0* ± 0,4
CL(cm)	5,1* ± 0,7	4,6* ± 0,3	5,6* ± 1,1	5,3* ± 0,3
LCP(cm)	5,5* ± 0,9	5,3* ± 0,8	6,4* ± 1,0	6,4* ± 0,7
WCP(cm)	2,3* ± 0,4	2,3* ± 0,3	2,7* ± 0,4	2,7* ± 0,3

¹A1 = região impactada; A2 = área pouco impactada; ²TW: total weight; CW: cephalothorax width; CL: cephalothorax length; LCP: length chelate propodus; WC: width chelate propodus.

*Indica diferença estatística (p<0,05) entre as áreas e entre os períodos sazonais. N=236.

3.3 Biomarcadores histológicos

A porcentagem de lamelas de *U. cordatus* afetadas por alterações está apresentada na tabela 3. Os maiores valores são notados na região poluída. Houve diferença significativa entre os locais durante a estação chuvosa (p<0.05). As alterações mais frequentes estão listadas na tabela 3 e visualizadas na Figura 2.

Tabela 3. Porcentagem das lamelas afetadas por alterações nas brânquias de *U. cordatus* capturados nos ambientes estuarinos amostrados.

Alteração branquial	Áreas de amostragem ¹			
	A1		A2	
	Período Chuvoso	Período seco	Período Chuvoso	Período seco
Colapso lamelar	23,7%*	1,1%	0%*	1,5%
Deformação do canal marginal	12,1%*	6,3%	2,5%*	2,8%
Descolamento da cutícula	0,4%*	1,4%	0,6%*	0,5%
Necrose	0%*	2,3%	0,1%*	0,5%
Ruptura de células pilastras	28,5%*	0,6%	0,7%*	1,5%

¹A1 = região impactada; A2 = área pouco impactada; *Indica diferença estatística entre as épocas chuvosas nas duas áreas (p<0,05). N= 58

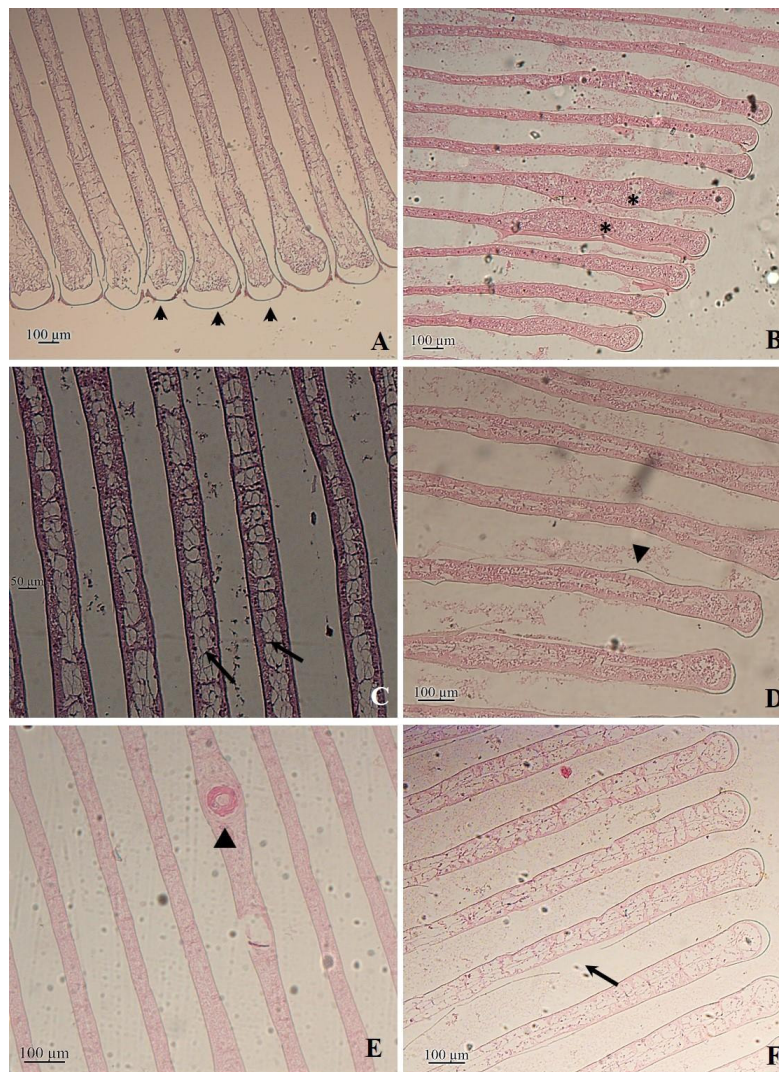


Figura 2. Alterações visualizadas no filamento branquial de *U. cordatus*. A – Deformação do canal marginal; B – Colapso lamelar seguido de inchaço; C – Rompimento das células pilastras; D – Descolamento da cutícula. E – Nódulo hemocítico; F – Rompimento da cutícula. HE.

Não foram visualizadas brânquias não afetadas por alterações nas duas áreas, porém, a quantidade de lesões na área impactada foi superior ao número de lesões da área pouco impactada. O exame histológico mostrou que a maioria dos filamentos branquiais apresentou rupturas nas células pilastras, provocando uma desestruturação das lamelas secundárias. Este evento origina o colapso lamelar, muitas vezes acompanhado de necrose.

3.4 Biomarcadores bioquímicos

Os dados da análise da atividade da enzima CAT estão expressos em média e desvio padrão, no período chuvoso (Fig.3) e de estiagem (Fig.4), assim como a atividade da enzima GST (Fig.5). As médias para atividade da CAT apresentaram-se idênticas para

as duas áreas durante o período chuvoso, mas muito mais alta na época de estiagem na região portuária. Já as médias para a atividade da GST apresentaram-se mais elevada na época chuvosa na área portuária, mas tornou-se próxima a zero (exaurida) no período de estiagem. Porém não houve diferença estatística entre as áreas e os períodos sazonais ($p>0,05$).

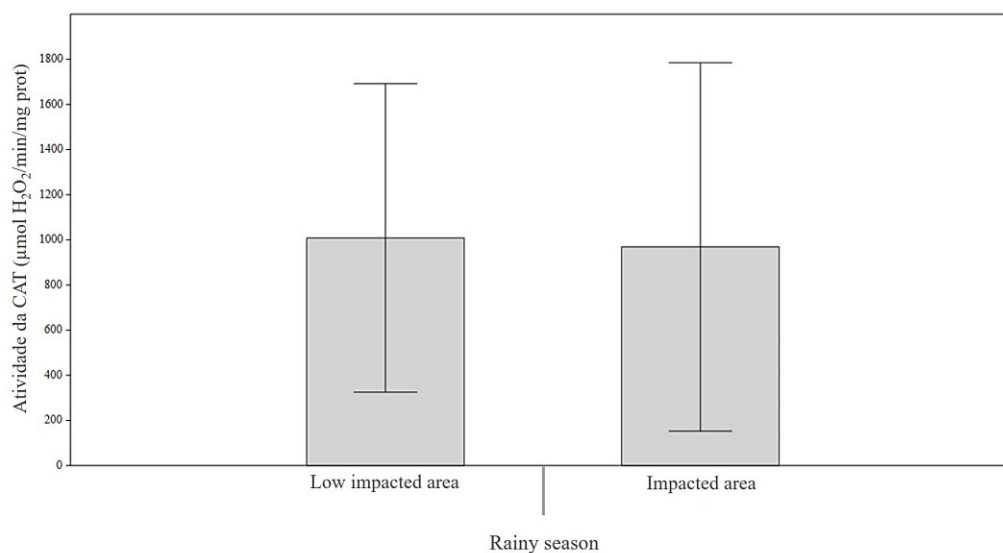


Figura 3. Atividade da CAT (μmol H₂O₂/min/mg prot) em espécimes de *U. cordatus*, durante o período chuvoso de 2016.

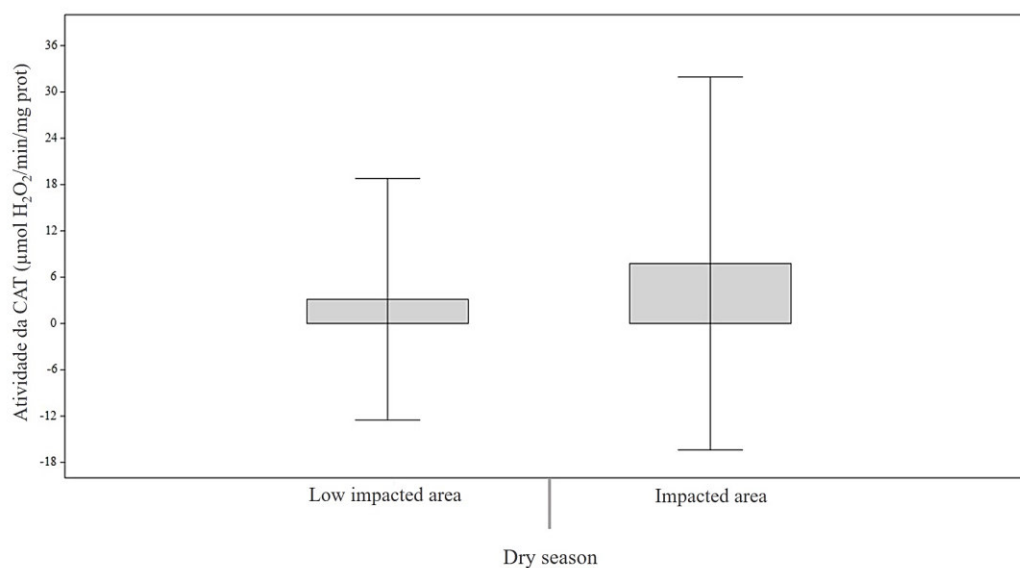


Figura 4. Atividade da CAT (μmol H₂O₂/min/mg prot) em espécimes de *U. cordatus*, durante o período de estiagem de 2016.

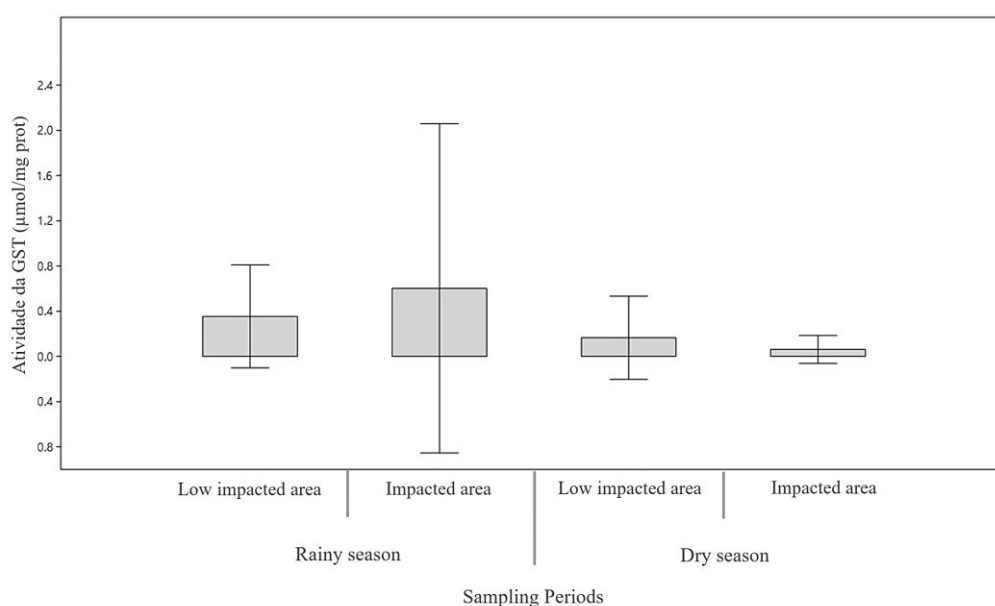


Figura 5. Atividade da GST ($\mu\text{mol/mg prot}$) em espécimes de *U. cordatus*, durante o período chuvoso e de estiagem de 2016.

4. Discussão

4.1 Análise química de sedimentos e dados biométricos

Os caranguejos amostrados da região industrial portuária estavam com medidas inferiores, quando comparados aos exemplares da área pouco impactada. O mesmo padrão de crescimento foi observado em peixes por Carvalho-Neta et al. (2014), Carvalho-Neta and Abreu-Silva (2013) e Pinheiro-Sousa et al. (2013) e em caranguejos por Andrade (2016) em locais poluídos próximos aos nossos pontos de amostragem.

Alguns fatores podem interferir no crescimento de caranguejos, tais como a temperatura, salinidade, pesca predatória e exposição a xenobióticos. A temperatura na região de estudo não apresenta grandes variações durante o ano (Cutrim et al., 2016; Sousa et al., 2013, 2016), devido a localização geográfica da região (próxima a linha do Equador). A exposição a metais pesados e outros contaminantes podem reduzir o crescimento de organismos aquáticos, devido ao desvio da energia de crescimento, para atuar na desintoxicação do organismo (Moureaux et al., 2011; Santos et al., 2016). Os valores da concentração de metais pesados em sedimentos sugerem que a espécie *U. cordatus* pode estar bioacumulando estes componentes em seus tecidos, causa provável para a diferença nas medidas biométricas desta espécie em diferentes locais. Além disso, nesta região já foram documentadas contaminações por metais pesados em amostras de

água, sedimento de manguezal, vegetação e poeira foliar (Carvalho-Neta et al., 2012; Silva et al., 2016), confirmando que a diferença de tamanho destes crustáceos tem relação com exposição a contaminantes, como os metais pesados.

4.2 Biomarcadores Histológicos

Os maiores percentuais de alterações histológicas observadas na presente pesquisa são pertencentes aos caranguejos da região impactada. A diferença entre percentuais nas áreas amostradas, indica que o impacto é mais severo na região de influência industrial portuária, devido à intensa perturbação do ambiente. Estas lesões apresentam-se como uma forma de defesa contra compostos tóxicos e agentes infecciosos, comprometendo a funcionalidade parcial ou total do órgão (Bernet et al., 1999; Winkaler et al., 2008).

A brânquia é um órgão que desempenha papel fundamental para o funcionamento do organismo, pois participa de processos de regulação osmótica e iônica, juntamente com os órgãos excretores (Freire et al., 2008; Olson, 1991). A ocorrência de lesões em seu tecido compromete as funções desempenhadas pelo órgão e consequentemente causam prejuízos ao organismo, afetando sua saúde (Langiano and Martinez, 2008).

Pesquisadores têm observado alterações histológicas branquiais em indivíduos de áreas potencialmente contaminadas (e. g Arockia Vasanthi et al., 2014; Corbett et al., 2014; Yavaşoğlu et al., 2016), mostrando a eficácia do exame histológico para avaliação de áreas poluídas. As lesões mais frequentes observadas nos caranguejos analisados neste trabalho também foram relatadas na literatura em indivíduos provenientes de áreas com influência portuárias. Ameer et al. (2015), visualizaram deformações no ápice das lamelas secundárias (canal marginal); Sousa et al. (2013) registraram em suas análises descolamento do epitélio e estreitamento lamelar (similar ao colapso lamelar); Carvalho-Neta et al. (2014) observaram necrose no filamento branquial de peixes provenientes de locais com atividades antrópicas.

As alterações encontradas nas brânquias dos exemplares dos caranguejos analisados podem ser indicativas de exposição a contaminantes ou estresse ambiental, visto que em uma das áreas há dados pretéritos de contaminação por metais pesados (Carvalho-Neta et al., 2012; Silva et al., 2016). A perturbação ambiental expõe os organismos a uma combinação ou misturas complexas de xenobióticos presentes no ambiente, resultando em efeitos sinérgicos e aditivos (Oliveira-Ribeiro and Narciso,

2014). Como as brânquias de *U. cordatus* estão em contato com o ambiente circundante e são as primeiras a reagir aos xenobióticos presentes no ambiente, as alterações no tecido indicam a presença de contaminantes nos dois ambientes estuarinos, tais como os metais pesados.

4.3 Biomarcadores bioquímicos

As atividades enzimáticas da CAT e GST mostraram que os caranguejos das regiões amostradas estão sob impactos proporcionadas pela existência de poluentes (Burton et al., 2002), o que compromete a sanidade da espécie.

Valores elevados de atividade enzimática sugerem estresse oxidativo e ambiente poluído, possivelmente pelo excesso de H_2O_2 no meio celular, frente a exposição a xenobióticos, durante o processo de desintoxicação do organismo (Krifka et al., 2013; Ribeiro et al., 2016) e em consequência, pode ocorrer danos às biomoléculas, como lipídios e DNA (Santana et al., 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Sardi et al. (2016), que observaram que a atividade de GST em caranguejo *U. maracoani* foram maiores no verão (período chuvoso) que no inverno (período de estiagem) e por Zanette et al. (2006), que afirmaram que a atividade da CAT e GST em ostras foi maior durante o verão que no inverno nas regiões estuarinas poluídas e de referência de Itamaracá e Piraquê. Além disso, em Rocha (2017), o alto teor de metalotioneínas é acompanhado por uma maior concentração de metais pesados no músculo *U. cordatus* capturados próximos aos nossos pontos amostrais durante a época chuvosa. Neste período, houveram situações de estresse para estes organismos, aumentando o seu mecanismo de defesa, como foi observado neste trabalho. Assim, estas informações confirmam a hipótese de que os caranguejos estão expostos a uma mistura de xenobióticos contidos nas duas regiões amostradas, principalmente durante o período das chuvas na região, no qual o aporte de metais pesados é mais elevado.

A CAT é uma das mais importantes enzimas relacionadas ao processo antioxidante dos organismos, combatendo H_2O_2 na célula (Jena et al., 2009). A GST é uma enzima de desintoxicação de fase II, que reage a poluentes orgânicos e inorgânicos, fazendo sua biotransformação e eliminação (Contreras-Vergara et al., 2004).

Poluentes ambientais, como os metais pesados podem provocar reações de toxicidade, induzindo o surgimento de espécies reativas de oxigênio (ERO), desencadeando o estresse oxidativo nas espécies (Martín-Díaz et al., 2008; Zanette et al., 2006). Assim, ocorrem danos a níveis moleculares e posteriormente, teciduais, como foi

observado nos caranguejos do presente estudo. Portanto, esses dados servem de alerta para o monitoramento contínuo na região e, assim, orientar avaliações futuras sobre o possível risco associado ao consumo desta espécie, tendo em vista o registro de metais nos sedimentos onde estes organismos foram capturados.

5. Conclusão

Em conclusão, pode-se afirmar que a análise integrada de biomarcadores (atividade de enzimas e alterações branquiais) em *U. cordatus* foi satisfatória para monitorar as duas regiões estuarinas em diferentes estações do ano, pois demonstrou alterações em diferentes níveis de organização biológica (bioquímico e tecidual), especialmente nos caranguejos da região portuária. A atividade da GST apresentou-se como o melhor biomarcador, mostrando sensibilidade aos poluentes, sendo capaz de indicar ambientes perturbados.

Em suma, os caranguejos estão sofrendo sérios impactos induzidos por xenobióticos das baías, apresentando alterações histológicas e enzimáticas. Estas análises sugerem que a espécie está suscetível ao estresse ambiental, uma vez que efeitos adversos foram constatados.

Acknowledgements

Agradecemos à equipe do Laboratório de Biomarcadores em Organismos aquáticos da Universidade Estadual do Maranhão, pelo auxílio nas análises biológicas e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo financiamento desta pesquisa.

References

- Aly, W., Williams, I.D., Hudson, M.D., 2014. Limitations of metallothioneins in common cockles (*Cerastoderma edule*) and sponges (*Haliclona oculata*) as biomarkers of metal contamination in a semi-enclosed coastal area. *Sci. Total Environ.* 473–474, 391–397. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.136
- Amaral, R., Alfredin, P., 2010. Modelação Hidrossedimentológica no Canal de Acesso do Complexo Portuário do Maranhão. *Rev. Bras. Recur. Hídricos* 15, 5–14. doi:10.21168/rbrh.v15n2.p5-14
- Ameur, W. Ben, El Megdiche, Y., de Lapuente, J., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Ennaceur, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-López, D., Gonzalez-Linares, J., Touil, S., Driss,

- M.R., Borràs, M., 2015. Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax* gill exposed to persistent pollutants. A field study in the Bizerte Lagoon: Tunisia. *Chemosphere* 135, 67–74. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.02.050
- Andrade, T.S.O.M., 2016. Biomarcadores em caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) para monitoramento ambiental em áreas portuárias. 2016. 151f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís - MA.
- Arockia Vasanthi, L., Muruganandam, A., Revathi, P., Baskar, B., Jayapriyan, K., Baburajendran, R., Munuswamy, N., 2014. The application of histocytopathological biomarkers in the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) to assess heavy metal toxicity in Pulicat Lake, Chennai. *Mar. Pollut. Bull.* 81, 85–93. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.02.016
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish Dis.* 22, 25–34. doi:10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x
- Burggren, W.W., McMahon, B.R., 1988. *Biology of the Land Crabs*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Burton, J.E., Dorociak, I.R., Schwedler, T.E., Rice, C.D., 2002. Circulating lysozyme and hepatic CYP1A activities during a chronic dietary exposure to tributyltin (TBT) and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB-126) mixtures in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part A* 65, 589–602. doi:10.1080/152873902317349745
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R., 2006. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 21, 61–69. doi:10.1016/j.etap.2005.07.016
- Carvalho-Neta, R.N.F., Abreu-Silva, A.L., 2013. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) for environmental monitoring: the case study of São Marcos Bay, Maranhão, Brazil. *Lat. Am. J. Aquat.* 41, 217–225. doi:10.3856/vol41-issue2-fulltext-2
- Carvalho-Neta, R.N.F., Pinheiro-Sousa, D.B., Almeida, Z. da S. de, Santos, D.M.S., Tchaicka, L., 2014. A histopathological and biometric comparison between catfish (Pisces, Ariidae) from a harbor and a protected area, Brazil. *Aquat. Biosyst.* 10, 1–8. doi:10.1186/s12999-014-0012-5

- Carvalho-Neta, R.N.F., Torres, A.R., Abreu-Silva, A.L., 2012. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). Appl. Biochem. Biotechnol. 166, 1314–1327. doi:10.1007/s12010-011-9519-1
- Carvalho-Neta, R.N.F., Torres Junior, A.R., Sousa, D.B.P., de Sousa de Oliveira Mota Andrade, T., Torres, H.S., da Silva Castro, J., da Silva de Almeida, Z., Santos, D.M.S., Tchaicka, L., 2016. In situ assessment of two catfish species (pisces, Ariidae) to evaluate pollution in a harbor 100007, 100007. doi:10.1063/1.4968699
- Contreras-Vergara, C.A., Harris-Valle, C., Sotelo-Mundo, R.R., Yepiz-Plascencia, G., 2004. A mu-class glutathioneS-transferase from the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular cloning and active-site structural modeling. J. Biochem. Mol. Toxicol. 18, 245–252. doi:10.1002/jbt.20033
- Corbett, P.A., King, C.K., Stark, J.S., Mondon, J.A., 2014. Direct evidence of histopathological impacts of wastewater discharge on resident Antarctic fish (*Trematomus bernacchii*) at Davis Station, East Antarctica. Mar. Pollut. Bull. 87, 48–56. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.08.012
- Coutinho, P.N., Morais, J.O., 1976. Distribuição de sedimentos na Baía do São Jose, Estado do Maranhao (Brasil). Arq. Ciências do Mar 2, 123–127.
- Cutrim, A.S.T., Sousa, L.K.S., Oliveira, V.M., Almeida, Z.S., 2016. Estrutura da comunidade de poliquetas em manguezais do Golfão Maranhense, in: Almeida, Z.S., Oliveira, V.M. (Eds.), Avaliação Ambiental No Complexo Portuário Do Itaqui. EDUEMA, São Luís, pp. 145–165.
- Depledge, M.H., 1994. The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools, in: Fossi, M.C., Leonzio, C. (Eds.), Non-Destructive Biomarkers in Vertebrates. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 261 – 285.
- Devier, M.-H., Augagneur, S., Budzinski, H., Le Menach, K., Mora, P., Narbonne, J.-F., Garrigues, P., 2005. One-year monitoring survey of organic compounds (PAHs, PCBs, TBT), heavy metals and biomarkers in blue mussels from the Arcachon Bay, France. J. Environ. Monit. 7, 224. doi:10.1039/b409577d
- Freire, M.M., Santos, V.G., Ginuino, I.S.F., Arias, A.R.L., 2008. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. Oecologia Bras. 12, 347–354. doi:10.4257/oeco.2008.1203.01
- Gaspar, S.M.F.S., Nunes, G.S., Pinheiro, C.U.B., Amarante Júnior, O.P. do, 2005. Avaliação de risco de pesticidas aplicados no município de Arari, Maranhão, Brasil:

- base para programa de controle ambiental do rio Mearim. Pestic. Rev. Ecotoxicologia e Meio Ambient. 15, 43–54. doi:10.5380/pes.v15i0.4500
- INMET - Instituto Nacional de Meteorologia, 2017. Normal Climatológica do Brasil 1961–1990 [WWW Document]. URL <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisClimatologicas> (accessed 11.28.17).
- Jena, K.B., Verlecar, X.N., Chainy, G.B.N., 2009. Application of oxidative stress indices in natural populations of *Perna viridis* as biomarker of environmental pollution. Mar. Pollut. Bull. 58, 107–113. doi:10.1016/j.marpolbul.2008.08.018
- Keen, J.H., Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1976. Mechanism for several activities of the glutathione-S-transferase. J. Biol. Chem. 251, 6183–6188.
- Krifka, S., Spagnuolo, G., Schmalz, G., Schweikl, H., 2013. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. Biomaterials 34, 4555–4563. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.03.019
- Lacroix, C., Richard, G., Segueineau, C., Guyomarch, J., Moraga, D., Auffret, M., 2015. Active and passive biomonitoring suggest metabolic adaptation in blue mussels (*Mytilus* spp.) chronically exposed to a moderate contamination in Brest harbor (France). Aquat. Toxicol. 162, 126–137. doi:10.1016/j.aquatox.2015.03.008
- Lam, P.K., Gray, J.S., 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. Mar. Pollut. Bull. 46, 182–186. doi:10.1016/S0025-326X(02)00449-6
- Langiano, V. do C., Martinez, C.B.R., 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol. 147, 222–231. doi:10.1016/j.cbpc.2007.09.009
- Macêdo, S.J., Montes, M.J.F., Lins, I.C., 2002. Características abióticas da área, in: Barros, H.M., Eskinazi-Leça, H., Macêdo, S.J., Lima, T. (Eds.), Gerenciamento Participativo de Estuários E Manguezais. Ed. Universitária da UFPE, Recife, p. 252.
- Maharajan, A., Narayanasamy, Y., Ganapiriya, V., Shanmugavel, K., 2015. Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). J. Basic Appl. Zool. 72, 104–112. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.08.002
- Martín-Díaz, M.L., Blasco, J., Sales, D., DelValls, T.A., 2008. Field validation of a battery of biomarkers to assess sediment quality in Spanish ports. Environ. Pollut. 151, 631–640. doi:10.1016/j.envpol.2007.03.019
- Miranda, L.B., Castro Filho, B.M., Kjerfve, B., 2002. Princípios de oceanografia física

- de estuários, 42nd ed. EDUSP, São Paulo.
- Moschino, V., Del Negro, P., De Vittor, C., Da Ros, L., 2016. Biomonitoring of a polluted coastal area (Bay of Muggia, Northern Adriatic Sea): A five-year study using transplanted mussels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 128, 1–10. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.02.006
- Moureaux, C., Simon, J., Mannaerts, G., Catarino, A.I., Pernet, P., Dubois, P., 2011. Effects of field contamination by metals (Cd, Cu, Pb, Zn) on biometry and mechanics of echinoderm ossicles. *Aquat. Toxicol.* 105, 698–707. doi:10.1016/j.aquatox.2011.09.007
- Negro, C.L., 2015. Histopathological effects of endosulfan to hepatopancreas, gills and ovary of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda: Trichodactylidae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 113, 87–94. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.11.025
- Negro, C.L., Collins, P., 2017. Histopathological effects of chlorpyrifos on the gills, hepatopancreas and gonads of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis*. Persistent effects after exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 140, 116–122. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.02.030
- Oliveira-Ribeiro, C.A., Narciso, M.F., 2014. Histopathological Markers in Fish Health Assessment, in: Almeida, E.A., Oliveira-Ribeiro, C.A. (Eds.), *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems*. CRC Press, Boca Raton, pp. 206–242.
- Olson, K.R., 1991. Vasculature of the fish gill: Anatomical correlates of physiological functions. *J. Electron Microsc. Tech.* 19, 389–405. doi:10.1002/jemt.1060190402
- Pinheiro-Sousa, D.B., Almeida, Z. da S. de, Carvalho-Neta, R.N.F., 2013. Integrated analysis of two biomarkers in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes), to assess the environmental impact at São Marcos' Bay, Maranhao, Brazil. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 41, 305–312. doi:10.3856/vol41-issue2-fulltext-9
- Pinheiro, M.A.A., Fiscarelli, A.G., 2001. Manual de Apoio à Fiscalização - Caranguejo-Uçá, Cepsul. Itajaí.
- Rebelo, M. de F., Rodriguez, E.M., Santos, E.A., Ansaldo, M., 2000. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 125, 157–164. doi:10.1016/S0742-8413(99)00093-6
- Ribeiro, E.B., Bastos, L.S., Galeno, L.S., Mendes, R.S., Garino, F., Carvalho-Neta,

- R.N.F., Costa, F.N., 2016. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 182–186. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.09.013
- Rios, L., 2001. Estudos de Geografia do Maranhão, 3rd ed. Graphis, São Luís.
- Rocha, C.H.S. 2017. Bioacumulação de metais e presença de metalotioneína no caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763). 2017. 64f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação), Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA.
- Santana, M.S., Yamamoto, F.Y., Sandrini-Neto, L., Filipak Neto, F., Ortolani-Machado, C.F., Oliveira Ribeiro, C.A., Prodocimo, M.M., 2018. Diffuse sources of contamination in freshwater fish: Detecting effects through active biomonitoring and multi-biomarker approaches. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 149, 173–181. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.11.036
- Santos, R.M., Weber, L., Souza, V.L., Soares, A.R., Petry, A.C., 2016. Effects of water-soluble fraction of petroleum on growth and prey consumption of juvenile *Hoplias aff. malabaricus* (Osteichthyes: Erythrinidae). *Brazilian J. Biol.* 76, 10–17. doi:10.1590/1519-6984.06714
- Sardi, A.E., Renaud, P.E., Lana, P. da C., Camus, L., 2016. Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* 113, 496–508. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.08.014
- Silva, A.C., França, N.S., Moreira, E.G., 2016. Teor metálico em um manguezal sob influência portuária, São Luís, MA, in: Almeida, Z.S., Oliveira, V.M. (Eds.), Avaliação Ambiental no Complexo Portuário do Itaqui. EDUEMA, São Luís, pp. 167–195.
- Sousa, D.B.P., Almeida, Z.S., Carvalho-Neta, R.N.F., 2013. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* 65, 369–376. doi:10.1590/S0102-09352013000200011
- Sousa, L.K.S., Cutrim, A.S.T., Oliveira, V.M., Almeida, Z.S., 2016. Poliquetas como indicadores da qualidade ambiental em manguezais do Golfão Maranhense, Brasil, in: Almeida, Z.S., Oliveira, V.M. (Eds.), Avaliação Ambiental no Complexo Portuário do Itaqui. EDUEMA, São Luís, pp. 11–33.
- Tagliari, K.C., Cecchini, R., Rocha, J.A. V, Vargas, V.M.F., 2004. Mutagenicity of sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under

- the influence of tanneries. *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 561, 101–117. doi:10.1016/j.mrgentox.2004.04.001
- U.S.EPA - United States Environmental Protection Agency, 2007. SW-846 Test Method 3051A: Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils [WWW Document]. URL <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-3051a-microwave-assisted-acid-digestion-sediments-sludges-soils-and-oils> (accessed 12.21.17).
- Ventura, E.C., Gaelzer, L.R., Zanette, J., Marques, M.R.F., Bairy, A.C.D., 2002. Biochemical indicators of contaminant exposure in spotted pigfish (*Orthopristis ruber*) caught at three bays of Rio de Janeiro coast. *Mar. Environ. Res.* 54, 775–779. doi:10.1016/S0141-1136(02)00137-X
- Vieira, R.H.S.F., De Lima, E.A., Sousa, D.B.R., Dos Reis, E.F., Costa, R.G., Rodrigues, D.D.P., 2004. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp., presence and susceptibility in crabs *Ucides cordatus*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 46, 179–182. doi:10.1590/S0036-46652004000400001
- Welsh, J.E., King, P.A., MacCarthy, E., 2013. Pathological and physiological effects of nicking on brown crab (*Cancer pagurus*) in the Irish crustacean fishery. *J. Invertebr. Pathol.* 112, 49–56. doi:10.1016/j.jip.2012.08.006
- Winkaler, E.U., Silva, A.D.G., Galindo, H.C., Martinez, C.B.D.R., 2008. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Sci. Biol. Sci.* 23, 507–514. doi:10.4025/actascibiolsci.v23i0.2708
- Yavaşoğlu, A., Özkan, D., Güner, A., Katalay, S., Oltulu, F., Yavaşoğlu, N.Ü.K., 2016. Histopathological and apoptotic changes on marine mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) following exposure to environmental pollutants. *Mar. Pollut. Bull.* 109, 184–191. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.05.084
- Zanette, J., Monserrat, J.M., Bianchini, A., 2006. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 143, 187–195. doi:10.1016/j.cbpc.2006.02.001

5 CONCLUSÃO GERAL

Com base nas informações deste estudo, pode-se concluir que:

- As alterações histológicas e enzimáticas em *U. cordatus*, bem como os dados biométricos alterados, sugerem que a espécie está suscetível ao estresse ambiental, especialmente na região portuária;
- A análise integrada de biomarcadores em caranguejo-uçá foi satisfatória para monitorar as áreas, sendo a atividade da GST considerada o melhor biomarcador, por sua sensibilidade aos poluentes, com um padrão mais evidente na região portuária;
- A espécie pode ser considerada uma boa biomonitora, pois foi capaz de refletir as condições do ambiente, uma vez que efeitos adversos foram constatados;
- O estudo fornece informações valiosas sobre a qualidade das baías maranhenses, bem como a sanidade da espécie;

- O uso de biomarcadores em espécies bioindicadoras para avaliação da qualidade ambiental de regiões portuárias é eficiente e a maioria dos autores dos artigos utilizados neste trabalho recomendam a utilização de múltiplos biomarcadores na detecção de danos biológicos em resposta a exposição da biota a componentes xenobióticos.

REFERÊNCIAS

AMARAL, R.; ALFREDIN, P. Modelação Hidrossedimentológica no Canal de Acesso do Complexo Portuário do Maranhão. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 15, n. 2, p. 5–14, 2010.

ANDRADE, T. S. O. M. **Biomarcadores em caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) para monitoramento ambiental em áreas portuárias**. 2016. 151f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís - MA.

ANTAQ - Agência Nacional de Transportes Aquaviários. **O porto verde: modelo ambiental portuário**. Brasília: [s.n.].

ASSIS, K. M. M.; SANTOS, R. O. C.; CUTRIM, S. S.; CUTRIM, S. J. **Operação Portuária e Planejamento Estratégico: estudo de caso de portos do nordeste**. In: Encontro Nacional dos Cursos de Graduação em Administração, 24., 2013, Porto Alegre.

Anais... Florianópolis: Associação Nacional dos Cursos de Graduação em Administração, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 9898: preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores - procedimento. Rio de Janeiro, p. 24. 1987.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 593-600, 2004.

CAJARAVILLE, M. P.; BEBIANNO, M. J.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C.; VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **Science of the Total Environment**, v. 247, n. 2-3, p.295-311, 2000.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, n. 1, p. 61–69, jan. 2006.

CARVALHO-NETA, R. N. F. et al. In situ assessment of two catfish species (pisces, Ariidae) to evaluate pollution in a harbor. **AIP Conference Proceedings**, v. 100007, p. 100007-1–100007-4, 2016.

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

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

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

CAVALCANTE, R. B.; CALIXTO, P.; PINHEIRO, M. M. K. Análise de conteúdo:

Considerações gerais, relações com a pergunta de pesquisa, possibilidades e limitações do método. **Informacao & Sociedade**, v. 24, n. 1, p. 13–18, 2014.

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

COUTINHO, P. N.; MORAIS, J. O. Distribuição de sedimentos na Baía do São Jose, Estado do Maranhao (Brasil). **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 2, n. 16, p. 123–127, 1976.

DELUNARDO, F. A. C. **Danos genotóxicos, mutagênicos e morfológicos em *Hippocampus reidi* exposto ao petróleo**. 2010. 78f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecossistemas) - Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha - ES.

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

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

FERNANDES, M. S. **Determinação de parâmetros oxidativos e bioquímicos em indivíduos multitransfundidos**. 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana – RS.

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

FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; ALMEIDA, L. M. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 651-660, 2001.

GLASER, M.; DIELE, K. Asymmetric outcomes: assessing central aspects of the biological, economic and social sustainability of a mangrove crab fishery, *Ucides*

cordatus (Ocypodidae), in North Brazil. **Ecological Economics**, v. 49, n. 3, p. 361–373, 2004.

GOMES, M. V. T.; SATO, Y. Avaliação da contaminação por metais pesados em peixes do rio São Francisco à jusante da represa de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.6, n.1, p.24-30, 2011.

GOULART, M. D. C.; CALLISTO, M. Bioindicadores de Qualidade de Água como Ferramenta em Estudos de Impacto Ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n. 2, p. 153–164, 2003.

GRAY, J. S. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, n. 1-12, p. 46-52, 2002.

KAPPEL, R. F. et al. Os Portos Brasileiros Frente à Ciência , Tecnologia e Inovação: **CGEE, III Conferência Nacional de C, T & I**, p. 1–31, 2005.

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

KEHRIG, H. A.; MALM, O; PALERMO, E. F. A. SEIXAS, T. G.; BAÊTA, A. P.; MOREIRA, I. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 377-384, 2011.

KRISTENSEN, E. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. **Journal of Sea Research**, v. 59, n. 1–2, p. 30–43, 2008.

MACEDO, L. A. A. Controle ambiental do Golfão Maranhense. **Revista DAE**, v. 49, n. 155, p. 91–97, 1989.

MAHARAJAN, A. et al. Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 72, p. 104–112, 2015.

MARANHÃO. **Porto do Itaqui registra recorde de movimentação de fertilizantes**. Disponível em: <[http://www.ma.gov.br/agenciadenoticias/desenvolvimento/porto-do-](http://www.ma.gov.br/agenciadenoticias/desenvolvimento/porto-do-itaqui)

itaqui-registra-recorde-de-movimentacao-de-fertilizantes>. Acesso em: 12 jan. 2018.

MARTINEZ, C. B. R.; CÓLUS, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Org.) **A bacia do rio Tibagi**. Londrina: MC Gráfica, 2002. cap. 29, p. 551 – 577.

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

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

MORAES, D. S. L; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

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

OLIVEIRA, J. B.; EVÊNCIO-NETO, J.; BARATELLA-EVÊNCIO, L. Histological and immunohistochemical findings of the action of botulinum toxin in salivary gland: systematic review. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 77, n. 2, p. 251-259, 2016.

PEROTE, S. M. O. **Estrutura populacional da floresta de mangue e do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), na Reserva Extrativista Marinha “Mãe Grande” de Curuçá, Curuçá - PA**. 2010. 90f. Dissertação (Mestrado em Recursos Biológicos da Zona Costeira Amazonica - Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Bragança - PA.

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

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

PINHEIRO, M. A. A.; FISCARELLI, A. G. **Manual de apoio à fiscalização do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*)**. UNESP/CEPSUL/IBAMA, 43 p., Itajaí, 2001.

PINHEIRO, M. A. A.; RODRIGUES, A. M. T. Crustáceos sobre-explotados e o Plano Nacional de Gestão dos caranguejos uçá (*Ucides cordatus*), guaiamú (*Cardisoma guanhumi*) e do siri-azul (*Callinectes sapidus*): uma estratégia para evitar que passem ao “status” de ameaçados de extinção. **Revista CEPSUL Biodiversidade e Conservação Marinha**, v. 2, n. 1, p. 50–57, 2011.

PINHEIRO, M. A. A.; SILVA, P. P. G.; DUARTE, L. F. A.; Almeida, A. A.; ZANOTTO, F. P. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 81, p. 114–121, 2012.

REBELO, M. DE F. et al. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 125, n. 2, p. 157–164, 2000.

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

SCHORIES, D. et al. The keystone role of leaf-removing crabs in mangrove forests of North Brazil. **Wetlands Ecology and Management**, v. 11, n. 4, p. 243–255, 2003.

SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores da contaminação aquática**. 2004. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR.

SILVA, U. A. T. **Cultivos Experimentais de Caranguejo-Uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763)**. 2002. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) -

Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR.

SILVA, O. R. DA; GOMES, M. B. M. Impactos das atividades portuárias no sistema estuarino de Santos. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**, v. 2, n. 2, p. 18, 2012.

SODRÉ, F. F.; LENZI, E.; COSTA, A. C. S. Utilização de modelos físico-químicos de adsorção no estudo do comportamento do cobre em solos argilosos. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 324-330, 2001.

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

STEGEMAN, J. J.; BROUWER, M.; DI GIULIO, R. T.; FÖRLIN, L.; FOWLER, B. A.; SANDERS, B. M.; VAN VELD, P. A. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: HUGGET, R. J.; KIMERLE, R. A.; MEHRLE JR, P. M.; BERGMAN, H. L. (Org.) **Biomarkers Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. p. 235-335.

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

VASCONCELOS, J. L. A. **Biologia do caranguejo-uçá e perfis sócio-econômico e etnobiológico dos coletores em duas áreas de manguezais em Ilhéus-BA**. 2008. 103f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus - BA.

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

WELSH, J. E.; KING, P. A.; MACCARTHY, E. Pathological and physiological effects of nicking on brown crab (*Cancer pagurus*) in the Irish crustacean fishery. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, n. 1, p. 49-56, 2013.

ANEXOS

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA ENVIRONMENTAL MONITORING AND ASSESSMENT

Environmental Monitoring and Assessment

Editor-in-Chief: G. B. **Wiersma**

ISSN: 0167-6369 (print version)

ISSN: 1573-2959 (electronic version)

Instructions for Authors

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript Submission

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

Permissions

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

Online Submission

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

TITLE PAGE

Title Page

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

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

The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author

If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

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

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

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

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

Use the equation editor or MathType for equations.

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

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

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

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page.

The names of funding organizations should be written in full.

ADDITIONAL REQUEST TEXT

- All manuscript files should be formatted to contain line numbers.

- Quotations of more than 40 words should be set off clearly, either by indenting the left-hand margin or by using a smaller typeface. Use double quotation marks for direct quotations and single quotation marks for quotations within quotations and for words or phrases used in a special sense.

ADDITIONAL INSTRUCTIONS HEADINGS

Level one headers: typed in bold, lowercase except for first letter of first word, left justified, followed by one blank line

Level two headers: typed in normal font, lowercase except for first letter of first word, left justified, followed by one blank line

Do NOT number headings and subheadings.

REFERENCES

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples: Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

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

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

Reference list

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

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

Journal article

Harris, M., Karper, E., Stacks, G., Hoffman, D., DeNiro, R., Cruz, P., et al. (2001). Writing labs and the Hollywood connection. *Journal of Film Writing*, 44(3), 213–245.

Article by DOI

Slifka, M. K., & Whitton, J. L. (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *Journal of Molecular Medicine*, <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

Book

Calfee, R. C., & Valencia, R. R. (1991). *APA guide to preparing manuscripts for journal publication*. Washington, DC: American Psychological Association.

Book chapter

O'Neil, J. M., & Egan, J. (1992). Men's and women's gender role journeys: Metaphor for healing, transition, and transformation. In B. R. Wainrib (Ed.), *Gender issues across the life cycle* (pp. 107–123). New York: Springer.

Online document

Abou-Allaban, Y., Dell, M. L., Greenberg, W., Lomax, J., Peteet, J., Torres, M., & Cowell, V. (2006). Religious/spiritual commitments and psychiatric practice. Resource document. American Psychiatric Association. http://www.psych.org/edu/other_res/lib_archives/archives/200604.pdf. Accessed 25 June 2007.

Journal names and book titles should be italicized.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of intext citations and reference list.

TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

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

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table. Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

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

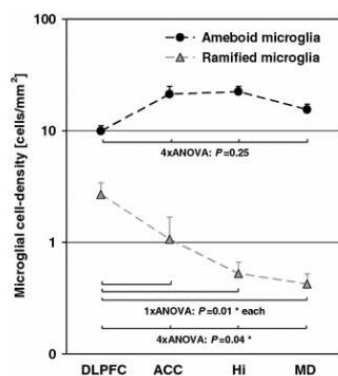
ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork. For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



Definition: Black and white graphic with no shading.

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

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

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

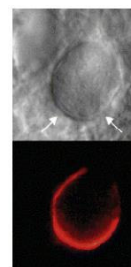
Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

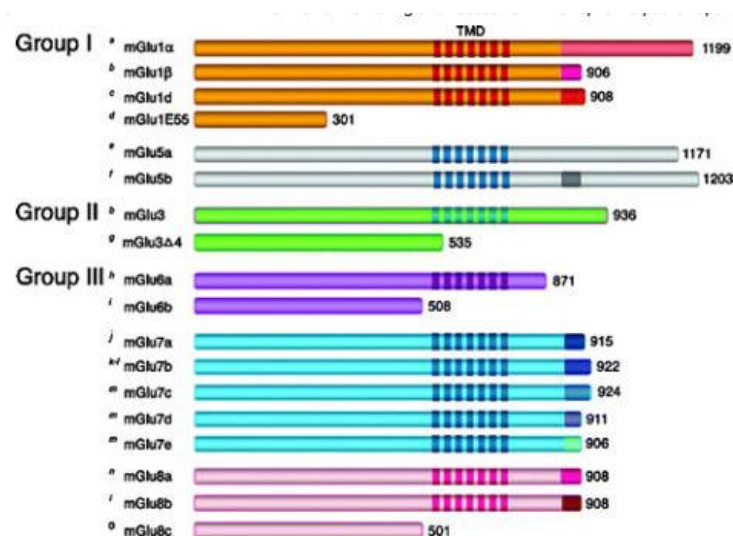
Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

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

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art



Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

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

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

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

Figure Lettering

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

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

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

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

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

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

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file. Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type. No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption. Identify all elements found in the figure in the figure

caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs. Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible. When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

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

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

Permissions

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

Accessibility

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

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

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

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

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

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

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

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats. Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

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

Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

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

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

Specialized Formats

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

Collecting Multiple Files

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

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables. Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

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

Processing of supplementary files

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

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that. The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

ENGLISH LANGUAGE EDITING

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

Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.

Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.

English language tutorial

Nature Research Editing Service

American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted. If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

AFTER ACCEPTANCE

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

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

OPEN CHOICE

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

Open Choice

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Find more about the license agreement

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA MARINE POLLUTION BULLETIN

Marine Pollution Bulletin

Editors-in-Chief: Francois Galgani, Pat Hutchings, Victor Quintino

ISSN: 0025-326X

Guide for Authors

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article. **To find out more, please visit the Preparation section below.**



Introduction

Types of paper

Research Reports; Shorter Research Notes; Baseline Records of Contamination Levels; Viewpoint Articles; Letters to the Editor; Focus Articles (short reviews of 1500 words); Reviews.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).



Before You Begin

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of

Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 3400**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#). This journal has an embargo period of 24 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language Services

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at service.elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Page charges

Marine Pollution Bulletin has no page charges.



Preparation

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections.

Abstract

Abstracts should not exceed 150 words.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Where relevant these should include the main species concerned, the geographical area and the contaminant. Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Please note that the instructions related to Abstract and Graphical abstract still apply to all new submissions.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of one independent expert reviewer to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

LaTeX

You are recommended to use the Elsevier article class [elsarticle.cls](#) to prepare your manuscript

and [BibTeX](#) to generate your bibliography. Our [LaTeX site](#) has detailed submission instructions, templates and other information.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site. Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/marine-pollution-bulletin>. When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the

video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to *Mendeley Data*. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

MethodsX

You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the MethodsX website. Please use [this template](#) to prepare your MethodsX article.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

ARTICLE ENRICHMENTS

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Google Maps and KML files

KML (Keyhole Markup Language) files (optional): You can enrich your online articles by providing KML or KMZ files which will be visualized using Google maps. The KML or KMZ files can be uploaded in our online submission system. KML is an XML schema for expressing geographic annotation and visualization within Internet-based Earth browsers. Elsevier will generate Google Maps from the submitted KML files and include these in the article when published online. Submitted KML files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. [More information](#).

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. [Full instructions](#).



After Acceptance

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to

directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.



Author Inquiries

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#)