



*Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.72, n.4, p.1413-1423, 2020

## **Biomarcadores enzimáticos e histológicos em brânquias de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) indicativos de impactos ambientais em uma região portuária do nordeste do Brasil**

[*Enzymatic and histological biomarkers in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) gills indicative of environmental impacts in a port region of northeastern Brazil*]

W.B. Jesus<sup>1</sup>, S.H. Soares<sup>1</sup>, D.B. Pinheiro-Sousa<sup>1</sup>, T.S.O.M. Andrade<sup>1</sup>, S.R.S. Oliveira<sup>1</sup>,  
F.S. Santos<sup>1</sup>, D.M.S. Santos<sup>2</sup>, R.N.F. Carvalho-Neta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aluno de pós-graduação - Universidade Estadual do Maranhão - São Luís, MA

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Maranhão - São Luís, MA

### **RESUMO**

Objetivou-se neste estudo analisar biomarcadores histológicos e bioquímicos em brânquias de *U. cordatus* indicativos de impactos na Baía de São Marcos. Caranguejos foram coletados em quatro áreas na Baía de São Marcos: A1= Ilha dos Caranguejos (com baixo impacto); A2= Coqueiro, A3= Porto Grande, A4= Cajueiro (áreas potencialmente impactadas). Mediram-se os dados biométricos de cada exemplar de caranguejo. Amostras de brânquias foram submetidas à técnica histológica padrão e homogeneizadas em tampão fosfato, e o sobrenadante foi utilizado para análise das enzimas glutationa-S-transferase (GST) e catalase (CAT). A biometria indicou que os caranguejos de A1 são significativamente ( $P<0,05$ ) maiores e mais pesados do que os caranguejos das áreas A2, A3 e A4. As alterações branquiais (rompimento das células pilastras, deformação do canal marginal, deslocamento da cutícula e necrose) foram significativamente ( $P<0,05$ ) mais frequentes em caranguejos de A2, A3 e A4 do que nos caranguejos de A1. As atividades enzimáticas da GST e CAT nos caranguejos apresentaram diferença significativa ( $P<0,05$ ) entre as áreas de coletas, com padrão similar ao observado para as alterações branquiais. Os biomarcadores analisados mostraram que os caranguejos estão sob diferentes níveis de impactos ( $A4>A3>A2>A1$ ) ao longo da Baía de São Marcos.

Palavras-chave: alterações, catalase, ecossistema, glutathione-S-transferase, xenobióticos

### **ABSTRACT**

*The objective of this study was to analyze histological and biochemical biomarkers in *U. cordatus* gills indicative of impacts in São Marcos Bay. Crabs were collected from four areas in São Marcos Bay: A1=Ilha dos Caranguejos (with low impact); A2=Coqueiro, A3=Porto Grande, A4=Cajueiro (potentially impacted areas). The biometric data of each specimen was measured. Gill samples were submitted to standard histological technique and homogenized in phosphate buffer, and the supernatant was used for analysis of glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) enzyme activity. Biometric data indicated that crabs found in A1 are significantly ( $P<0.05$ ) larger and heavier than crabs found in A2, A3 and A4 areas. Gill alterations (rupture of pilaster cells, Dilation of the marginal channel, Cuticle Rupture and necrosis) were significantly ( $P<0.05$ ) more frequent in the crabs in A2, A3 and A4 than crabs in A1. The enzymatic activities of GST and CAT showed significant difference ( $P<0.05$ ) between the sampling areas, similar to that observed for gill alterations. The biomarkers analyzed showed that the crabs are under different impact levels ( $A4> A3> A2> A1$ ) along the São Marcos Bay.*

Keywords: alterations, catalase, ecosystem, glutathione s-transferase, xenobiotics

---

Recebido em 16 de agosto de 2019

Aceito em 11 de dezembro de 2019

E-mail: wandadossantosbatista@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O ecossistema manguezal, inserido na Baía de São Marcos, no Maranhão, é alvo da contaminação química gerada por substâncias tóxicas oriundas de fontes difusas e pontuais liberadas no meio ambiente (Oliveira *et al.*, 2019). Nessa baía, localiza-se o segundo complexo portuário (Complexo Portuário da Ilha de São Luís-MA) que mais movimentam cargas (metais diversos, petróleo, fertilizantes, grãos) no Brasil (Carvalho-Neta *et al.*, 2012). Estudos anteriores no Complexo Portuário de São Luís (Furtado, 2007; Sousa, 2009; Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Rocha, 2017; Oliveira *et al.*, 2019) apontam que essa região está sujeita aos impactos antrópicos oriundos das atividades portuária, doméstica e agrícola, que geram poluentes químicos, tais como os metais pesados, benzeno, fenóis totais, tributilestano (TBT) e bifenilas policloradas (PCB). Essas e outras pesquisas têm divulgado que metais pesados e compostos orgânicos têm provocado impactos (por exemplo, na água, no sedimento e na biota) na Baía de São Marcos, com efeitos significativos, principalmente sobre a biota aquática, especialmente para as espécies típicas do ecossistema manguezal (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2019).

*Ucides cordatus* é um caranguejo caracterizado como uma espécie biomonitora da qualidade ambiental de manguezais brasileiros (Pinheiro *et al.*, 2012; Duarte *et al.*, 2016). Esse caranguejo, por ser semiterrestre, está sujeito a bioacumular metais pesados com facilidade em seus tecidos (Pinheiro *et al.*, 2012), pois entra em contato direto com o sedimento contaminado. Dessa forma, essa espécie é utilizada em vários estudos como uma espécie biomonitora em ambientes impactados na costa do Brasil (Almeida Duarte *et al.*, 2017; Carvalho-Neta *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, estudos em campo e em laboratório, com biomarcadores em crustáceos, vêm se destacando em nível mundial (Maharajan *et al.*, 2015; Negro e Collins, 2017; Jerome *et al.*, 2017; Abreu *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2019). Os biomarcadores são metodologias de baixo custo, que resultam em diagnósticos rápidos e precisos, além de expressarem os efeitos dos xenobióticos em diferentes órgãos do animal (Abreu *et al.*, 2018). Dessa forma, análises com a enzima

antioxidante catalase (CAT) e a enzima de biotransformação glutationa-S-transferase (GST) têm sido frequentemente utilizadas em estudos com biomarcadores bioquímicos para avaliação dos efeitos de xenobióticos em tecidos de organismos aquáticos da costa do Maranhão (Carvalho-Neta *et al.*, 2012, 2019; Oliveira *et al.*, 2019).

Muitos órgãos de organismos aquáticos (brânquias, fígados, hepatopâncreas, rins, hemolinfa, sangue, músculos) podem ser utilizados nas análises de biomarcadores (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Almeida Duarte *et al.*, 2017). Estudos prévios realizados por pesquisadores do grupo do presente trabalho têm mostrado níveis alterados de algumas enzimas em hepatopâncreas de *U. cordatus* na Região Portuária de São Luís (Carvalho-Neta *et al.*, 2019; Oliveira, *et al.*, 2019). Todavia, ainda não são conhecidos estudos com enzimas CAT e GST em brânquias de *U. cordatus* em um gradiente de áreas sob influência portuária na Baía de São Marcos (Maranhão, Brasil). Tais análises podem ser significativas na avaliação da sanidade desse caranguejo e na avaliação da qualidade ambiental dos manguezais (Tagliari *et al.*, 2004). Nesse cenário, objetivou-se analisar biomarcadores histológicos e bioquímicos em brânquias de *U. cordatus* indicativos de impactos na Baía de São Marcos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar os efeitos dos xenobióticos nos espécimes, foram escolhidas quatro áreas amostrais na Baía de São Marcos (Fig. 1), sendo: A1= Ilha dos Caranguejos (02°50'26" S e 44° 30'61" W), considerada neste estudo como área de referência (com baixo impacto) por fazer parte de uma Área de Proteção Ambiental (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013); A2= Coqueiro (02°40',21" S e 44° 21'65" W), A3= Porto Grande (02° 45'77" S e 44° 21'28" W), A4= Cajueiro (02° 36'93" S e 44° 21'52"W), consideradas neste estudo como um provável gradiente de áreas potencialmente impactadas, por estarem inseridas ao longo do Complexo Portuário de São Luís e serem classificadas, por alguns autores, como áreas impactadas (Carvalho-Neta *et al.*, 2012, 2019; Oliveira *et al.*, 2019). Esses impactos foram registrados em artigos científicos, teses de doutorado e dissertações de mestrado que caracterizam a Baía

de São Marcos como uma região que vem recebendo impactos decorrentes de contaminantes químicos oriundos de atividades humanas (Tab. 1).

A amostragem nas quatro áreas de estudo ocorreu nos períodos chuvoso e de estiagem (março-2018/chuvoso e julho-2018/estiagem). Foi capturado um total de 80 caranguejos-uçá (*U. cordatus*) machos (10 de cada área, 40 indivíduos por período sazonal - chuvoso e estiagem). Para fins de padronização, somente indivíduos adultos foram analisados neste estudo (Santos *et al.*, 2019). A autorização legal para execução da pesquisa foi obtida junto à Sema/Sebap (Número de autorização 25/2018, número de processo 194556/2018), que emitiu parecer favorável à coleta dos exemplares de caranguejos. Paralelamente à captura dos caranguejos, foram registrados os parâmetros físico-químicos da água superficial (pH, O<sub>2</sub> dissolvido em ppm, temperatura °C, salinidade em ppm e condutividade) nas quatro áreas de estudo (A1, A2, A3 e A4), nos períodos chuvoso e de estiagem, utilizando-se o equipamento multiparâmetro de marca AK88.

Mediram-se, ainda no campo, com um paquímetro de precisão 0,1 (cm), os dados biométricos dos caranguejos, tais como a largura do cefalotórax (LC) e o comprimento do cefalotórax (CC), largura e comprimento do própodo quelar (LPQ, CPQ) e comprimento do dedo móvel (CDM). O peso total (PT) de cada indivíduo foi registrado com uma balança digital de precisão 0,1g (Pinheiro *et al.*, 2012). Amostras de brânquias foram desidratadas em série crescente de etanol; a diafanização dos tecidos foi feita em xilol, com impregnação e inclusão em parafina; cortes transversais, de aproximadamente 5µm de espessura, foram corados com hematoxilina e eosina (HE) (Arockia Vasanthi *et al.*, 2014). As alterações foram imageadas com auxílio de microscópio AXIOSKOP – ZEIS. Uma quantificação aproximada dos efeitos histopatológicos foi realizada conforme Freitas Rebelo *et al.* (2000); Arockia Vasanthi *et al.* (2014); Maharajan *et al.* (2015); Negro e Collins (2017), por meio da contagem do número de lamelas afetadas por cada patologia, em relação ao número total de lamelas em cada brânquia.

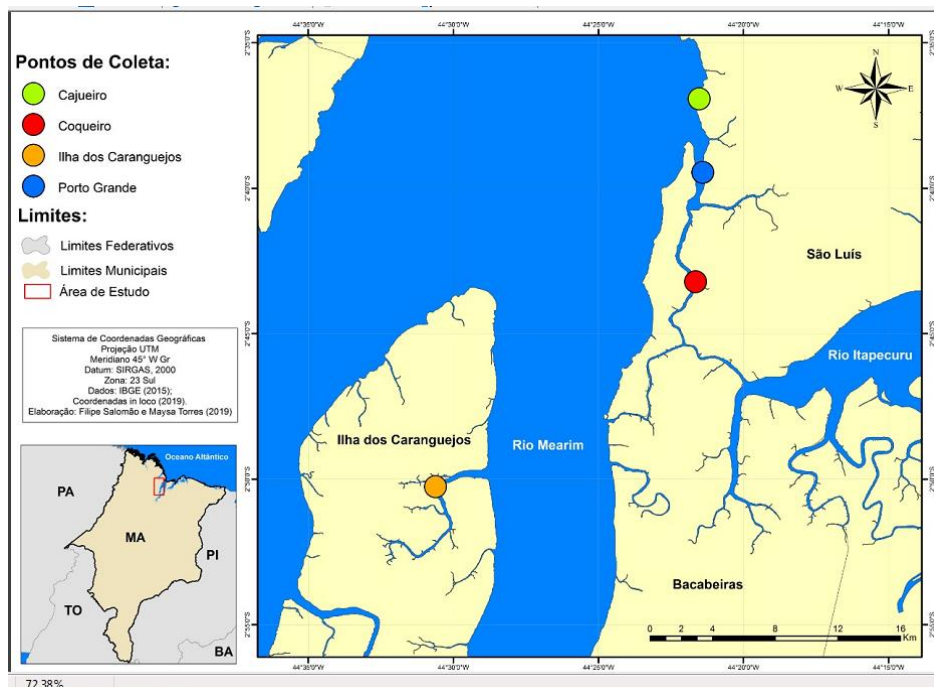


Figura 1. Mapa de localização das quatro áreas amostrais de estudo inseridas na Baía de São Marcos, Maranhão. Área de Proteção Ambiental – Ilha dos Caranguejos – A1 (com baixo impacto), Região Portuária – Coqueiro (A2), Porto Grande (A3) Cajueiro (A4), (áreas potencialmente impactadas).

Tabela 1. Concentrações de metais pesados, bifenilas policloradas (PCB), benzeno, fenóis totais, tributilestanho (TBT), nitrito/nitrato, silicato e fosfato analisados na Baía de São Marcos – São Luís, Maranhão, e áreas de referências

Elementos	Localização	Tipo de amostra	Intervalos	Referências
Cu, Pb, Zn, Ni e Co	Baía de São Marcos/MA entre as coordenadas 26°02' - 26°28'S e 48°28' - 48°50'W, onde está localizado o Complexo Portuário de São Luís	Água	Cu, 0,016 a 0,054 mg. L <sup>-1</sup> ; Ni, 0,0480 a 0,0877 mg. L <sup>-1</sup> ; Co, 0,0061 a 0,016 mg. L <sup>-1</sup> ; Pb, 0,0085 a 0,093 mg. L <sup>-1</sup> ; Zn, 0,0032 a 0,0088 mg. L <sup>-1</sup> .	Furtado, 2007
Nitrito/nitrato, silicato e fosfato em mg. L <sup>-1</sup>	Baía de São Marcos/MA P1 (Ponta da Madeira), P2 (Itaqui e Ponta da Madeira) e P3 (a jusante do Porto do Itaqui).	Água	Nitrito/nitrato mg. L <sup>-1</sup> (2,59; 5,07; 4,40; 3,98; 1,36; 4,62; 2,28; 0,80; 2,94; 2,27); silicato mg. L <sup>-1</sup> (9,44; 9,91; 15,62; 7,32; 15,48; 8,98; 12,43; 13,85; 5,23; 15,48); e fosfato mg. L <sup>-1</sup> (15,63; 31,16; 20,22; 12,52; 28,68; 18,82; 15,13; 20,22; 12,52; 17,63);	Sousa, 2009
Cu, Pb, Zn, Cd, Ni, Fe, Al e Mn	Baía de São Marcos/MA P1 (Ponta da Madeira), P2 (Itaqui e Ponta da Madeira) e P3 (a jusante do Porto do Itaqui)	Água	Ferro, 5,41 mg. L <sup>-1</sup> e 7,82 mg. L <sup>-1</sup> (chuvoso) e 1,13 mg. L <sup>-1</sup> e 21,13 mg. L <sup>-1</sup> para ferro e alumínio (estiagem). Manganês, as concentrações variaram entre 0,02 e 0,06 mg. L <sup>-1</sup> em período chuvoso. Alumínio foi o que apresentou os maiores teores (36,32 mg. L <sup>-1</sup> ).	
Ni, Cr, Pb, Cu, Fe, Cd, Al e Mn	Baía de São Marcos/MA P1 (Ponta da Madeira), P2 (Itaqui e Ponta da Madeira) e P3 (a jusante do Porto do Itaqui)	Sedimento	Fe (0,010) e Al (4. 10-3) com maiores concentrações.	
Ni, Cr, Pb, Cu, Fe, Cd, Al e Mn	Baía de São Marcos/MA P1 (Ponta da Madeira), P2 (Itaqui e Ponta da Madeira) e P3 (a jusante do Porto do Itaqui)	Peixe	Os valores médios de metais-traço detectados nos tecidos dos peixes foram de: 1,2 mg kg <sup>-1</sup> para Cu, 164,65 mg kg <sup>-1</sup> para Zn, 25,38 para Fe, 7,32 mg kg <sup>-1</sup> para Al e 2,2 mg kg <sup>-1</sup> para Mn. Fe e Zn apresentaram as maiores concentrações nos tecidos analisados.	
Al, Cd, Pb, Cr, Fe, Hg), benzeno, fenóis totais, tributilestanho (TBT) e bifenilos policlorados (PCB)	Baía de São Marcos/MA – Região Portuária de São Luís (02°43'14"S, 44°23'35"W) e Ilha dos Caranguejos – Cajapió(02°49'06"S, 44°29'05"W)	Água e sedimento	Concentrações maiores para a área portuária em relação à de referência. E estavam acima dos limites máximos prescritos pela legislação federal brasileira na Resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente do Brasil.	Carvalho-Neta et al, 2012
Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn, Al,	Baía de São Marcos-São Luís-MA e Raposa -MA	Sedimento e tecido de caranguejo	Os metais que mais se acumularam nos hepatopâncreas dos caranguejos foram Fe>Zn>Cu>Mn>Ni>Al>Ba. Concentração total (somatório) de metais nos caranguejos da AI (102,73±47,74 µg/g).	Rocha, 2017
As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn	Baía de São Marcos-São Luís – MA e Raposa - MA	Sedimento	Concentrações maiores para a área portuária em relação à de referência. E estavam acima dos limites máximos prescritos pela legislação federal brasileira na Resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente do Brasil.	Oliveira et al., 2019

Cada amostra de brânquia foi pesada (1g), homogeneizada e centrifugada em tampão fosfato 1:4 vol (Tris-HCl 50mM, KCl 0,15M, pH 7,4). O sobrenadante foi utilizado para análises das atividades enzimáticas da GST e da catalase. A atividade da GST foi determinada pelo aumento da absorvância a 340nm, a 25°C, conforme Keen *et al.* (1976) e modificada por Camargo e Martinez (2006), utilizando-se glutationa (GSH) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substratos. A atividade de GST foi expressa como micromoles por minuto por miligrama de proteína ( $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg prot}$ ). A concentração de proteína do sobrenadante foi determinada de acordo com o método modificado do *kit* coloração comercial do biureto, utilizando-se albumina de soro bovino como padrão (Santos *et al.*, 2019). A atividade da CAT foi avaliada, a 240nm, pela taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), conforme descrito por Tagliari *et al.* (2004) e Ventura *et al.* (2002), sendo expressa por U/mg prot.

Os dados biométricos dos caranguejos capturados nas quatro áreas de estudos estão representados como média $\pm$ desvio-padrão. Os pressupostos de normalidade foram testados (teste de Shapiro-Wilk), e foram verificadas a homocedasticidade (teste de Levene) nos dados de biometria, alterações branquiais e atividade de GST e CAT, para posterior aplicação da análise de variância (ANOVA).

O nível de significância foi de  $P < 0,05$ . Quando houve diferença significativa, aplicou-se o teste de Tukey para saber quais dados diferiram. Em relação às análises dos biomarcadores histológicos, estes também passaram por uma análise multivariada de Bray-Curtis, para verificação de dissimilaridade entre as alterações branquiais encontradas por área.

## RESULTADOS

Os valores dos parâmetros abióticos estão representados na Tab. 2. A salinidade foi menor em A3 (11,9ppm) e maior em A4 (21,0ppm) para o período chuvoso ( $P < 0,05$ ), e menor em A1 (16,5ppm) e maior em A4 (25,0ppm) na estiagem ( $P < 0,05$ ). O oxigênio dissolvido ( $\text{O}_2$ ) apresentou valores entre 5,3 e 8,6ppm nos dois períodos entre as áreas. O pH mais elevado foi registrado em A4 (9,8) no período de estiagem ( $P < 0,05$ ). A temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) foi constante em todas as áreas nos dois períodos do ano.

As médias e o desvio-padrão das medidas biométricas de *U. cordatus* coletados nas quatro áreas, em dois períodos (chuvoso e estiagem), estão apresentados na Tab. 3. Os caranguejos da área A1 (com baixo impacto) apresentaram pesos e tamanhos maiores que os caranguejos das áreas potencialmente impactadas (A2, A3 e A4) nos dois períodos (chuvoso e de estiagem) ( $P < 0,05$ ). O período chuvoso indicou os maiores valores de pesos e tamanhos dos caranguejos para a área A1 em comparação com as áreas potencialmente impactadas ( $P < 0,05$ ).

Tabela 2. Dados abióticos das quatro áreas de coleta de *U. cordatus* coletados nos períodos de estiagem e chuvoso na Baía de São Marcos, Maranhão

Parâmetros	Chuvoso				Estiagem				Conama/ Valores
	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	
pH*	7,4	7,5	8	8	7,3	7,5	7,8	9,8 <sup>a</sup>	5-9 <sup>b</sup>
Oxigênio dissolvido	5,3	5,8	8,5	8,6	7,2	6,7	5,7	8,3	3>mg/L <sup>b</sup>
$\text{O}_2$ (ppm)*									
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )*	29,5	28,5	29,1	28,9	29,1	29,9	29,2	29,2	28-32 $^{\circ}\text{C}$ <sup>b</sup>
Salinidade (ppm)*	17,1	16,0	11,9 <sup>a</sup>	21,0 <sup>a</sup>	16,5 <sup>a</sup>	20,4	22,7	25,0 <sup>a</sup>	0,5- 30‰
Condutividade ( $\text{mS.cm}^{-1}$ )*	32,1	25,1	24	41,8	26,1	31,7	35,0	38,1	

ppm=partes por milhão; mg: miligramas; L= litros; b= Resolução Conama nº357/2005. Asterisco (\*) – diferença significativa entre as médias por sazonalidade (período estiagem); (a) indica diferença significativa entre as áreas.

Tabela 3. Média e desvio-padrão dos dados biométricos de *U. cordatus* capturados em quatro áreas na Baía de São Marcos, Maranhão, em períodos chuvoso e de estiagem

Parâmetros	Chuvoso				Estiagem			
	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4
PT	172,2±26,76*	117,2±19,18	115,9±22,69	125,1±25,12	138,6±25,5 *	125,8±10,34	105,9±19,15	126,7±34,33
LC	7,47±0,27*a	6,45±0,35	6,45±0,41	6,56±0,79	6,73±0,28*b	6,56±0,26	6,32±0,27	6,56±0,5
CC	5,53±0,39*	4,93±0,24	5,03±0,48	4,94±0,51	5,2±0,29*	5,01±0,17	4,82±0,24	4,95±0,28
CPQ	6,88±0,64**a	5,66±0,65 <sup>a</sup>	5,03±0,75 <sup>a</sup>	5,82±1,26 <sup>a</sup>	5,78±0,59* <sup>b</sup>	5,49±0,68 <sup>b</sup>	4,94±0,8 <sup>b</sup>	5,29±1,19 <sup>b</sup>
LPQ	2,97±0,27**a	2,53±0,2 <sup>a</sup>	2,34±0,3**a	2,6±0,41 <sup>a</sup>	2,48±0,38* <sup>b</sup>	2,45±0,41 <sup>b</sup>	2,26±0,32* <sup>b</sup>	2,41±0,36 <sup>b</sup>
CDM	3,97±0,54**a	3,12±0,4 <sup>a</sup>	2,69±0,42**a	3,59±1,32 <sup>a</sup>	2,64±0,48* <sup>b</sup>	2,74±0,54 <sup>b</sup>	2,49±0,61* <sup>b</sup>	2,75±0,66 <sup>b</sup>

PT=peso total; LC= largura da carapaça; CC= comprimento da carapaça; CPQ= comprimento do própodo quelar; LPQ= largura do própodo quelar; CDM= comprimento do dedo móvel. Asterisco (\*) indica diferenças entre as áreas de coletas, e letras diferentes (a/b) indicam diferenças sazonais.

A ocorrência de alterações branquiais identificadas em *U. cordatus* variou entre os períodos chuvoso e de estiagem (Fig. 2). As alterações branquiais nos caranguejos em A1 apresentaram destaque na estiagem (Fig. 2A), especialmente as alterações do tipo rompimento das células pilastras (RDCP), deformação do canal marginal (DCM), deslocamento da cutícula (DESLC) e ruptura da cutícula (RUPC). A alteração RDCP nas áreas portuárias (A2, A3 e

A4) foi mais frequente no período chuvoso (Fig. 2 B, C e D). A alteração necrose (NECR) também se destacou nas áreas localizadas no Complexo Portuário (A2, A3, A4), entre os períodos chuvoso e de estiagem. As alterações nas brânquias de *U. cordatus* apresentaram diferença significativa (P<0,05) somente entre os locais de coletas. Todas as áreas potencialmente impactadas diferiram significativamente (P<0,05) da área com baixo impacto (A1).

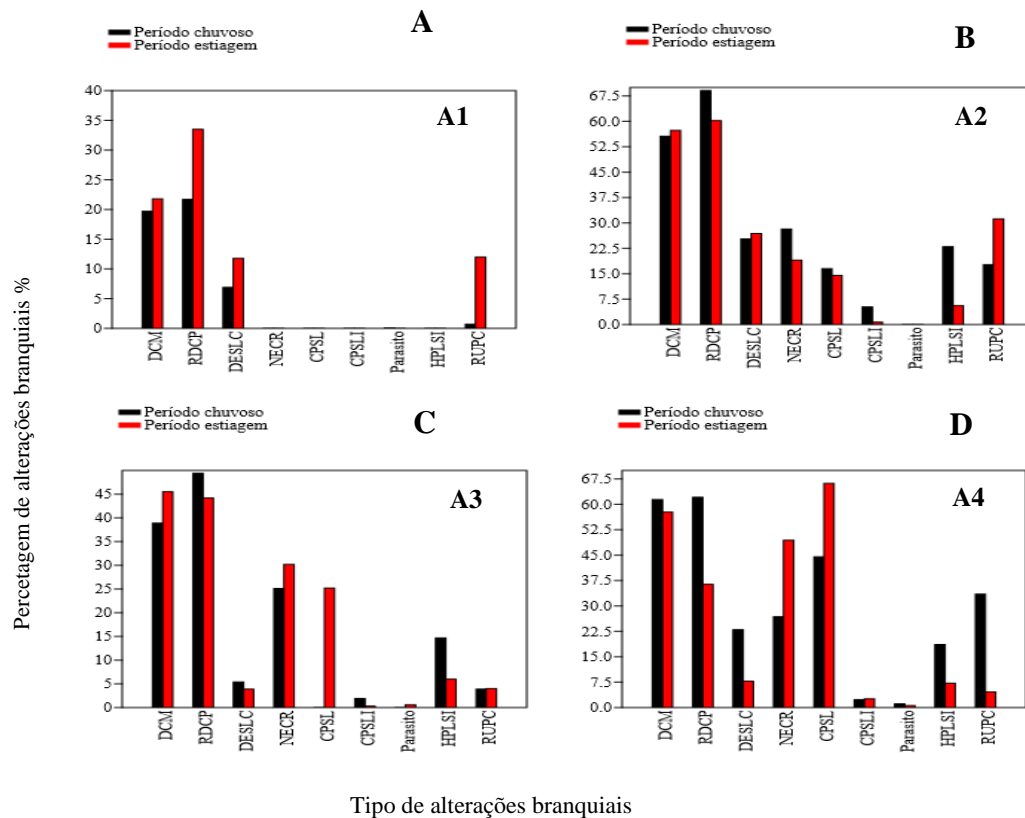


Figura 2. Percentagem de alterações branquiais em *U. cordatus*. A) Área com baixo impacto – A1; B) A2 (Coqueiro); C) A3 (Porto Grande); D) A4 (Cajueiro). A2, A3 e A4=áreas potencialmente impactadas.

A estrutura branquial normal de *U. cordatus* (Fig. 3A) é caracterizada por uma lamela primária (LP), ramificações de lamelas secundárias (LS) e, no ápice das lamelas secundárias, está o canal marginal (CM). As brânquias apresentam células pilastras (Fig. 3C) que, em sua forma, normalmente têm um

formato de T (asterisco, Fig. 3C). As lesões (Fig. 3B e 3D) do tipo rompimento das células pilastras, deformação do canal marginal, ruptura da cutícula e colapso lamelar foram alterações comumente encontradas na estrutura branquial dos crustáceos (*U. cordatus*) analisados.

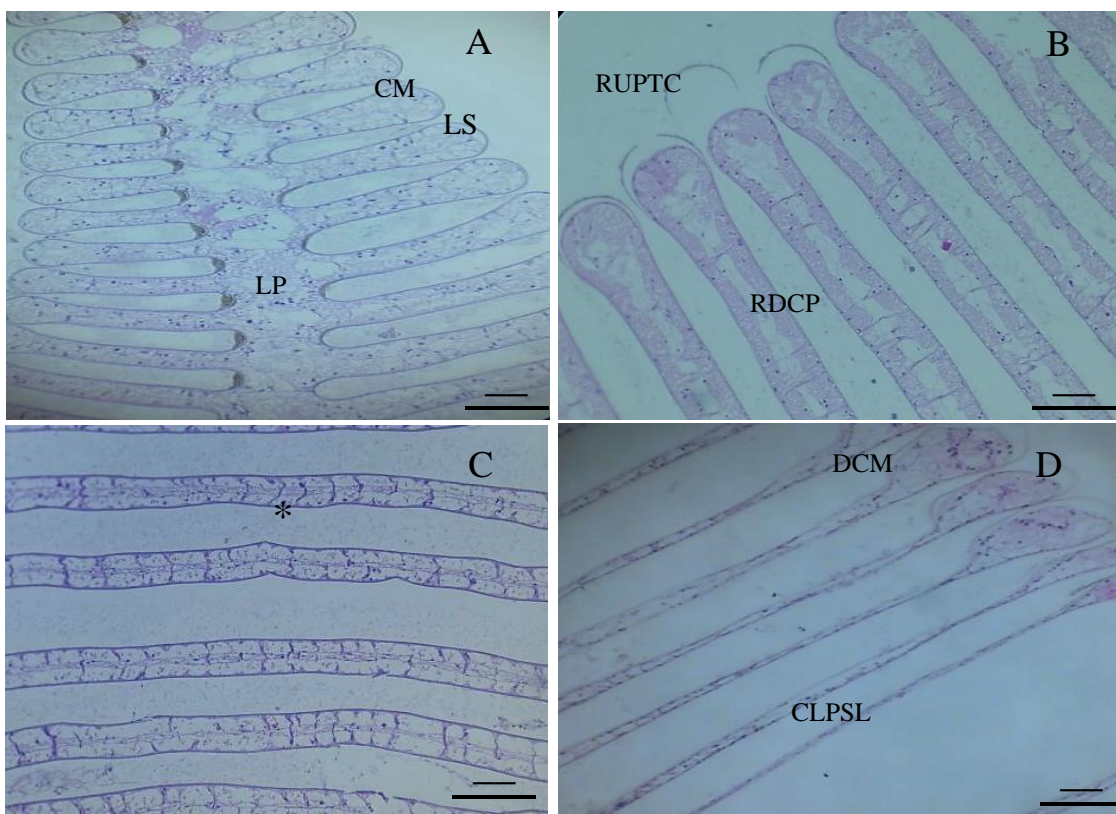


Figura 3. Estruturas branquiais em *U. cordatus* coletados nas áreas de estudo da Baía de São Marcos, Maranhão. A) Brânquia normal: CM – canal marginal; LS – lamela secundária; LP – lamela primária. B) RUPTC – rompimento da cutícula; RDCP – rompimento de células pilastras. C) asterisco preto – células pilastras normais. D) DCM – deformação do canal marginal e CLPS – colapso lamelar. Barra – 500µm.

O índice de Bray-Curtis para as alterações branquiais de *U. cordatus* entre áreas (Fig. 4 A e B) indicou um forte agrupamento (> 90%) das áreas localizadas no Complexo Portuário (áreas potencialmente impactadas), distanciando-se da Ilha dos Caranguejos (área de referência, região pouco impactada) para os dois períodos (chuvoso e estiagem). As alterações encontradas nas brânquias foram similares nas três áreas da região potencialmente impactada (A2, A3 e A4) e dissimilares em A1.

As médias da atividade de GST nas brânquias de *U. cordatus* (Fig. 5A) foram altas nas áreas A3 e A4, destacando-se na época chuvosa (em A4) em comparação com A1 e A2 ( $P < 0,05$ ). A atividade da CAT nas brânquias de caranguejo (Fig. 5B), entre os locais de coletas, apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre a atividade da CAT nas brânquias de caranguejos nos períodos chuvoso e de estiagem.

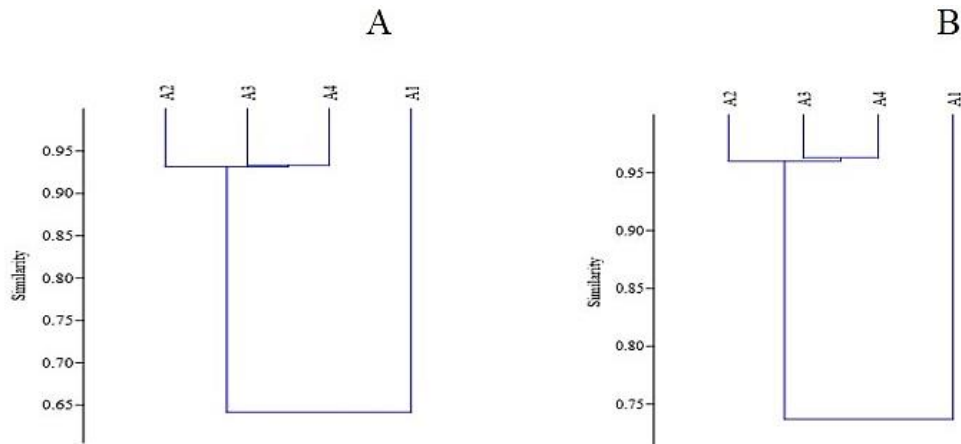


Figura 4. Índice de Bray-Curtis das alterações branquiais. A) Período chuvoso. B) Período de estiagem.

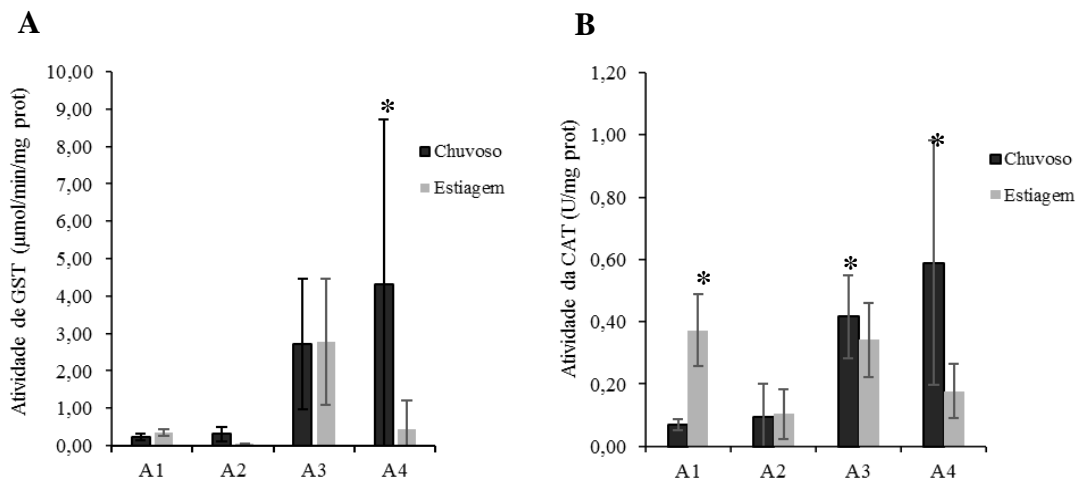


Figura 5. Atividades de GST e CAT em brânquias de *U. cordatus* entre períodos chuvoso e de estiagem, capturados na Baía de São Marcos. Asterisco (\*) indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

### DISCUSSÃO

Os dados abióticos aferidos na Baía de São Marcos estão de acordo com a Resolução Conama nº357/2005 para águas salobras classe 3 (Brasil, 2005). Os valores de temperatura e pH nessa região estão em conformidade com os encontrados por Carvalho-Neta *et al.* (2012) e por Sousa *et al.* (2013). Por outro lado, ao contrário do que foi observado por esses mesmos autores em 2012 e 2013, os valores de salinidade em 2019 foram maiores nas áreas analisadas neste estudo. A salinidade em A3 e A4 na época chuvosa foi muito diferente e pode caracterizar massas de águas diferentes atuando no mesmo estuário. Sobretudo no período chuvoso, a salinidade pode ser mais baixa, caracterizando a mistura das águas da chuva com a água do mar, o

que contribui para as diferenças nas massas d'águas nessa época do ano na região (Carvalho-Neta *et al.*, 2016).

Verificou-se que os caranguejos coletados em A1 (área com baixo impacto) foram significativamente maiores e mais pesados em relação aos das áreas potencialmente impactadas (A2, A3 e A4). Estudos recentes sobre a biometria de *U. cordatus* no estado do Maranhão e na Baía de São Marcos indicaram que os caranguejos de regiões pouco impactadas são maiores e mais pesados do que aqueles de áreas impactadas (Carvalho-Neta *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019). Vários estudos já registraram concentrações elevadas dos poluentes na Baía de São Marcos (Carvalho-Neta *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013; Carvalho-Neta *et al.*, 2019; Oliveira



*et al.*, 2019), cujos valores foram elevados na Região Portuária quando comparados com áreas de referências. Tendo isso em vista, esses poluentes (por exemplo, metais pesados, HPAs, entre outros) podem influenciar negativamente no crescimento e desenvolvimento dos organismos aquáticos na Região Portuária de São Luís.

As repostas dos biomarcadores histológicos nas brânquias de *U. cordatus* mostraram-se diferentes entre os períodos (chuvoso e de estiagem) e entre áreas. A alteração no rompimento das células pilastras em brânquias de caranguejos coletados em A1 ocorreu com maior frequência no período de estiagem. Entretanto, essa mesma alteração nas brânquias de caranguejos coletados na área do Complexo Portuário (A2, A3 e A4) ocorreu com maior frequência na época chuvosa. Essa variação pode estar relacionada com a concentração de poluentes disponíveis na época chuvosa na Região Portuária, uma vez que, para esse período, os poluentes são lixiviados com maior facilidade para o meio aquático. Todavia, na Ilha dos Caranguejos, esses mesmos poluentes não conseguem chegar rapidamente por lixiviação, mas podem chegar posteriormente pelas correntes marítimas (Carvalho-Neta *et al.*, 2016), sendo seu efeito mostrado meses depois das chuvas.

As alterações mais frequentes nas brânquias dos caranguejos coletados no Cajueiro (A4) foram deslocamento da cutícula e rompimento das células pilastras no período chuvoso e a alteração colapso lamelar foi bem representativa na estiagem. Essas alterações são consideradas graves, uma vez que estão envolvidas na perda da estrutura das células e dos tecidos (Negro e Collins, 2017). Em relação à similaridade das repostas branquiais em *U. cordatus* entre as áreas, verificou-se que as alterações dos caranguejos da Região Portuária (A2, A3 e A4) apresentaram o maior agrupamento, indicando semelhanças estruturais nas brânquias dos caranguejos. Em estudos na Baía de São Marcos com espécies de peixes, constatou-se que os valores de maior ocorrência das alterações branquiais e hepáticas foram na Região Portuária, uma vez que a Ilha dos Caranguejos apresentou peixes com poucas alterações nos órgãos analisados (Carvalho-Neta *et al.*, 2012).

Da mesma forma, Carvalho-Neta *et al.* (2019) e Oliveira *et al.* (2019) verificaram, em brânquias de caranguejos, esse mesmo padrão de variação entre áreas potencialmente impactadas e áreas de referência. Jerome *et al.* (2017) avaliaram os níveis de metais pesados em sedimento, água e tecido de animal e observaram que alguns metais, como zinco (Zn) e cobre (Cu), influenciam diretamente em repostas de estresse oxidativo, seguidas de repostas teciduais. Nos organismos aquáticos, a bioacumulação desses metais, principalmente nos crustáceos (bioacumuladores de metais), poderá ocasionar severas consequências em células e estruturas dos órgãos dos animais (Freitas Rebelo *et al.*, 2000; Duarte *et al.*, 2016), quando submetidos a concentrações elevadas de poluentes, especialmente metais.

No presente estudo, os níveis elevados de atividade de GST e CAT nas brânquias de *U. cordatus* foram mais altos para as áreas inseridas na Região Portuária, especialmente na época chuvosa. Sugere-se que os altos níveis da atividade da GST e CAT nas brânquias de caranguejos coletados podem estar relacionados com o estresse ambiental e com o esforço para biotransformar os poluentes carregados para os estuários (Carvalho-Neta *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019). Nessas áreas (A2, A3 e A4), estão instalados importantes empreendimentos (indústrias, portos públicos e terminais privados), onde são importados e exportados fertilizantes, bauxita, ferro, manganês, alumina e petróleo (Portos..., 2019). Ribeiro *et al.* (2016), ao estudarem ostras no Maranhão, encontraram níveis elevados da atividade de GST e CAT nos tecidos desses animais, principalmente nas regiões com maiores impactos por contaminantes.

Esses mesmos autores sugerem que os níveis mais elevados dessas enzimas estão relacionados ao sistema de desintoxicação dos organismos analisados, ou seja, que as ostras estavam respondendo à presença de estressores de origem antrópica no ambiente. Da mesma forma, o presente estudo sugere que os níveis mais elevados de GST e CAT estão relacionados às maiores taxas de desintoxicação de xenobióticos, uma vez que as atividades do Complexo Portuário podem gerar muitos resíduos químicos. Dessa maneira, os organismos tendem a responder aos contaminantes por meio do

aumento da atividade de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio e biotransformação de xenobióticos (Ventura et al., 2002).

### CONCLUSÕES

As brânquias de *U. cordatus* foram consideradas órgãos adequados para análises de biomarcadores, sendo úteis para estudos de biomonitoramento de regiões que apresentam variações ambientais e antrópicas, principalmente, aquelas com grandes impactos decorrentes de atividades portuárias. Esses achados podem contribuir, de forma significativa, para programas de monitoramento ambiental na Baía de São Marcos (região que apresenta o segundo porto mais importante do Brasil em termos de quantidade de cargas movimentadas). Os biomarcadores em *U. cordatus* podem ser considerados metodologias que apresentam resultados rápidos, eficazes e de baixo custo.

### AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq), pelo suporte técnico; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (Fapema), pelo apoio financeiro; ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão, pela formação acadêmica.

### REFERÊNCIAS

- ABREU, I.O.; MONTEIRO, C.; ROCHA, C.S. et al. Data for the analysis of interactive multibiomarker responses of a marine crustacean to long term exposure to aquatic contaminants. *Data Brief*, v.21, p.386394, 2018.
- ALMEIDA DUARTE, L.F.; SOUZA, C.A.; PEREIRA, C.D.S.; PINHEIRO, M.A.A. Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: in situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v.145, p.367-376, 2017.
- AROCKIA VASANTHI, L.; MURUGANANDAM, A.; REVATHI, P. et al. The application of histocytopathological biomarkers in the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) to assess heavy metal toxicity in Pulicat Lake, Chennai. *Mar. Pollut. Bull.*, v.81, p.85-93, 2014.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n.357. de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 mar. 2005. p.58-63.
- 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. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, v.21, p.61-69, 2006.
- CARVALHO NETA, R.N.F.; MOTA ANDRADE, T.S.O.; OLIVEIRA, S.R.S. et al. Biochemical and morphological responses in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) as indicators of contamination status in mangroves and port areas from northern Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v.26, p.15884-1589, 2019.
- CARVALHO NETA, R.N.F.; SOUSA, D.B.P.; REBELO, A.; ANDRADE, T.S.O.M. In situ assessment of two catfish species (pisces, Ariidae) to evaluate pollution in a harbor. INTERNATIONAL CONFERENCE OF COMPUTATIONAL METHODS IN SCIENCES AND ENGINEERING, 12., 2016, San Felice. *Proceedings...* San Felice: AIP, 2016.
- 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). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.166, p.1314-1327, 2012.
- DUARTE, L.F.A.; SOUZA, C.A.; NOBRE, C.R. et al. Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western atlantic. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v.133, p.176-187, 2016.

- FREITAS REBELO, M. RODRIGUEZ, E.M.; SANTOS, E.A.; ANSALDO, M. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. *Comparative Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, v.125, p.157-164, 2000.
- FURTADO, J.G.C. *Estudo de impactos ambientais causados por metais pesados em água do mar na baía de São Marcos: correlações e níveis de background*. 2007. 74f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Faculdade de João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.
- JEROME, F. C.; HASSAN, A.; OMONIYI-ESAN, G.O. *et al.* Metal uptake, oxidative stress and histopathological alterations in gills and hepatopancreas of *Callinectes amnicola* exposed to industrial effluent. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v.139, p.179-193, 2017.
- KEEN, J.H.; HABIG, W.H.; JAKOBY, W.B. Mechanism for the several activities of the glutathione S transferases. *J. Biol. Chem.*, v.251, p.6183-6188, 1976.
- MAHARAJAN, A.; NARAYANASAMY, V.; GANAPIRIYAK, S. Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). *J. Basic Appl. Zoo.*, v.72, p.104-112, 2015.
- NEGRO, C.L.; COLLINS, P. Histopathological effects of chlorpyrifos on the gills, hepatopancreas and gonads of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis*. Persistent effects after exposure. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v.140, p.116-122, 2017.
- OLIVEIRA, S.R.S.; BATISTA, W.D.S.; SOUSA, J.B.M. *et al.* Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. *Bull. Environ. Contamination Toxicol.*, v.102, p.802-810, 2019.
- PINHEIRO, M.A.A.; SILVA, P.P.G.; DUARTE, L.F.A. *et al.* Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucrididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v.81, p.114-121, 2012.
- PORTOS brasileiros. Brasília: ANTAQ, 2019. Disponível em: <<http://www.antaq.gov.br/Portal/pdf/Portos/Itaqui.pdf>> Acesso em: 30 out. 2019.
- RIBEIRO, E.B.; BASTOS, L.S.; GALENO, L.S. *et al.* Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, v.113, p.182-186, 2016.
- ROCHA, C.H.S. *Bioacumulação de metais e presença de metalotioneína no caranguejo-uçá, Ucides cordatus (LINNAEUS, 1763)*. 2017. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, São Luis, MA.
- SANTOS, C.C.M.; COSTA, J.F.M.; SANTOS, C.R.M., LUNDAMADO, L. Influence of seasonality on the natural modulation of oxidative stress biomarkers in mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, Ucrididae). *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, v.227, p.146-153, 2019.
- SOUSA, D.B.P.; ALMEIDA, Z.S.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil [Histology biomarkers in two estuarine catfish species from the Maranhense Coast, Brazil]. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, p.369-376, 2013.
- SOUSA, J.K.C. *Avaliação de impactos ambientais causados por metais traço em água sedimentado e material biológicos na Baía de São Marcos, São Luís-Maranhão*. 2009. 110f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.
- TAGLIARI, K.C.; CECCHINI, R.; ROCHA, J.A.; VARGAS, V.M. Mutagenicity of sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under the influence of tanneries. *Mutat. Res.*, v.561, p.101-117, 2004.
- VENTURA, E.C.; GAELZER, L.R.; ZANETTE, J. *et al.* Biochemical indicators of contaminant exposure in spotted pigfish (*Orthopristis ruber*) caught at three bays of Rio de Janeiro coast. *Mar. Environ. Res.*, v.54, p.775-779, 2002.