



OCEANOGRÁFIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS

FACULDADE DE OCEANOGRÁFIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

THAIANE SANTOS DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE E VARIAÇÃO DA SALINIDADE SOBRE
BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763)
DE UM MANGUEZAL DO NORDESTE PARAENSE**

BELÉM - PA

JANEIRO - 2016

THAIANE SANTOS DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE E DA VARIAÇÃO DA SALINIDADE SOBRE
BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763)
DE UM MANGUEZAL DO NORDESTE PARAENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Oceanografia do Instituto de Geociências, da Universidade Federal do Pará – UFPA, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia

Orientadora: Prof. Dra. Lílian Lund Amado, Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Petracco, Instituto de Geociências, UFPA.

BELÉM - PA

JANEIRO - 2016

Dados Internacionais de Catalogação de Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto de Geociências/SIBI/UFPA

Silva, Thaianne Santos da, 1992-

Influência da sazonalidade e variação da salinidade sobre biomarcadores bioquímicos em *Ucides Cordatus* (Linnaeus, 1763) de um manguezal do Nordeste Paraense / Thaianne Santos da Silva. – 2016.

52 f : il. ; 30 cm

Inclui bibliografias

Orientadora: Lillian Lund Amado

Coorientador: Marcelo Petracco

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Geociências, Faculdade de Oceanografia, Belém, 2016.

1. *Ucides cordatus* 2. Caranguejo – Pará, Nordeste. 3. Salinidade – Pará, Nordeste. I. Título.

CDD 22 ed. 595.386

THAIANE SANTOS DA SILVA

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE E DA VARIAÇÃO DA SALINIDADE SOBRE
BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763) DE
UM MANGUEZAL DO NORDESTE PARAENSE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para obtenção do grau
de Bacharel em Oceanografia do Instituto de
Geociências, da Universidade Federal do Pará.


Data de aprovação: 08/01/16

Conceito: BOM

Banca examinadora:


Prof. Lílian Lund Amado - Orientadora
Doutora em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Pará


Prof. Estanislau Luczynski - Membro
Doutor em Energia
Universidade Federal do Pará


Dr. Cleverson Santos - Membro
Doutor em Oceanografia Biológica
Museu Paraense Emílio Goeldi

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo apoio, por nunca interferirem nas minhas escolhas e pelo entendimento das ausências em virtude dos estudos.

Gratidão ainda aos amigos que se tornaram irmãos: Ju, Jess, Alysson, Denys, Ítalo, Rod. “A vida não é fase, é história, trajetória a ser vencida, em conexão com vocês. Seja lá onde for Jah ilumine e nos proteja, nos guarde nesse percurso, no curso do rio que nos leva, nesse barco que navegamos em sintonia.” Agradeço a todos pela parceria que a gente construiu até aqui. Ainda sobre os amigos-irmãos, obrigada Tamy, eu poderia escrever mil “obrigadas” que não despreveriam o agradecimento pela amizade que viveu comigo as fases mais importantes da vida. “Descobrimos que ali jamais poderíamos viver sozinhos. Então levamos mais alguém. E esta pessoa chamada de dupla, companheiro ou simplesmente amigo. Porque além de poder salvar nossa vida, passa a compartilhar tudo o que vimos e sentimos.” Gratidão aos amigos que ajudaram e deram forças nos 45 minutos do segundo tempo, Raque, Carol, e não menos importante, Fábio, uma das melhores pessoas que eu conheci na vida, amigo e companheiro, que esteve ao meu lado sempre que eu precisei e preciso. Minha melhor retribuição é poder fazer por ele metade do que ele fez por mim. Obrigada por me apresentar o sentimento mais bonito.

Gratidão aos mestres/professores que compartilharam os ensinamentos sobre a Oceanografia, sobre o meio acadêmico e muitas vezes foram conselheiros da vida. Um “obrigada” especial à turma de 2011, gratidão a cada um que fizeram as noites mal dormidas valerem a pena pelos “empurrões” que dávamos um ao outro quando o desespero tomava conta, de repente éramos colegas e no desespero éramos melhores amigos. O desespero passou, mas os amigos continuaram. Obrigada turma, esse foi apenas um passo de toda uma caminhada, na verdade, foi apenas mais uma “braçada”, tem muito que nadar ainda. Fazer Oceanografia é muito mais do que um ideal, é um sentimento além de uma profissão, o oceano e mundo são muito mais do que um grão de areia, não estaremos sozinhos, força na missão amigos.

Agradeço à professora Lílian pela oportunidade de conhecer a Ecotoxicologia, pelos conhecimentos passados e pela atenção. Obrigada pela oportunidade de participação no grupo Biopaq, o qual foi extremamente relevante no amadurecimento pessoal e acadêmico. Obrigada pelas experiências que mostraram que o mundo vai além de um laboratório

advertindo que fazer ciência é compreender o mundo interligado. Obrigada aos colegas de trabalho, gratidão àqueles que fortaleceram os laços de amizade e viraram amigos, obrigada a quem sempre esteve junto desde o início, John e Leon. Agradeço também ao pesquisador Cléverson que colaborou diretamente para a realização desse trabalho.

*“É tão bonito quando a gente
vai à vida, nos caminhos onde bate,
bem mais forte o coração.”
Gonzaguinha*

RESUMO

Em estuários, a salinidade é considerada um parâmetro ambiental chave por apresentar altas e constantes variações, que afetam a fisiologia e a ecologia dos organismos. Além disso, organismos estuarinos estão sujeitos a uma série de diferentes tipos de atividades antrópicas que geram contaminantes descartados em regiões costeiras. A biodisponibilidade e toxicidade de contaminantes no ambiente aquático são influenciadas pela variação de salinidade. Na Baía de Japerica (nordeste paraense), atividades mineradoras trazem danos tanto ao meio ambiente quanto à população residente nas proximidades. Este estudo é uma avaliação das respostas de biomarcadores bioquímicos de exposição e efeito analisados no caranguejo residente *Ucides cordatus* frente às flutuações sazonais da salinidade local. Os caranguejos foram coletados manualmente em dois locais da baía: Japerica, local com maior influência de água salina, estuário inferior e Tapuã, estuário superior, localizado próximo à região de implantação de uma fábrica de cimento com possível potencial poluidor. As coletas foram realizadas durante 4 períodos: Jun/2013 (transição 1), Setembro (estiagem), Novembro (transição 2) e Fev/2014 (chuvoso). Temperatura, pH, oxigênio dissolvido (OD) e salinidade foram medidos durante a coleta. Os animais foram biometrados para peso total e largura da carapaça, brânquias e músculos foram os tecidos selecionados. Nestes tecidos foram dosados biomarcadores bioquímicos de exposição: capacidade antioxidante total (ACAP) e atividade da enzima de detoxificação glutatona s-transferase (GST); e de efeito: determinação do conteúdo de danos oxidativos em lipídeos (LPO). Os dados abióticos obtidos demonstram que a temperatura e pH não apresentaram uma variação significativa entre locais de coleta. A salinidade apresentou variação, tanto entre os locais como entre os períodos de coleta. Tapuã mostrou valores menores de salinidade, porém maior variação sazonal. Os níveis de OD foram em Tapuã foram maiores em relação a Japerica. A ACAP tanto em brânquias quanto em músculo se manteve estável ao longo dos períodos de coleta. A atividade da GST e do conteúdo de lipídios nos dois tecidos foram altos em Tapuã no período de transição 2 e no período chuvoso, sendo este o local onde há maior variação do gradiente salino ao longo do ano. Os resultados indicam variações sazonais de salinidade, aliada a maior disponibilidade de contaminantes e a diminuição da atividade dos biomarcadores expõem os animais ao efeito desses xenobióticos e consequentes de danos ecológicos.

Palavras-chave: *Ucides cordatus*. Caranguejo – Pará, Nordeste. Salinidade – Pará, Nordeste.

ABSTRACT

In estuaries, the salinity is considered a key environmental parameter because it presents high and constant variations that affect the physiology and ecology of organisms. Furthermore, estuarine organisms are subject to different types of human activities that generate pollutants discharged into coastal regions. The bioavailability and toxicity of contaminants in the aquatic environment are influenced by changes in salinity. In the Bay of Japerica (northeastern Pará), mining activities cause damage to the environment and to nearby residents. This study is an evaluation of the responses of biochemical markers of exposure and effect analyzed in crab resident *Ucides cordatus* front of the seasonal fluctuations of the local salinity. The crabs were manually collected at two locations from Bay Japerica, a place with greater influence of saline water, lower estuary and Tapuã, upper estuary, located near the implantation region of a cement plant with pollution potential. Samples were collected during four periods: June/2013 (transition 1), September (dry season), November (transition 2) and February/2014 (rainy). Temperature, pH, dissolved oxygen (DO) and salinity were measured during collection. The animals were length and weighed for total weight and width of the shell, gills and muscles were selected tissues. These tissues were measured biochemical biomarkers of exposure: total antioxidant capacity (ACAP) and activity of detoxification enzyme glutathione S-transferase (GST); and effect: determination of the content of oxidative damage in lipids (LPO). Abiotic data showed that temperature and pH no significant variation between sampling sites. Salinities showed variation both local and between collection periods. Tapuã show lower salinity values, but higher seasonal variation. The do levels were Tapuã were higher than Japerica. The ACAP both gills and in muscle has remained stable over the collection periods. The GST activity and lipid content in both tissues were higher in Tapuã the transition period and 2 in the rainy season, which is where there is greater variation in the salt gradient throughout the year. The results indicate that seasonal variations in salinity, together with the increased availability of contaminants and decrease the activity of biomarkers expose animals to effect these xenobiotics and consequent ecological damage.

Keywords: *Ucides cordatus*. Crab – Pará, Northeastern. Salinity – Pará, Northeastern.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Manguezal e estuário	10
1.2 Salinidade	13
1.3 Contaminação aquática	14
1.3.1 Produção cimenteira	15
1.4 Biomarcadores	18
1.5 Defesas antioxidantes e estresse oxidativo	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Área de estudo	23
3.2 Coleta	25
3.3 Preparação das amostras para as análises dos marcadores bioquímicos	25
3.4 Parâmetros bioquímicos	26
3.4.1 Determinação da capacidade antioxidante total (ACAP)	26
3.4.2 Glutathione-s-transferase (GST)	27
3.4.3 Determinação do conteúdos de lipídeos peroxidados (LPO)	27
3.5 Análise estatística	28
4 RESULTADOS	30
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

1.1 Manguezal e estuário

Ambientes da zona costeira abrigam um mosaico de ecossistemas de relevância ambiental, como estuários e manguezais. Estuário é definido como um corpo de água semi-fechado que tem uma livre conexão com o mar aberto e dentro a água marinha sofre diluição pelo aporte de água continental (DAY JR et al., 1989; ELLIOTT; MCLUSKY, 2002), assim, a interação entre a água doce e água do mar é a característica fundamental de um estuário. Nesse ambiente há uma reduzida corrente que flui depositando sedimentos finos, formando extensa faixa de areia intertidal e lodaçais, suficiente para formar depósito de sedimentos (ROMAO, 1996).

Ambientes estuarinos possuem gradientes acentuados em relação às suas condições físico-químicas como salinidade, nutrientes dissolvidos, quantidade de oxigênio, pH, composição dos sedimentos e um elevado grau de turbidez. A capacidade de tolerar variações da concentração de oxigênio e salinidade no ambiente é um dos pré-requisitos para os organismos viverem em áreas estuarinas (MACIEL et al., 2008). Independentemente à sua origem, estuários de todo o mundo são dominados por fatores ecológicos complexos como: áreas em constante movimento, águas relativamente rasas, o que impede a ação excessiva de onda ou correntes rápidas; um gradiente de salinidade com valores próximos a zero ou superiores a 30; apresenta ainda uma diversidade de tamanhos de partículas sedimentares, transporte de água; e interações moleculares tanto em água e sedimentos, com locais de abundância de matéria orgânica e microorganismos.

Ecossistemas de manguezais são ambientes estuarinos especiais, caracterizados por fatores ambientais variáveis, tais como a temperatura, sedimentação e correntes de maré, apresentam ainda apresentarem densa vegetação de halófitas (plantas tolerantes a gradientes salinos) (CLARK, 1974). As raízes aéreas de manguezais estabilizam parcialmente esse ambiente e proporcionam um substrato sobre o qual vivem espécies de plantas e animais, assim como na parte superior das árvores de mangue. O substrato desse ambiente forma o habitat de várias espécies infaunal e epifaunais, enquanto o espaço entre as raízes fornece abrigo e alimento para espécies como camarões, caranguejos e peixes. Os restos da vegetação de mangue são transformados em detritos, o que, em parte, suporta cadeia alimentar do

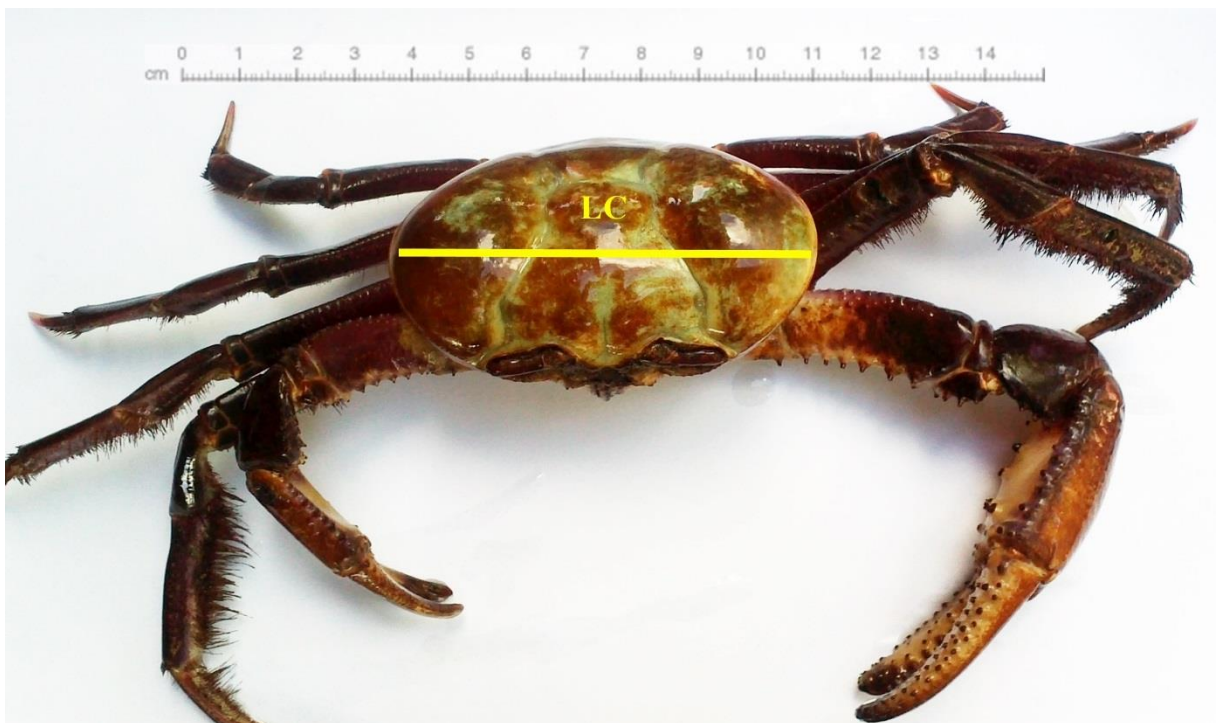
manguezal. Devido à alta abundância de comida e abrigo, e baixa pressão de predação, os manguezais formam um habitat ideal para uma variedade de espécies animais, durante parte ou a totalidade de seus ciclos de vida. Como tal, a densidade da vegetação e as condições naturais dão aos manguezais uma condição que representa um dos habitats biologicamente mais produtivos da Terra (KENNISH, 2002; McLUSKY, 2004), além de funcionarem como habitats de berçário para as espécies comercialmente importantes a exemplo do caranguejo, camarão e peixe. Manguezais são encontrados ao longo da zona costeira do Brasil, desde o Cabo de Orange no Amapá até Laguna em Santa Catarina (MELO, 1996). Para as populações humanas habitantes de áreas costeiras, os crustáceos decápodos constituem a maior fonte econômica e as principais espécies comercializadas são: caranguejo guaiamum (*Cardisoma guamhumi*), o siri (*Callinectes spp*) e o caranguejo semi-terrestre “caranguejo uçá” (*Ucides cordatus*) (ALVES et al., 2005).

Crustáceos da ordem Decapoda podem ser avaliados como biomonitores de poluição em sistemas aquáticos (marinhos e fluviais) por ocuparem uma posição chave na cadeia alimentar, além de estarem em contato direto com sedimentos e água de ambientes poluídos, acumulam poluentes de várias maneiras por serem consumidores de depósitos sedimentares, matéria orgânica, matéria animal e plantas (MacFARLANE et al., 2000). Várias espécies de caranguejos estuarinos possuem um grande potencial como biomonitores devido a sua grande diversidade, baixa mobilidade em relação a outros organismos, ampla distribuição geográfica com população relativamente estável durante todo o ano e sua tolerância às diferentes concentrações de metais no meio ambiente. Por apresentar a essas características, utilizou-se a espécie *Ucides cordatus* (Figura. 1) como biomonitora no presente estudo, para a análise de biomarcadores bioquímicos. *Ucides cordatus* é um caranguejo pertencente à família Ucididae (STEVICIC, 2005), que se distribui no Oceano Atlântico Ocidental, desde a Flórida (EUA), ocorrendo em abundância em toda a extensão da costa do Brasil, do estado do Amapá até o estado de Santa Catarina (COSTA, 1972), ocupando preferencialmente áreas de manguezal com sedimento lodoso (MELO, 1996). Possui expressiva importância econômica no litoral brasileiro (FAUSTO-FILHO, 1968; JANKOWSKY et al., 2006), sendo considerado um dos principais recursos pesqueiros no Brasil, particularmente nas regiões norte e nordeste (FAUSTO-FILHO, 1968). Serve como fonte de alimento e renda para uma grande população que se ocupa de sua extração e comércio (Di BENEDETTO, 2005; GLASER; DIELE, 2004; PASSOS; IBAMA, 1994), o que tem gerado uma alta pressão predatória impactando suas populações naturais nos últimos anos (ALVES et al., 2005). Os caranguejos braquiúros, junto

com os moluscos, correspondem a maior parte da macrofauna de invertebrados associados a esse ecossistema. Destacam-se tanto em riqueza de espécies como em biomassa, superando os demais organismos do manguezal (GOLLEY et al., 1962). Em função do grande porte que pode atingir, o caranguejo *Ucides cordatus* representa o principal componente da macrofauna dos manguezais da costa brasileira, com influência notória sobre o fluxo energético nos manguezais (KOCH, 1999), na bioturbação do sedimento (AMOUROUX; TAVARES, 2005), e na ciclagem do carbono e da matéria orgânica (GUEST et al., 2006).

Além de ser um caranguejo encontrado em áreas terrestres na maré baixa, apresenta comportamentos de construção de tocas e alimentação fora da água (MARTINEZ et al., 1999), desse modo fica diretamente exposto a contaminantes depositados no ambiente (MARTINEZ e col., 1999; NUDI et al., 2007). O caranguejo *Ucides cordatus* é considerado um bom osmorregulador, capaz tanto de hipo quanto de hiperosmorregular, e embora seja um animal aquático com adaptações (MARTINEZ et al., 1999), possui dispositivos respiratórios que se assemelham aos dos caranguejos terrestres (SANTOS; SALOMÃO, 1985). Essa espécie é naturalmente uma espécie exposta a flutuações da salinidade, a qual pode variar de 2 a 33 (SANTOS; SALOMÃO, 1985).

Figura 1- Caranguejo *Ucides cordatus* coletado em Tapuã e Japerica, utilizado como organismo biomonitor no estudo da Baía de Japerica – Pa. LC é representado como a maior medida da largarura da carapaça.



Fonte: Do autor.

1.2 Salinidade

Dentre todos os fatores abióticos que caracterizam estuários, a salinidade é considerada um parâmetro ambiental *chave* por apresentar altas e constantes variações que afetam a fisiologia e a ecologia dos organismos (ANGER, 2001; 2003). A salinidade pode ser definida como a concentração de sais minerais dissolvidos na água, que corresponde ao peso em gramas de sais presentes em 1000g de água (ESTEVES, 1998; SUGUIO, 1992). Cálcio, magnésio, sódio, potássio bicarbonato, cloreto e sulfato, estão entre os principais íons e ânions responsáveis pela formação de sais em águas interiores (ESTEVES, 1998).

Em regiões estuarinas a salinidade pode variar de 0,5 (água doce) passando por diversos graus de salobridade (oligohalina, mesohalina) seguindo para valores maiores que 35 (águas hipersalinas) (SUGUIO, 1992). No entanto, esse valor pode sofrer variações devido a níveis elevados de precipitação, entrada de água doce proveniente de rios locais ou por evaporação em águas rasas (NYBAKKEN, 1988; SCHMIDT–NIELSEN, 1996). Estas variações ocorrem, principalmente, pelo ciclo das marés, mas também sazonalmente, de acordo com o índice pluviométrico de cada estação do ano (NYBAKKEN, 1988; MANN; LAZIER, 1991). O impacto de salinidade, tal como com outros fatores ambientais, é variado. A salinidade pode afetar um animal também por meio de mudanças em propriedades químicas da água (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004). A temperatura, por exemplo, pode interagir com a salinidade, e a resposta do animal a uma mudança na salinidade pode ser diferente em variadas temperaturas (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004); (1) a concentração total de sais de água do mar é reduzida quando diluída com água doce; (2) a concentração de gases dissolvidos varia com a salinidade, a água doce contém mais oxigênio do que a água mais salina à mesma temperatura. Desse modo, variações de salinidade podem afetar indiretamente as condições normais de equilíbrio do meio, causando potenciais danos aos organismos habitantes ou a necessidade de emprego de energia para adaptação (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004).

Para os crustáceos decápodos, a salinidade pode afetar o crescimento, a sobrevivência e o desenvolvimento larval (ANGER, 1996, 2003; ANGER et al., 1990; ANGER et al., 2000; COSTLOW et al., 1960; LÁREZ et al., 2000; LUPPI et al., 2003), assim como também a atividade alimentar (ANGER, 2001), a taxa de acumulação de carbono (ANGER et al., 1998) e a composição bioquímica das larvas de algumas espécies (TORRES et al., 2002). Muitas publicações sobre a área de distribuição das espécies e da diversidade das assembleias

bentônicas nos estuários têm-se concentrado no gradiente de salinidade (BOESCH, 1977; HEIP et al., 1995; MEES et al., 1995). A diversidade das espécies geralmente declina nas margens afetadas pela baixa salinidade (DANKERS et al., 1981; JONES, 1988; YSEBAERT et al., 2003).

Este parâmetro induz ainda respostas comportamentais específicas (FORWARD, 1989) influenciando na distribuição vertical das larvas na coluna d'água (SULKIN; VAN-HEUKELEM, 1982; SULKIN, 1984; CRONIN; FORWARD, 1986), além selecionar o tipo de estratégia reprodutiva adotada pelas espécies como, a exportação larval (CHRISTY, 1982; FORWARD et al., 1982; ANGER, et al., 1994), e orientação durante o recrutamento (O'CONNOR; EPIFANIO, 1985), bem como no crescimento e manutenção da população. Dessa forma a salinidade parece, portanto, ser um fator determinante dos padrões de abundância e distribuição da fauna intertidal ao longo do gradiente longitudinal estuarino (FUJII, 2007).

Gradientes de salinidade, e os problemas relacionados à turbidez da água e a um substrato lamacento, expõem os organismos a um estresse fisiológico grave, ao qual respondem com adaptações de padrões de comportamento, modificações fisiológicas de sistemas de tecidos particulares, ou até evolução de novas espécies ou espécies adaptadas ao ecossistema estuarino (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004). Quando ocorre uma variação brusca na salinidade do ambiente os organismos apresentam diferentes estratégias para escapar, reduzir o contato com a água mantendo o conteúdo osmótico e iônico ou então o animal recorre a respostas fisiológicas. Estas respostas comportamentais e fisiológicas são comuns em animais estuarinos, podendo permitir que o ambiente interno (sangue, células, etc.) se torne osmoticamente semelhante ao ambiente externo (água do mar ou de estuários); alternativamente, o organismo mantém ambiente interno em uma concentração osmótica diferente do ambiente externo pelo processo de osmorregulação (MCLUSKY; ELLIOTT, 2004). Crustáceos que habitam estuários apresentam diferentes estratégias osmorreguladoras diante das variações salinas do ambiente (RINDERHAGEN et al., 2000).

1.3 Contaminação aquática

Além de variáveis naturais, os organismos estuarinos estão sujeitos à uma série de diferentes tipos de atividades antrópicas que geram uma quantidade significativa de contaminantes direta ou indiretamente descartados em regiões estuarinas e manguezais. Muitos destes processos antrópicos são atividades extrativistas, como garimpagem de

minérios preciosos, exploração de argila, areia, cascalho, calcário, etc. Assim como a própria extração dos recursos naturais é fonte de impacto ambiental, o beneficiamento de tais recursos pode trazer danos adicionais. No caso do cimento, futuro impacto antrópico em foco neste estudo, muitos estudos vêm demonstrando o potencial tóxico desta atividade.

1.3.1 Produção cimenteira

Fornos de cimento são considerados uma das maiores fontes de poluentes atmosféricos perigosos (U.S.E.P.A.; SIDHU, et al., 2001). Estudos com animais de laboratório indicam que exposição crônica a poluentes como dioxinas e furanos, substâncias encontradas dentre as presentes na fumaça dos fornos, podem causar deficiência imunológica e disrupção do sistema endócrino (SWEETMAN, et al., 2004). Além do macro impacto relacionado à emissão de CO₂ e ao conseqüente aquecimento global, os impactos gerados pelo processo produtivo do cimento podem ocorrer desde a extração, passando pela produção, até a sua disposição final (MAURY; BLUMENSCHHEIN, 2012). Segundo Santi e Sevá (2004) o processo de produção da indústria de cimento é composto basicamente pela mineração de calcário e a fabricação do cimento, acarretando alterações ambientais como as emissões de gases e de poeiras, erosões, cavas abandonadas e rios assoreados, modificações locais no ciclo das águas e a disseminação de contaminantes em solos e cursos d'água pelo uso de resíduos industriais como combustível e durante a fase extrativa. A fabricação do cimento também pode usar lenha, GLP (Gás Liquefeito de Petróleo) ou gás natural, contribuindo para poluição atmosférica e aquecimento global. Já a contaminação do solo e cursos d'água pode chegar a cadeia alimentar pela ingestão de organismos que habitam os ambientes receptores desta atividade (MAURY; BLUMENSCHHEIN, 2012).

Fatores externos ocasionados por impactos antrópicos podem acarretar em constantes variações em parâmetros ambientais *chaves* em ambientes estuarinos. No processo de produção cimenteira há geração de material particulado suspenso, a deposição desses resíduos no ambiente aquático pode variar a proporção relativa de solutos dentro de água, conseqüentemente alterando a salinidade com a diminuição de seu valor. Essa deposição acarreta ainda problemas de saúde na população residente nas comunidades do entorno fábricas (MAURY, 2008; BLUMENSCHHEIN, 2004). Ainda como resultado da deposição de resíduos, a variação de salinidade implica no desequilíbrio da disponibilidade de diversos íons (cloro, sulfato, bicarbonato, bromo, flúor, ácido bórico, sódio, magnésio, cálcio, potássio e

estrôncio) indispensáveis para o desenvolvimento saudável de alguns animais estuarinos (MALLASEN, 1997).

Variações na salinidade ou em parâmetros físico-químicos como temperatura e pH, afetam a biodisponibilidade de íons essenciais para animais estuarinos, a exemplo do cálcio, elemento importante na constituição e fortalecimento de tecidos rígidos como exoesqueleto em crustáceos braquiúros (OUYANG; WRIGHT, 2005) e na regulação das contrações musculares (MCARDLE; KATCH, 1994), sendo proveniente da alimentação e do meio aquático em algumas espécies adultas. A biodisponibilidade deste íon é variável entre os ambientes salobros, terrestres, de água doce e marinha, sendo neste último o quarto mais abundante, com sua concentração mais elevada que no ambiente de água doce (CASTRO; HUBER, 2000). Uma reduzida salinidade na água estuarina implica em baixa concentração dos íons cálcio e magnésio, necessários para o enrijecimento da carapaça e desenvolvimento dos braquiúros que crescem por meio de mudas, ou ecdises. Nessa troca da carapaça, ocorre reabsorção de parte do exoesqueleto antigo e a formação de um novo, o que exige a disponibilidade de cálcio no ambiente (GORE, 1985; WHEATLY et al., 2002). Esse fato, junto a pobre quantidade de substâncias carbonatadas na dieta alimentar do caranguejo-uçá, faz com que esse animal se utilize dos recursos disponíveis na carapaça antiga (GREENAWAY, 1993).

Ainda ocasionando impactos no ambiente aquático, processos de mineração e descarga de efluentes domésticos e industriais liberam metais no meio aquático (EBRAHIMPOUR; MUSHRIFAH, 2008) e através de precipitação em áreas com poluição atmosférica (PEREIRA et al., 2006). O processo produtivo do cimento tem forte influência no aumento da quantidade de metais e compostos orgânicos disponíveis no ambiente, visto que a extração de calcário deixa o solo exposto em cavas abandonadas e dissemina contaminantes durante o processo de produção (MAURY, 2008; BLUMENSCHHEIN, 2004).

Animais estuarinos que vivem em contato direto com o sedimento, como o caranguejo *Ucides cordatus*, estão expostos a esses contaminantes, visto que nesses ecossistemas aquáticos tanto metais quanto outros compostos orgânicos tendem a acumular nos sedimentos (SHRIVASTAVA et al., 2003) e, dependendo das condições ambientais, podem ser liberados na coluna d'água tornando-se biodisponíveis.

1.3 Biodisponibilidade de metais

A biodisponibilidade de um metal e sua toxicidade dependem da forma química e física na qual o metal se encontra (ALLEN; HANSEN, 1996), em geral, quando liberados na água os metais primeiramente são adsorvidos por partículas orgânicas ou inorgânicas e são então incorporados ao sedimento pelo processo de sedimentação, fazendo com que os esse compartimento tenha níveis mais elevados de metais (BOTTE et al., 2007), assim as concentrações de metais no sedimento são maiores do que na coluna d'água pois é no sedimento que se depositam todos os compostos químicos. Dessa forma, a composição do sedimento ao longo do tempo é influenciada pela presença de compostos oriundos de atividades como desenvolvimento industrial, desflorestamento, mineração e aumento de poluição (XUE et al., 2007). Nestas condições metais e contaminantes orgânicos podem afetar a biota, sendo incorporados ao longo da cadeia alimentar e conseqüentemente causar danos também à saúde humana (KHAN et al., 2005).

1.4 Crustáceos decápodos como organismos biomonitores

Organismos biomonitores demonstram qualitativa e quantitativamente o impacto da poluição ambiental sobre organismos vivos, usados em monitoramento da qualidade do ar, da água, do sedimento e do solo. Biomonitoramentos oferecem uma alternativa, além dos métodos físico/químicos, para a identificação de áreas de risco de poluição por diversos contaminantes (THAWLEY et al., 2004), com a vantagem de ser possível identificar efeitos biológicos ocasionados pela exposição aos contaminantes.

Crustáceos da ordem Decapoda podem ser avaliados como biomonitores de poluição em sistemas aquáticos (marinhos e fluviais) por ocuparem uma posição chave na cadeia alimentar. Além disso, os decápodos estão em contato direto com sedimentos e água de ambientes poluídos, acumulam poluentes de várias maneiras por serem consumidores de depósitos sedimentares, matéria orgânica, animal e vegetal (MacFARLANE et al., 2000). Várias espécies de caranguejos estuarinos possuem um grande potencial como biomonitores devido a sua diversidade, sua baixa mobilidade em relação a outros organismos, sua ampla distribuição geográfica com população relativamente estável durante todo o ano e sua tolerância às diferentes concentrações de metais no meio ambiente.

Para os fins deste estudo e com base nas características descritas anteriormente descritas, utilizou-se a espécie *Ucides cordatus* (Figura. 1) como biomonitora para a análise de biomarcadores bioquímicos.

1.4 Biomarcadores

Contaminantes ambientais (como metais, produtos de combustão incompleta e resíduos industriais), liberados no meio aquático e em contato com os organismos possuem potencial tóxico, podendo causar alterações em todos os níveis de organização biológica. No entanto, a grande maioria dos contaminantes começa exercendo seus efeitos tóxicos nos menores níveis (nível molecular, subcelular e celular). Os organismos podem responder através de alterações moleculares e celulares como forma de defesa (FENT, 2004). A interação entre o sistema biológico e poluente está associada à biodisponibilidade dos contaminantes, visto que ele pode estar associado à matéria orgânica dissolvida, particulada e ao sedimento (FENT, 2004). Assim, sua concentração disponível para ser absorvida pelos seres vivos é variável e suas consequências para o organismo dependem da relação entre sua taxa de captação e eliminação (FENT, 2004).

Os biomarcadores possibilitam a detecção rápida de respostas biológicas na presença de contaminantes, podendo ser utilizados de maneira preventiva em baixos níveis de organização biológica, o que pode servir de aviso antecipado de prováveis efeitos a níveis superiores (populações, comunidades e ecossistemas), mais relevantes ecologicamente (CAJARAVILLE et al., 2000). Esses marcadores biológicos são definidos como alterações bioquímicas, moleculares, celulares ou mudanças fisiológicas nas células, fluidos corpóreos, tecidos ou tecidos de um organismo que são indicativos da exposição ou efeito de um xenobiótico (LAM; GRAY, 2003). Os biomarcadores podem ser divididos em classes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2003; IPCS, 1993), de acordo com o tipo de informação que proporcionam. Um biomarcador de exposição é uma substância exógena, seu metabólito ou o produto da interação entre o xenobiótico e uma molécula ou célula em um organismo ou em uma subunidade deste. Já os biomarcadores de efeito são definidos como qualquer alteração bioquímica, fisiológica ou outra alteração nos tecidos ou fluidos corporais de um organismo que podem ser reconhecidos e quantificáveis indicando danos e prejuízo a saúde, como por exemplo, ruptura das membranas celulares e mutações do DNA (MONSERRAT et al., 2003)

1.5 Defesas antioxidantes e estresse oxidativo

Biomarcadores de exposição e de efeito podem ser avaliados a partir de respostas do sistema de defesa antioxidante (SDA) e danos oxidativos, respectivamente. Um agente de defesa antioxidante pode ser definido como qualquer substância que atrase, previna ou remova o dano oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007), diferentemente de um pró-oxidante, que é uma substância tóxica que causa danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, resultando em efeitos patológicos e/ou uma doença. Um antioxidante pode reduzir um pró-oxidante a produtos de nenhuma ou baixa toxicidade (PRIOR; CAO, 1999). Por outro, lado um pró-oxidante pode ser um radical livre derivado do metabolismo do oxigênio e de outras espécies, que também são muito reativo em decorrência de sua instabilidade, capazes de gerar efeitos deletérios em macromoléculas como lipídios, carboidratos e proteínas (RYTER; TYRREL, 1998). Estes radicais são denominados espécies reativas de oxigênio (EROs) (WINSTON; DI GIULIO, 1991). O efeito prejudicial das EROs ocorre quando elas estão em quantidade excessiva no organismo, ultrapassando a capacidade do sistema de defesa antioxidante de neutralizá-los, o que causará danos em macromoléculas, caracterizando a situação denominada de estresse oxidativo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BIANCHI; ANTUNES, 1999; VALKO et al., 2007). EROs como ânions superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila são geradas durante a redução do O_2 e H_2O em processos metabólicos normais. Assim, enzimas do sistema antioxidante atuam na decomposição dos ânions superóxido e peróxido de hidrogênio, são ativadas a fim de neutralizar essas moléculas que poderiam danificar o tecido.

As defesas antioxidantes atuam a fim de evitar a formação de EROs, neutralizam estas espécies reativas ou ainda atuam na reparação de danos ocasionados por elas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A medida da capacidade antioxidante total (ACAP) é uma das respostas preliminares importantes em situações de estresse ambiental, que quantifica a capacidade que o tecido possui em neutralizar as EROs, incluindo tanto as defesas antioxidantes enzimáticas como as não enzimáticas (WINSTON et al., 1998; REGOLI; WINSTON, 1998).

Os danos oxidativos causados pelas EROs á biomoléculas incluem oxidação de proteínas e danos ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e, portanto, tecidual. Outro mecanismo de lesão é a peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, definida como a deterioração oxidativa da camada lipídica da membrana celular (HALLIWELL;

GUTTERIDGE, 1999). Na peroxidação de lipídios há formação de radicais livres a partir de ácidos graxos insaturados, esses radicais reagem com o oxigênio, resultando no radical peróxido e formam hidroperóxidos instáveis e novos radicais livres de outros ácidos graxos, que contribuem para manter a reação em cadeia reagindo com mais oxigênio. Essas reações só terminam quando os radicais livres provenientes em grande parte de peróxidos lipídicos se associam entre si formando compostos não radicais (YU, 1994).

Nesse contexto, um grupo de respostas biológicas (alterações moleculares e celulares, quantificação de danos oxidativos e os níveis de defesas contra danos celulares) têm o potencial de serem usados como biomarcadores de poluição aquática úteis para determinar o grau de impacto na saúde da biota, além de identificar os estressores ou poluentes responsáveis por estes efeitos (FUENTES-RIOS et al., 2005; AHMAD; PACHECO; SANTOS, 2006; FUNES et al., 2006).

Caranguejos, como qualquer organismo aeróbico, estão suscetíveis ao estresse oxidativo, resultado da ação de EROs gerados pelo metabolismo do animal naturalmente ou induzidos pela exposição aos poluentes. As EROs são formadas em diversas situações no organismo como, por exemplo, na síntese de ácidos nucleicos, na detoxificação de xenobióticos, na atividade de células do sistema imunológico, e na transdução de sinais celulares. O próprio sistema imune de crustáceos através da atividade da profenol oxidase (SÖDERHÄLL; CERENIUS, 1998) é fonte geradora de espécies reativas de oxigênio.

Para sobrevivência em ambientes estuarinos, crustáceos e invertebrados em geral, possuem adaptações osmorregulatórias (PEQUEUX, 1995; FREIRE et al., 2003; FREIRE et al., 2008) e um sistema de enzimas metabolizadoras de contaminantes altamente desenvolvidas (INZUNZA et al., 2006), que exigem gasto energético com consequente aumento na atividade metabólica, promovendo um potencial aumento na concentração de EROs.

Nesse sistema, a metabolização dos compostos xenobióticos ocorre em três fases: as fases I e II correspondem a biotransformação desses compostos e a fase III corresponde à excreção dos produtos resultantes da biotransformação (VAN DER OOST; BAYER; VERMEULEN, 2003). A biotransformação de xenobióticos é acompanhada por uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) (VALAVANIDIS et al., 2006), durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência

de elétrons nem várias reações bioquímicas, por exemplo, em proporções adequadas possibilita a geração de ATP (energia).

Apesar de a biotransformação resultar na detoxificação de muitos xenobióticos para metabólitos facilmente excretáveis, muitas vezes pode resultar na ativação de espécies químicas mais reativas, como a produção de metabólitos radicalares que se ligam a macromoléculas, como DNA e lipídios, ou ainda podem resultar no aumento de geração de EROs (SOLÉ et al., 1995). Porém, esses compostos tóxicos podem ainda ser neutralizados através da ação de enzimas de biotransformação de fase II (SILVA, 2004).

Desse modo, os organismos estão suscetíveis a danos oxidativo se não ocorrer aumento das defesas antioxidantes, simplesmente por uma maior demanda energética frente às variações impostas pelo ambiente estuarino e por processos naturais de detoxificação.

1.7 Justificativa

O presente trabalho compreende um estudo das respostas do sistema antioxidante de caranguejos *Ucides cordatus* frente às flutuações sazonais da salinidade. Cabe ressaltar que este trabalho foi realizado durante o período de construção de uma fábrica de cimento na região amostrada.

Tendo conhecimento de que a poluição em manguezais afeta diretamente o ciclo de vida do caranguejo *Ucides*, é relevante estudar os efeitos em baixos níveis de organização biológica, visto que, nestes níveis, os efeitos de contaminantes ocorrem mais rapidamente, além do que a especificidade das respostas e a compreensão sobre os efeitos dos contaminantes são geralmente maiores nos menores níveis de organização. Geralmente, os efeitos em tais níveis podem ser diretamente ligados à exposição aos agentes contaminantes. Por exemplo, a presença de resíduos químicos e metabólitos é um indicador direto da disponibilidade de contaminantes para os organismos. Dessa forma, tem-se um alerta a um quadro de impactos ambientais que podem ocorrer em maiores níveis no futuro quando a quando as atividades potencialmente poluidoras forem somadas as variações naturais do estuário.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade de resposta do caranguejo Uçá (*Ucides cordatus*) ao estresse oxidativo em ambientes sujeitos à diferentes variações de salinidade.

2.2 Objetivos específicos

1) Analisar a capacidade antioxidante total em distintos tecidos (músculo e brânquias) de uma espécie de caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) frente a variação natural de salinidade local em distintos períodos hidrológicos da região (estiagem e período chuvoso);

2) Dosar a atividade da glutathione s-transferase (enzima de detoxificação) em distintos tecidos (músculo e brânquias) de uma espécie de caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) frente a variação natural de salinidade local em distintos períodos hidrológicos da região (estiagem e período chuvoso);

3) Determinar o conteúdo de danos oxidativos em lipídeos (lipoperoxidação) em distintos tecidos (músculo e brânquias) de *Ucides cordatus* frente a variação natural de salinidade local em distintos períodos hidrológicos (estiagem e período chuvoso);

4) Verificar as flutuações naturais dos biomarcadores bioquímicos citados a fim de escolher os parâmetros mais estáveis para serem empregados no futuro como biomarcadores de poluição em *Ucides cordatus* da região de estudo.

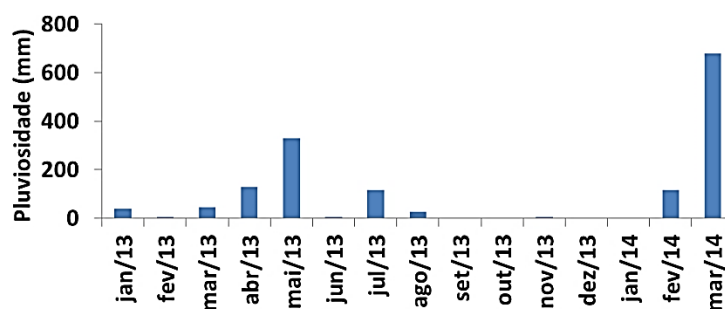
3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

A Baía de Japerica, situado no nordeste paraense, dista cerca de 164 km da capital Belém. Localiza-se a uma latitude 00°56'25"S e a uma longitude 47°06'59", abrangendo uma área de 258,600 km², com uma população com pouco mais de 10 mil habitantes (IBGE), possuindo como base econômica a pecuária, agricultura e atividades mineradoras. De acordo com a publicação da Secretaria e Estado da Integração Regional (2010), o uso do solo no município é predominantemente destinado à mineração. O clima da região é classificado, de acordo com a classificação de Köppen e Geiger como Am, que denota um clima com temperaturas elevadas com altos índices pluviométricos e pequena estiagem (RIMA - Projeto Primavera/Pa-Votantim).

Fernandes et al. (2012) verificou que a partir da distribuição de médias climatológicas da precipitação, os maiores índices estão concentrados no Nordeste paraense (precipitação superior a 2000 mm), onde localiza a área do presente estudo. No período das coletas (Figura) o mês mais chuvoso ocorreu em maio (329 mm), mês inserido na época definida como um dos trimestres mais chuvosos dezembro a fevereiro e março a maio (FERNANDES et al., 2012). A época menos chuvosa, abrange os demais meses do ano, sendo que os períodos de menores índices pluviométricos ocorreram em junho, setembro e novembro (1mm, 0mm, 2mm respectivamente). Há uma transição (Junho; transição 1) do período chuvoso (Fevereiro) para o período de estiagem (Setembro). Da mesma forma, verifica-se a transição (Novembro; transição 2) do período de estiagem para o período chuvoso.

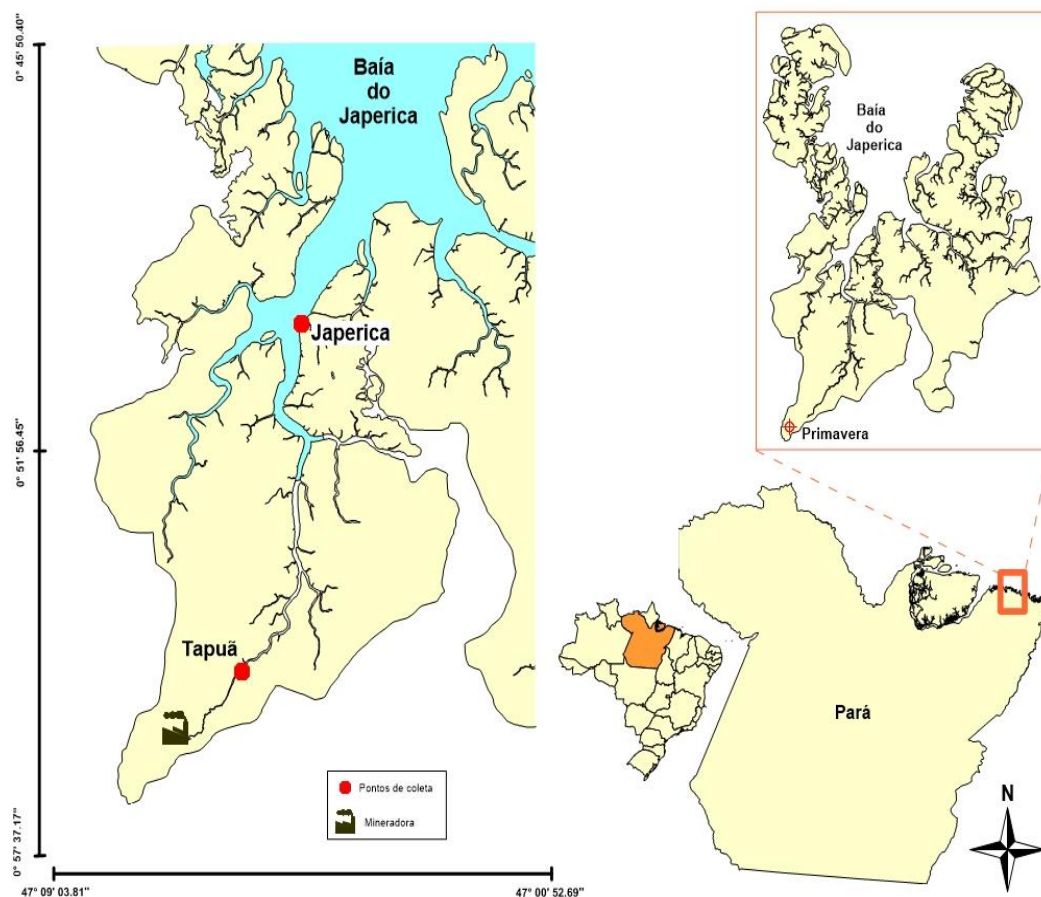
Figura 2- Gráfico da precipitação mensal representada em milímetros (mm) para a Baía de Japerica referente a janeiro(2013) até março (2014).



Em 2011, foram iniciados os estudos para construção de uma nova fábrica da Votorantim Cimentos na cidade, prevista para entrar em operação em 2015, porém ainda não

está em funcionamento. Sabendo que o ambiente pode ser impactado pelo sítio industrial escolheu-se dois locais na região para realização do presente trabalho, Tapuã e Japerica (Figura 2). Tapuã ($00^{\circ} 55' 12.7''$ S; $47^{\circ} 05' 47.2''$ O) está localizado próximo à região de implantação da fábrica; em termos de influência salina, espera-se que Tapuã apresente menor valor de salinidade já que é localizado na parte mais interna do continente com pouca influência de água marinha diferentemente de Japerica ($00^{\circ} 49' 44,0''$ S; $47^{\circ} 04' 24,1''$ O), situado a aproximadamente 8km de distância do sítio industrial, tomado como ponto de menor influência do mesmo. Em geral, a descarga de rios tem uma significativa variação sazonal que prova flutuações sazonais da salinidade em águas costeiras. Por isso, Japerica sofre variações de salinidade, porém com menor influência das descargas fluviais.

Figura 3 - Mapa referente ao local de estudo, Baía de Japerica, onde estão representados os locais de coleta, Tapuã e Japerica, próximos ao município de Primavera - PA.



3.2 Coleta

Ucides cordatus foi escolhido como organismo biomonitor por ser espécie comum nos ecossistemas de manguezais da costa paraense, ter importância comercial e ser adaptada a viver nas condições instáveis do ambiente. Parâmetros abióticos como temperatura, pH e oxigênio dissolvido da água foram registrados durante as coletas com multiparâmetro digital (HQ30D HACH) e a salinidade com refratômetro. Os caranguejos, todos machos, foram coletados manualmente com ajuda de catadores da região e ao final de cada coleta os organismos foram acondicionados em gelo até subsequente biometria e retirada dos tecidos selecionados (brânquias e músculo). Registraram-se os seguintes dados biométricos de cada exemplar de *Ucides cordatus*: maior largura da carapaça (LC), e peso total (Pt). Em seguida os tecidos foram armazenados em nitrogênio líquido e transportados para o laboratório, onde foram estocados em ultra-freezer a -80°C , até o momento das análises.

A partir dos dados climatológicos conhecidos para a região (Figura 2), as estações de coleta foram definidas como transição chuvosa-estiagem (Junho; transição 1), estiagem (Setembro), transição estiagem-chuvosa (Novembro; transição 2) e chuvosa (Fevereiro).

3.3 Preparação das amostras para as análises dos marcadores bioquímicos

Para ambos os tecidos, a preparação das amostras foi a mesma. Em laboratório os tecidos (músculo e brânquias) foram pesados em eppendorfs (peso máximo de 150g) sobre balança eletrônica de precisão de 0,002 de 4 casas decimais (FA 2104N – BIOPRECISA), em seguida homogeneizados em agitador mecânico tipo Potter (CT 136 – CIENTEC). Para dosagem de GST e ACAP as amostras foram homogeneizadas em tampão de homogeneização para invertebrados 10 mM (Tris-base 20 mM, EDTA 1 mM, Dithiothreitol (DTT) 1 mM, sacarose 500 mM, KCl 150 mM, PMSF 0,1 mM) (BAINY et al., 1996; GERACITANO et al., 2004) contendo PMSF (com proporção de 10:1) pH 7,4 centrifugados (centrífuga 2 K 15 – SIGMA), a 10.000 g/min por 20 minutos (4°C). Para determinação da lipoperoxidação, os tecidos foram homogeneizados com metanol (1:4), centrifugados a 10.000g g/min por 10 minutos (4°C). O sobrenadante foi utilizados para a determinação das atividades enzimáticas.

3.4 Parâmetros bioquímicos

A metodologia empregada para as análises bioquímicas foi a mesma para ambos os tecidos, como descrito a seguir e sumarizado na figura 3.

3.4.1 Determinação da capacidade antioxidante total (ACAP)

A medição da capacidade antioxidante total para o presente estudo foi baseada no método de detecção de EROs por fluorimetria com detecção a 530 nm utilizando 2',7'-diclorodiacetato de fluoresceína (H₂DCF-DA) como substrato de acordo com o protocolo descrito por Amado et al. (2009). As EROs são detectadas nas amostras dos tecidos com e sem exposição a um gerador de radicais peroxil pela decomposição térmica do 2'2'-azobis-2-metilpropilamida dihidroclorato (ABAP, 4 mM) a 35 °C (WINSTON et al., 1998). Para realização do ensaio utilizou-se o sobrenadante das amostras homogeneizadas e centrifugadas a 10.000 g durante 20 minutos (4°C). Anteriormente, o conteúdo de proteína total foi determinada pelo método do Biureto (550 nm), em triplicata de cada amostra, usando o leitor de fluorescência (Victor X3, Perkin Elmer). A partir da padronização antes da análise e determinação da quantidade de proteínas totais da amostra obteve-se 2 mg de proteínas/mL necessárias para identificação da capacidade pelo método anteriormente citado. Assim, as amostras foram diluídas com o mesmo tampão da homogeneização para atingirem essa concentração proteica. Foram preparadas duas microplacas de fluorescência, uma com 270,5 µL de tampão de reação do ACAP (Hepes 30 mM, KCl 200 mM, MgCl₂ 1 mM), 10 µL de amostra de tecido, 7,5 µL de ABAP em temperatura ambiente e na segunda microplaca substituiu-se 7,5 µL de ABAP por 7,5 µL de H₂O miliQ para determinação do valor basal sem a geração de radicais. A leitura foi medida a 35 °C, a cada 5 min, durante 60 min em espectrofluorímetro Victor X3 (Perkin Elmer). Os resultados foram expressos calculando-se a área sobre a reta com e sem ABAP (20 µM, 16 µM de H₂DCF) através da medição da fluorescência ao longo do tempo. Para o cálculo subtraiu-se os valores das amostras com ABAP e sem ABAP para identificação de radicais gerados e o que foi interceptado pela amostra (capacidade antioxidante total). A geração de fluorescência total (485 e 530 para excitação e emissão respectivamente) foi calculada pela integração da unidade de fluorescência (UF) durante o período de leitura, após ajustar os dados da UF para uma função polinomial de segunda ordem. A área relativa entre as áreas com ABAP e sem ABAP é o inverso da diferença dividida pela área sem ABAP, consideradas como medida da capacidade antioxidante total, onde o tamanho da área significa capacidade antioxidante, onde a baixa

fluorescência será obtida após adição de ABAP, indicando alta competência para neutralizar radicais peroxil (AMADO et al., 2009).

3.4.2 Glutathione-S-transferase (GST)

O método para análise do biomarcador baseia-se na conjugação de 1Mm glutathione reduzida (GSH) com o substrato clorodinitrobenzeno (CDNB) catalisada pela GST produzindo um composto que detectado em 340 nm ($\epsilon = 9.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A atividade enzimática é proporcional à velocidade de produção do composto conjugado (HABIG; JAKOBY, 1981). O ensaio enzimático foi realizado em tampão fosfato de potássio (KH_2PO_4^-) 0,05M, pH 7,0 contendo 50 mM CDNB. Como substrato iniciador foi utilizada GSH 10 mM. Na microplaca utilizou-se 20 μL de do sobrenadante da amostra pesada (em proporção peso:volume de 1:4) e homogeneizada a 10.000 g por 20 minutos (4°C). Desta atividade é descontada a reação basal obtida pela leitura da reação entre a GSH do ensaio e o CDNB, sem a presença da amostra. A absorbância basal foi descontada a partir da leitura da reação do ensaio na ausência da amostra. Os resultados são expressos em unidade de GST, uma unidade definida como a quantidade necessária de enzima para conjugar 1 μmol de CDNB com GSH em 1 min por mg de proteína, à 25°C em pH 7,00.

3.4.3 Determinação do conteúdo de lipídeos peroxidados (LPO)

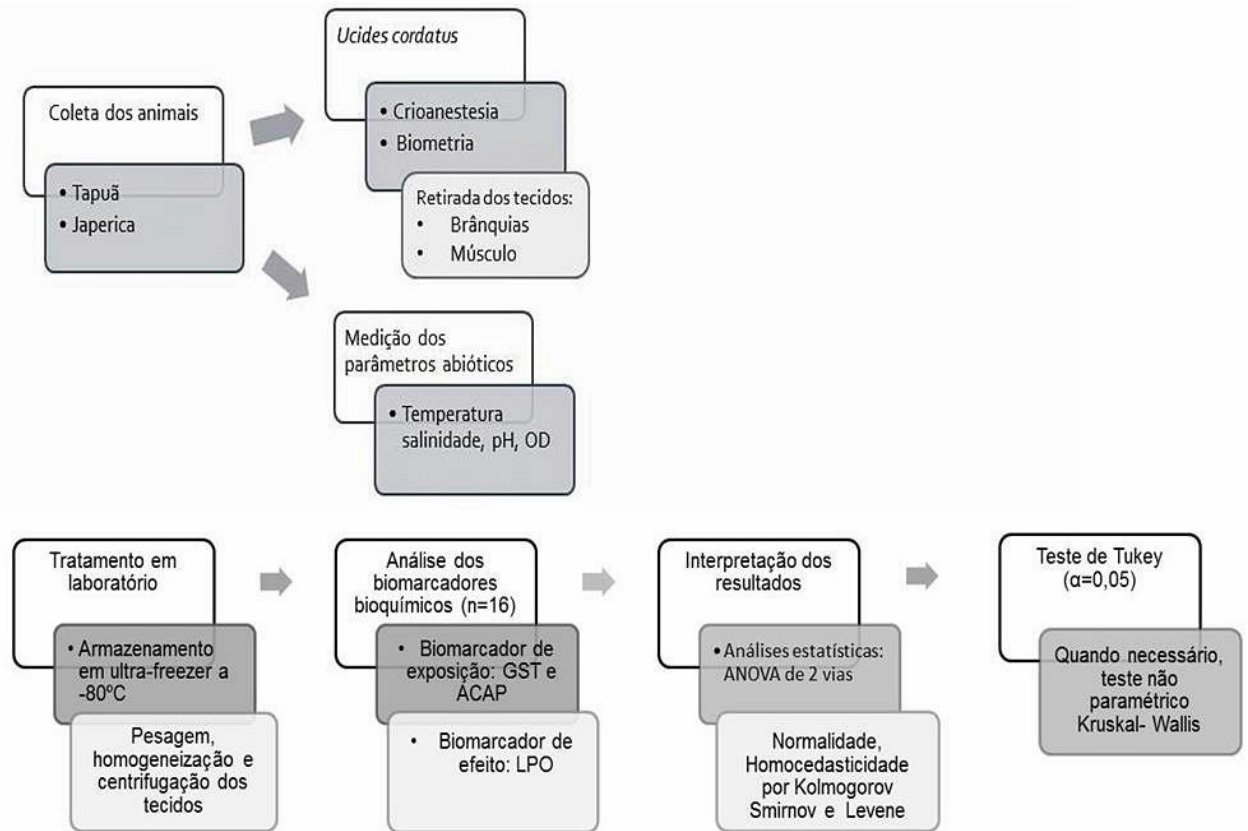
A quantificação dos níveis de peróxidos lipídicos do sobrenadante do homogenato dos tecidos de *U. cordatus* foi realizada a partir do método de FOX (GAY; GEBICKI, 2002) modificado (HERMES-LIMA et al., 1995; MONSERRAT et al., 2003). A presença de peróxidos leva à oxidação do íon Fe^{2+} a Fe^{3+} , o qual reage em meio ácido na presença do laranja de xilenol, um pigmento complexador de Fe (III), gerando uma cor característica quantificada fotometricamente em 560 nm. O ensaio é realizado em ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,25 M, contendo laranja de xilenol 1 mM e sulfato ferroso FeSO_4 1mM. As amostras foram pesadas (aproximadamente 150 mg), homogeneizadas em metanol 100% resfriado numa relação 1:4, centrifugadas a 1000 g/min, durante 10 minutos (4°C). Em seguida é retirado o sobrenadante e utilizado para a análise dos lipídios peroxidados. Para a realização do ensaio, preparou-se uma microplaca a frio com as amostras (e metanol para o branco) na sequência a ser colocada com pipeta multicanal na placa de reação: FeSO_4 (90 μL), H_2SO_4 0,25 M (35 μL), laranja de xilenol 1mM (35 μL), H_2O miliQ (170 μL) e 40 μL de amostra para brânquias e 20 μL para músculo. A quantidade de amostra necessária, bem como o tempo de incubação

para leitura foram obtidos após testes de padronização com diluição de 1:4 e 1:6 com 20 e 40µL de amostra. As microplacas cobertas foram incubadas em temperatura ambiente por 90 minutos e 60 minutos para brânquias e músculo respectivamente, seguidas da leitura no leitor de microplaca Victor X3 a 550 nm, com adição de 10 µL de solução de CHP (0,175 mM) na segunda fileira de branco e em todas as amostras (a quantidade de CHP adicionada foi 1 nanomol). Depois de 15 minutos a leitura é repetida. Este trata-se de um método simples para determinação da lipoperoxidação, porém é inespecífico, pois pode sofrer interferências de diversas substâncias presentes na amostra. Estas substâncias podem reagir com o xilenol ou possuir absorção no mesmo comprimento de onda do complexo formado. Assim, reações inespecíficas foram quantificadas e subtraídas da reação a partir da análise de uma segunda placa onde os 90 µL FeSO₄ é substituídos por 90 µL de H₂O miliQ. Por fim, dividiu-se os valores de absorbância do extrato de tecido pela absorbância contribuída pelos 1 nanomol de CHP expressando o resultado de hidroperóxidos lipídicos (substâncias reativas ao FOX) em termos de equivalentes de CHP/g peso úmido.

3.5 Análise estatística

Os biomarcadores foram avaliados nos dois tecidos com um número amostral de 16 caranguejos por ponto e por período de coleta. Os dados foram testados para normalidade e homocedasticidade das variâncias por Kolmogorov Smirnov e Levene, respectivamente, quando não atingidos os pressupostos para análise paramétrica, os dados foram transformados para log. Diferenças significativas foram avaliadas por ANOVA de duas vias, seguida do teste a posteriori de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e os dados foram expressos como média±erro padrão. Os resultados de atividade de GST nas brânquias e a comparação da biometria de todos os animais foram analisados por estatística não paramétrica, com teste de Kruskal Wallis, por não serem dados homogêneos, não atingindo os pressupostos de normalidade e homocedasticidade, neste caso, os dados foram expressos com mediana+1quartil.

Figura 4 - Metodologia de coleta e análise do presente estudo em biomarcadores analisados no caranguejo *Ucides cordatus*.



4 RESULTADOS

4.1 Parâmetros abióticos

Os parâmetros abióticos registrados estão representados na Tabela 2.

As estações definidas previamente como transição 1 (Junho), estiagem (Setembro), transição 2 (Novembro) e chuvosa (Fevereiro) foram mantidas pois corresponderam com os dados coletados. Durante o período do estudo (Jun/2013 a Fev/2014) verificou-se duas estações bem definidas quanto ao regime pluviométrico, a primeira vai de Janeiro a Junho, caracterizando uma estação menos chuvosa, apesar de, em maio o índice pluviométrico mensal ter sido 329 mm, fora da média esperada. A segunda estação definida, que vai de Agosto a Dezembro, com média de 5,4 mm e pluviosidade mínima de 0 mm. Entre as duas estações houve dois períodos de transição: transição 1, chuvosa-estiagem (Junho) e transição 2, estiagem-chuvosa (Novembro), com precipitação mínima no mês de Setembro (0 mm) e máxima em Fevereiro (117 mm). No período do estudo pluviosidade média foi de 57,5 mm.

Na temperatura não se verificou uma variação significativa entre locais de coleta, apenas em Japerica foi possível verificar uma diminuição da temperatura seguindo do primeiro até o último período de coleta. Tanto em Tapuã quanto em Japerica os valores de pH não apresentaram variações consideráveis, sendo os valores médios de 7,5 em Tapuã e 7,3 em Japerica. Em Japerica foi possível verificar um leve aumento nos valores de pH do período transição 1 para o período de transição 2. No período de estiagem o pH manteve-se alcalino, e constante em Tapuã (7,5) e máximo (7,7) em Japerica.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos. Os locais Tapuã e Japerica são definidos pelas siglas T e J respectivamente. A pluviosidade é representada como a média de chuva em milímetros para o município durante o período das coletas. Temperatura é expressa em °C e oxigênio dissolvido (OD) em mg/L.

	Pluviosidade	Temperatura		Salinidade		pH		OD	
		T	J	T	J	T	J	T	J
Transição 1	1	33,3	35,1	0	15,5	7,5	7,0	6,5	3,0
Estiagem	0	30,5	30,4	4,5	32,5	7,6	7,5	8,7	5,5
Transição 2	2	30,9	29,1	27,5	33	7,5	7,7	6,9	7,0
Chuvosa	117	–	29,1	3,0	14	7,5	7,3	6,0	5,9

A salinidade apresentou variação, tanto entre os locais como entre os períodos de coleta. Tapuã mostrou valores mínimos de salinidade no período de transição 1 (salinidade 0), na estiagem (salinidade 4,5) e no período chuvoso (salinidade 3), com um acentuado aumento apenas no período de transição 2 (salinidade 27,5). Japerica, apesar de ter apresentado menor variação sazonal teve maior salinidade em relação à Tapuã, com aumento dos valores elevados em todos os períodos e máximo nos períodos de estiagem (salinidade 32,5) e transição 2 (salinidade 33).

Os níveis de OD em Tapuã foram maiores em relação a Japerica, nos períodos de transição 1 (Tapuã 6,53 mg/L e Japerica 3,01 mg/L) e de estiagem (8,75 mg/L em Tapuã e 5,55 mg/L em Japerica).

4.2 Organismos biomonitores

Os resultados referentes à biometria dos caranguejos capturados (Tabela 2) indicaram que em relação ao peso total, houve diferença estatística apenas entre os animais coletados em Japerica nos meses de transição 1 e estiagem, no qual os indivíduos da transição 1 apresentaram maior peso ($143,8 \pm 94,1$ g; n= 47).

Em Tapuã os animais utilizados nas análises não apresentaram variações no tamanho ($6,7 \pm 0,7$ cm) e no peso ($131,1 \pm 39,2$ g) ao longo dos meses de coleta.

Já em largura da carapaça, os animais capturados no período de estiagem em Tapuã foram maiores ($6,9 \pm 0,7$ cm; n=56) do que os de Japerica ($6,3 \pm 0,7$ cm; n=51). Neste último local, os exemplares utilizados nas análises mantiveram tamanho constante em todos os meses coletados ($6,4 \pm 0,7$ cm).

Tabela 2 - Número amostral de exemplares de *U. cordatus* selecionados para biometria e análise dos biomarcadores bioquímicos. Os pesos totais dos animais estão expressos em gramas (g), com média e \pm desvio padrão. A largura da carapaça é expressa em média de centímetros (cm) e \pm desvio padrão.

	Transição 1	Estiagem	Transição 2	Chuvosa
Japerica				
N amostral	47	51	46	51
Peso total	143,8 \pm 94,1	108,9 \pm 35,1	120,6 \pm 36,2	138,5 \pm 44,2
Largura	6,6 \pm 0,7	6,3 \pm 0,7	6,4 \pm 0,7	6,7 \pm 0,7
Tapuã				
N amostral	44	56	44	41
Peso total	117,3 \pm 37,5	133,3 \pm 44,6	135,3 \pm 37,9	138,7 \pm 36,8
Largura	6,5 \pm 0,7	6,9 \pm 0,7	6,8 \pm 0,7	6,5 \pm 0,7

4.3 Biomarcadores avaliados nas brânquias

A capacidade antioxidante total nas brânquias do caranguejo *Ucides cordatus* não apresentou diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) tanto entre locais como entre períodos (figura 4-I).

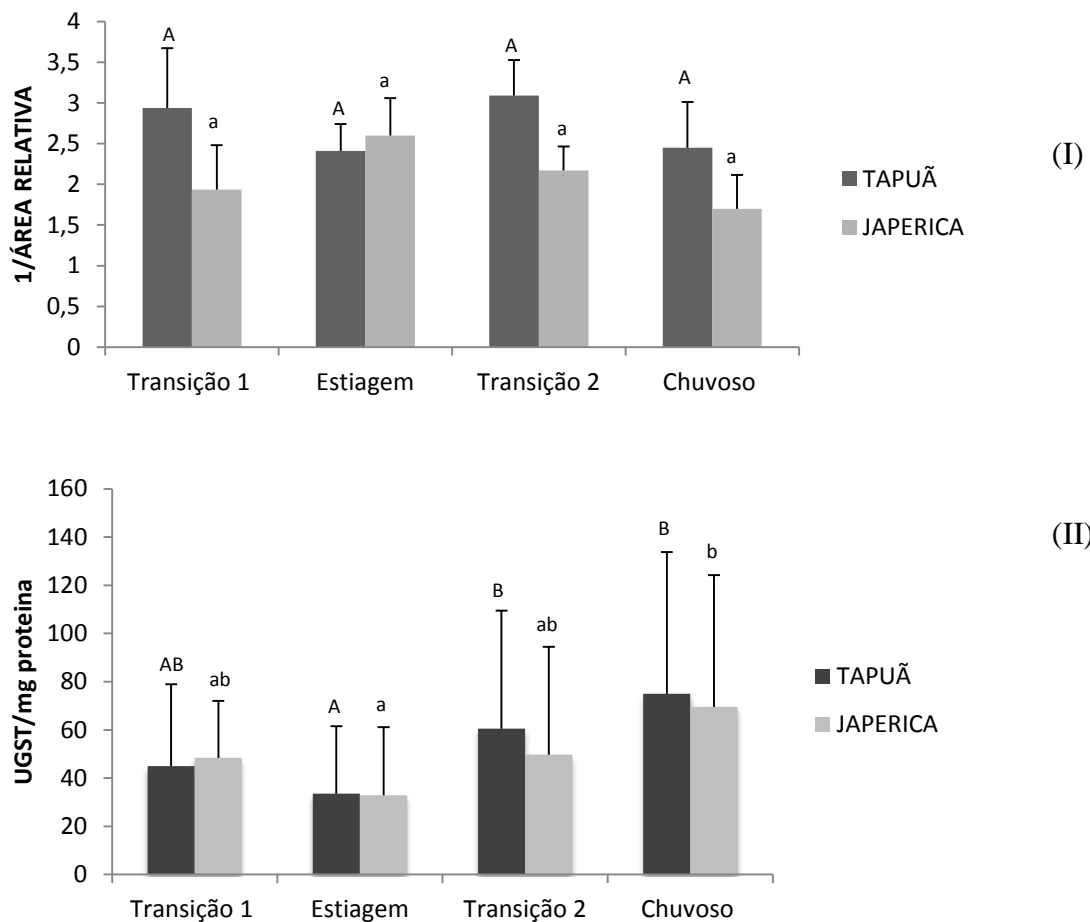
Em relação à atividade da GST, os caranguejos coletados em Tapuã e em Japerica apresentaram variação sazonal semelhante (figura 4-II). Os organismos dos dois ambientes apresentaram valores de atividade da GST superiores para o período chuvoso em relação ao de estiagem, sendo que os animais de Tapuã apresentam aumento significativo da atividade desta enzima já no período de transição 2, quando a salinidade já sofreu um aumento significativo neste local.

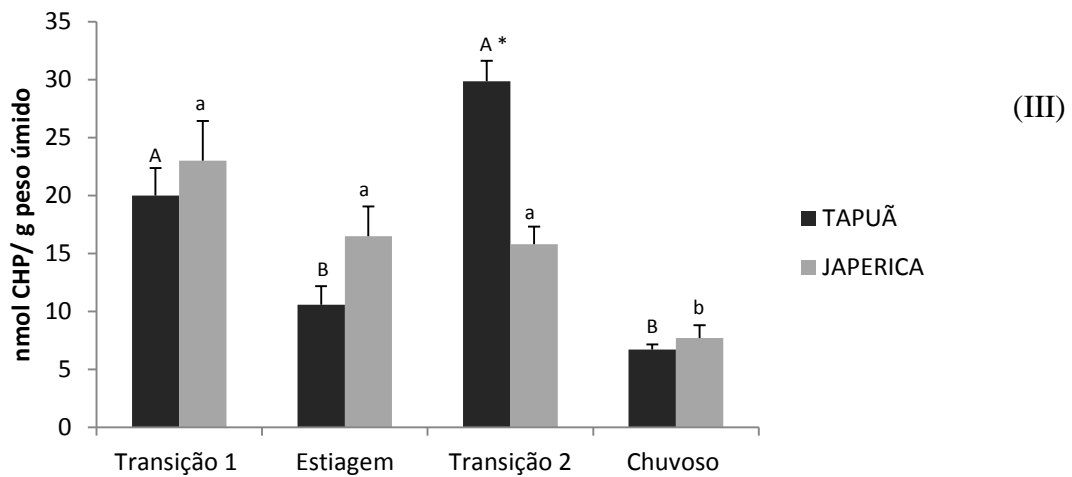
Os lipídeos peroxidados (figura 4-III) nos organismos de Tapuã apresentaram-se em maior concentração nos períodos de transição 1 e 2 em relação aos períodos de estiagem e chuvoso. Já nos organismos de Japerica há uma tendência a diminuição deste dano oxidativo em direção ao período chuvoso, sendo os animais deste período os que apresentaram menores teores de lipídeos peroxidados em relação aos demais deste mesmo local. Quando comparados os organismos dos dois ambientes, apenas no período de transição 2 (da estiagem para o

chuvoso) se observa diferença significativa, havendo maior conteúdo de LPO nos organismos coletados em Tapuã.

Em geral os resultados nas brânquias foram mais expressivos durante o período de transição 2 em Tapuã, onde não houve nem indução de defesas antioxidantes, tampouco aumento da atividade da GST, o que possivelmente favoreceu a ocorrência e acúmulo de lipídeos peroxidados.

Figura 4 - Biomarcadores analisados em brânquias de *Ucides cordatus*. (I) capacidade antioxidante total; (II) atividade da glutathione S-transferase; (III) conteúdo de lipídeos peroxidados. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas realizadas em Tapuã; letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas realizadas em Japerica; o asterisco representa diferenças entre locais para uma mesma coleta.





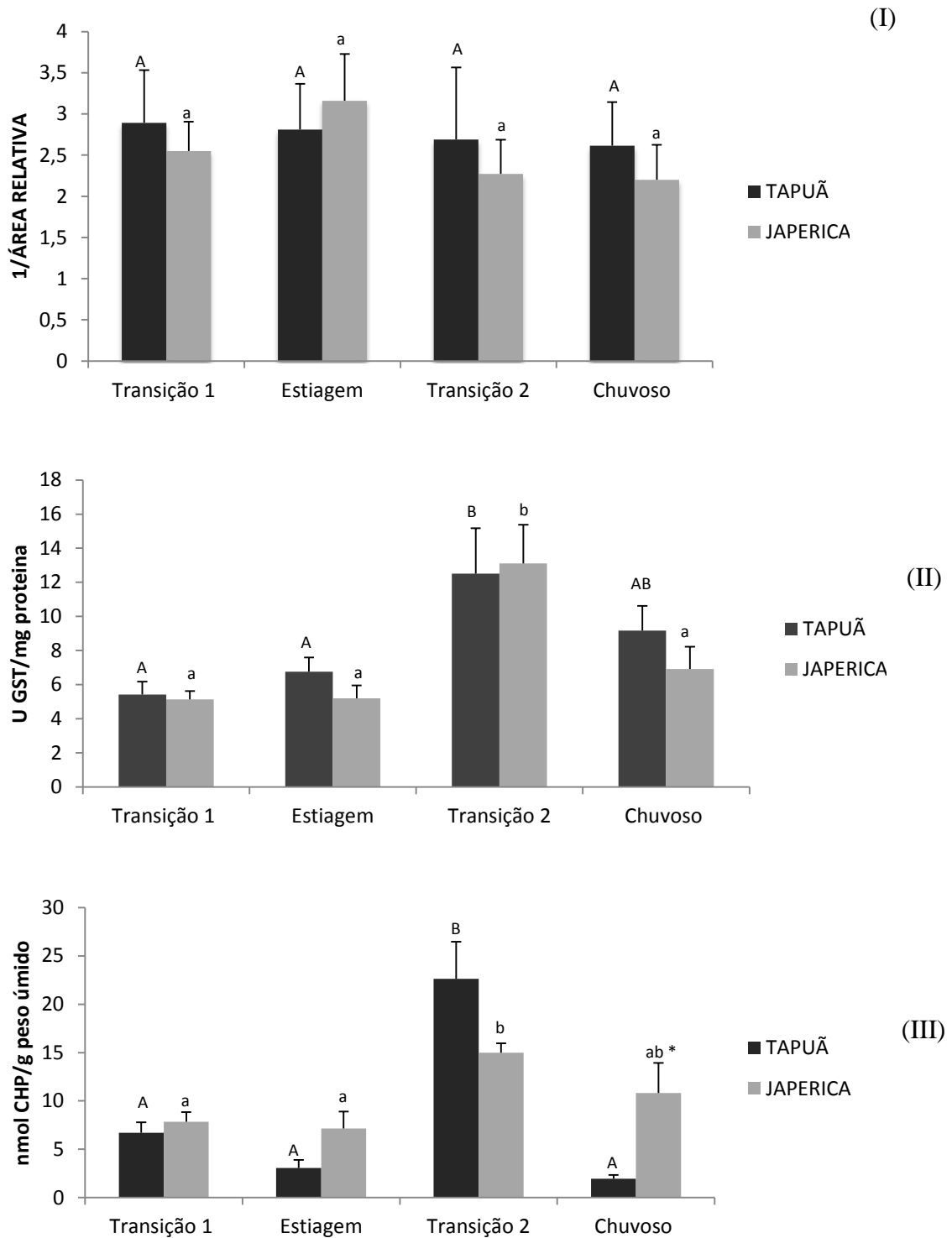
4.4 Biomarcadores avaliados em músculo

A capacidade antioxidante em músculo não mostrou diferença estatística ($p > 0,05$) entre os locais e entre os períodos. Tanto os animais de Japerica quanto os de Tapuã expressaram alta capacidade antioxidante nos períodos da coleta.

A atividade da GST (figura 5-II) foi semelhante entre locais e períodos, exceto no período de transição 2, quando animais foram expostos à máxima salinidade (33) registrada durante o estudo. Nesse mesmo período, Tapuã mostrou diferença em relação aos períodos de transição 1 e estiagem, e semelhança com o período chuvoso.

Este mesmo órgão demonstrou um alto conteúdo de lipídeos peroxidados (figura 5-III) nos caranguejos coletados no período de transição 2, corroborando o fato de a capacidade antioxidante não ser suficiente para evitar o dano oxidativo nos organismos de Tapuã. Nos animais coletados no período chuvoso em Tapuã o aumento da atividade da GST, somado aos baixos valores de salinidade, foram suficientes para minimizar a lipoperoxidação.

Figura 5 - Biomarcadores analisados em músculo de *Ucides cordatus*. (I) capacidade antioxidante total; (II) atividade da glutathiona S-transferase; (III) conteúdo de lipídeos peroxidados. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas realizadas em Tapuã; letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas realizadas em Japerica; o asterisco representa diferenças entre locais para uma mesma coleta.



5 DISCUSSÃO

Os resultados de temperatura e pluviosidade encontrados corroboram a literatura. Quanto ao regime de chuvas, regiões tropicais, apresentam sazonalidade marcante com estação seca e chuvosa em diferentes épocas do ano de acordo com a localização geográfica (FIGUEROA; NOBRE, 1989). A região possui uma homogeneidade espacial e sazonal da temperatura, o que não acontece em relação à pluviosidade. Foram verificadas duas estações quanto ao regime pluviométrico, caracterizando uma estação menos chuvosa, mesmo apresentando uma média pluviométrica mensal fora da média (329 mm) e uma segunda estação com média de 5,4 mm, ambas estações com períodos de transição, mostrando uma heterogeneidade da pluviosidade. Com relação às temperaturas, observa-se temperaturas elevadas, com pouca variabilidade durante o ano, caracterizando o clima quente (CPTEC/INPE, 2014).

Flutuações significativas em parâmetros abióticos como temperatura, pH, salinidade e O₂ dissolvido da água são responsáveis pela modulação da produção de EROs que afetam respostas antioxidantes em organismos estuarinos (CAILLEUAD et al., 2007; AN, CHOI, 2010; ROSS et al., 2001). Em determinadas condições esses parâmetros podem contribuir para a precipitação de elementos químicos tóxicos, como metais pesados (POLEO et al., 1997) e para a ativação de diferentes mecanismos responsáveis pela indução de estresse oxidativo (LUSHCHAK, 2010).

Os resultados indicaram uma diminuição valores de pH da estiagem para o chuvoso. O valor mais baixo de pH no período chuvoso pode estar associado ao aumento no teor de matéria orgânica que é lixiviada para os rios durante os meses chuvosos (MAIER, 1987). O processo de decomposição da matéria orgânica reduz o pH pelo aumento da concentração de gás carbônico que, ao dissolver-se na água, forma o ácido carbônico, diminuindo a quantidade de oxigênio dissolvido disponível na água. Já a elevação nos valores de pH durante o período de estiagem pode estar associada a penetração de águas oceânicas, que possuem pH geralmente alcalino em torno de 8,1 (LIBES, 2009). Assim, os valores de pH do estuário da Baía de Japerica apresentaram uma faixa de pH alcalina em decorrência da contribuição marinha.

De acordo com Esteves (1998) a relação inversa entre o oxigênio dissolvido (OD), salinidade e a temperatura deve-se ao fato de que da solubilidade do oxigênio na água, o aumento da temperatura e da salinidade diminuem a solubilidade do oxigênio. Tal situação foi

possível verificar no estudo. A quantidade de minerais ou a presença de elevadas concentrações de sais dissolvidos na água em decorrência de atividades potencialmente poluidoras podem influenciar o teor de OD na água (FIORUCCI; BENEDITTI FILHO, 2005). Desta forma, a implantação e o funcionamento da fábrica na região de estudo pode ter o potencial de alterar de forma significativa a salinidade do ambiente e, conseqüentemente, ocasionar na diminuição de OD, o que poderá trazer efeitos que interferem na homeostase dos organismos residentes.

O aumento da matéria orgânica, oriunda de lançamento de esgotos domésticos e de efluentes industriais, resulta na maior taxa de respiração de organismos, dando origem ao aumento das quantidades de CO₂ e metano, produzido por degradação anaeróbica (ZUIN et al., 2009) e elevação da demanda de oxigênio e das atividades metabólicas. A variação dos parâmetros abióticos junto a essa atividade metabólica é acompanhada do aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), dada a maior demanda de ATP e conseqüentemente maior atividade da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Assim, reduções nas defesas antioxidantes, e em processos de detoxificação pode levar ao aumento de danos oxidativos aos lipídeos nos organismos residentes no ambiente sazonalmente mais variável, que é o local o local mais próximo do ponto de implantação da fábrica de cimento.

A não variação da capacidade antioxidante tanto em brânquias quanto em músculo dos animais sujeitos às variações sazonais e mudanças de salinidade supõe que este biomarcador (ACAP) será um potencial indicador de respostas biológicas quando utilizado no monitoramento dos organismos expostos à contaminantes da fábrica, já que sua resposta não é alterada por variáveis naturais. Entende-se então que este marcador biológico pode responder aos efeitos de poluentes industriais sem ser afetado por variáveis abióticas naturais.

A atividade da GST nos dois tecidos foi significativa em Tapuã no período de transição 2 e no período chuvoso. Nos períodos anteriores (transição 1 e estiagem) esta enzima manteve sua atividade baixa. A partir daí pode-se inferir que a GST sofre influência da sazonalidade, pois nesses períodos há um aumento da pluviosidade e da salinidade (27,5 na transição 2 e voltando a diminuir no chuvoso). Nos animais de Japerica a atividade desta enzima aumentou no período chuvoso quando comparado ao período de estiagem. Esse resultado mais expressivo nos dois locais no período chuvoso pode ainda ser um efeito do aumento da descarga fluvial nesse período. É possível observar a relação entre essa resposta

enzimática e o peso total dos animais, os animais de Tapuã tiveram os maiores pesos nos últimos períodos de coleta, o peso dos animais aumenta em direção ao período chuvoso. O alto índice pluviométrico nesse período não somente torna as águas superficiais menos salinas, como também as tornam mais ricas em nutrientes, carregados pelas chuvas. Nesse período há maior disponibilidade de alimentos para os organismos pelo aporte desses nutrientes pelas reações de decomposição da matéria orgânica (LOWE-McCONNELL, 1987), isso implica em aumento do metabolismo acompanhando de gasto energético e conseqüentemente geração de espécies reativas de oxigênio que resultam na ativação das enzimas antioxidantes e de detoxificação como a GST. Essa influência da variação sazonal da salinidade foi observada por Ding et. al (2009) que verificou que a variação sazonal interfere no metabolismo do camarão *Fenneropenaeus chinensis*. No ambiente natural enzimas específicas reduzem o estresse osmótico da hemolinfa, com gasto de energia na forma de ATP, essa regulação pode provocar diminuição da quantidade de energia disponibilizada para o crescimento do animal, além da formação de EROs e conseqüente ativação do sistema antioxidante.

Nas brânquias e no músculo dos animais de Tapuã, foi quantificado um alto conteúdo de lipídeos peroxidados no período de transição 2. Tapuã é o local onde a salinidade possui maior variação ao longo do ano, e justamente nesse período o ambiente apresenta alta salinidade (a salinidade vai de 0 a 27,5). A indução da atividade da GST pelos motivos citados acima (salinidade, sazonalidade e alimentação) pode ter influenciado o aumento do conteúdo de LPO. Além disso, inúmeras espécies de crustáceos decápodos investem em maturação gonadal e reprodução, acarretando assim em uma maior demanda energética (DUTRA et al., 2008; LANE et al., 2010; ROSA; NUNES, 2003). De acordo com Dutra et al. (2008), ocorre um aumento da concentração de lipídios no hepatopâncreas. Todos os exemplares coletados para estudo eram machos maduros, porém a demanda metabólica se eleva em períodos de reprodução. Esse investimento em reprodução pode colocar em risco a sobrevivência das espécies quando aumenta a vulnerabilidade a poluentes e a fatores estressores. Altos níveis de conteúdo lipídico podem estar relacionados ainda ao fato de lipídios serem o principal substrato energético em crustáceos (ROSA; NUNES, 2003), assim pode existir a necessidade deste substrato estar disponível nos tecidos para sustentar as funções básicas além dos comportamentos reprodutivos (DUTRA et al., 2008; GUERRERO; SANDOVAL, 2012). O aumento desse conteúdo lipídico e manutenção metabólica expõe o tecido à formação de radicais livres, induzindo um possível dano oxidativo.

No período chuvoso um aumento da atividade da GST e uma diminuição salinidade foi associada a lipoperoxidação do tecido dos animais. Entretanto, nas brânquias dos caranguejos foi possível observar uma diminuição no dano oxidativo em direção ao período chuvoso. A quantidade de O₂ em Tapuã foi diminuída ao longo dos períodos de coleta, principalmente nos dois últimos períodos, transição 2 e chuvoso, justamente quando houve um aumento da atividade da GST e do conteúdo de LPO. Um aumento na atividade da GST durante períodos de anoxia ou quando a quantidade de OD é baixa, pode ser uma forma de preparação para o estresse oxidativo, com o objetivo de proteger os tecidos contra um possível dano (HERMES-LIMA; STOREY, 1996; HERMES-LIMA et al., 1998). A atividade desta enzima também responde às variações na concentração do oxigênio do ambiente. Uma diminuição da quantidade de oxigênio provoca minimização na produção do radical superóxido (O₂•-), que pode inibir a atividade de outras enzimas antioxidantes pela menor oferta de substrato e, ao mesmo tempo pode estimular a atividade da GST (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

É relevante atentar para o fato de que áreas inundáveis como manguezais, podem remover e converter poluentes como material orgânico, sólidos suspensos, metais e nutrientes que podem estar em excesso, e ainda podem impedir a mobilização desses poluentes por processos físicos ou químicos (HAMMER, 1992). Entre os principais contaminantes desse ambiente destacam-se metais pesados oriundos de efluentes de mineração, águas de resíduos industriais, escoamento superficial de águas pluviais, resíduos sólidos, efluentes de áreas urbanas, resíduos agrícolas, fertilizantes e combustíveis fósseis (DOMENICO; SCHWARTZ, 1997). De acordo com dados obtidos e em análise pelo grupo de pesquisa Biopaq da UFPa (Biomarcadores de Poluição Aquática na Amazônia) os dois locais do estudo, Tapuã e Japerica, já demonstram teores de metais no sedimento. Tapuã é o local mais próximo da área onde funcionará a fábrica e, atualmente, possui menores níveis de metais tóxicos como As (arsênio) e Cr (cromo) em relação à Japerica. Assim, os organismos de Tapuã estariam menos adaptados à potenciais impactos ambientais. Dessa forma, é importante considerar que os organismos que vivem em contato direto com os sedimentos¹ estão vulneráveis à presença e efeito de contaminantes.

¹Sedimentos de manguezais possuem características anaeróbias e redutoras, além de serem ricos em sulfetos e matéria orgânica, favorecendo a retenção de metais pesados trazidos carreados pela água, e a subsequente oxidação dos sulfetos entre as marés, permitindo a sua mobilização e biodisponibilidade (BORGES et. al., 2007).

Processos industriais de mineração influenciam na disponibilidade de contaminantes no meio ambiente (EBRAHIMPOUR; MUSHRIFAH, 2008) a partir da liberação de poluentes atmosféricos no processo de produção e durante a extração calcária. Em pH menor que 5, contaminantes metálicos são mais facilmente solubilizados e tornam as águas mais tóxicas, em situação oposta, em valores elevados tendem a precipitar (MESTRINHO, 2006). Poluentes metálicos lançados no estuário precipitam e geralmente são encontrados no sedimento ao fundo dos rios. Alguns desses poluentes como o cádmio (Cd), apresentam grande mobilidade, e migram para profundidades maiores em solo, ou para a coluna d'água, e podem ocorrer na forma mais tóxica em ambientes aquáticos que apresentem baixa salinidade (SPRAGUE, 1986). Segundo Callahan et al. (1979) a concentração desse poluente em animais marinhos pode ser centenas de vezes maior que na água. Sprague (1986) analisou a concentração de Cd em moluscos e crustáceos, encontrando teores relativamente baixos, entre 0,5 e 1,0 µg Cd/g. Em águas poluídas, a média em ostra foi de 18 µg Cd/g e em crustáceos foi de 2,7 µg Cd/g.

Águas oceânicas, com alta salinidade, entram no rio pela parte inferior, próximo ao sedimento devido sua densidade e peso, facilitando assim a troca iônica entre compostos no sedimento e a água devido ao contato entre esses compostos precipitados no sedimento lamoso e a cunha salina presente no fundo das águas (MARTINS, 2003; LIRA 2008). A toxicidade e biodisponibilidade dos contaminantes presentes nesse meio são dependentes da solubilidade, que aumenta com a diminuição do pH ou com o aumento da temperatura (YILMAZ et al., 2010). Mudanças na salinidade ao longo do ano dependendo da chuva ou do aporte de água doce de rios contribuem também para a variação na concentração desses compostos. Baixas salinidades aumentam a biodisponibilidade de alguns metais (NUGEGODA; RAINBOW, 1995), da mesma forma que águas salinas diminuem essa biodisponibilidade pela presença de íons que complexam esses íons metálicos. No período chuvoso, há uma diminuição da salinidade e portanto maior biodisponibilidade de metais.

A disponibilidade de um contaminante, o aumento do metabolismo por um maior aporte de alimentos acompanhado do gasto energético e da geração de EROs podem resultar na ativação do sistema de defesa antioxidante, ou ainda, como verificado no estudo, em tecidos específicos como o músculo, uma baixa atividade dos biomarcadores indica uma baixa proteção do sistema de defesa dos animais quando os animais estiverem sob efeito de potenciais impactos ambientais, resultando em dano ecológico.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados pode-se concluir que:

- O aumento nos valores de parâmetros abióticos, como pH, no período chuvoso, valores elevados de salinidade em decorrência de atividades potencialmente poluidoras podem influenciar o teor de OD gerando efeitos que interferem na homeostase dos caranguejos estuarinos.
- A capacidade antioxidante total (ACAP) nos dois tecidos é um biomarcador estável em relação à variáveis abióticas naturais e pode responder aos efeitos de poluentes industriais sem a influência de variáveis naturais.
- A atividade da GST e o conteúdo de LPO são influenciados pela sazonalidade independente do local amostrado.
- O aumento pluviosidade e diminuição da salinidade induziram a atividade da GST.
- É possível observar a relação entre a resposta enzimática e o peso total dos animais, em um dos locais de coleta (Tapuã) o peso dos animais aumenta em direção ao período chuvoso.
- A partir do funcionamento da fábrica haverá potencial aumento da presença de contaminantes de origem cimenteira no ambiente. A presença desses resíduos, somados às variações de salinidade representa condição estressante para o meio ambiente e organismos residentes.
- Uma baixa da salinidade, aliada a maior disponibilidade de contaminantes e a diminuição da atividade dos biomarcadores expõem os animais ao efeito desses xenobióticos e consequentes de danos ecológicos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; PACHECO, M.; SANTOS, M. A. *Anguilla anguilla* L. oxidative stress biomarkers: An in situ study of fresh water wetland ecosystem (Pateira de Fermentelos, Portugal). **Chemosphere**, v.65, n.6, p.952-962, Nov. 2006.
- ALVES, R. R. A.; NISHIDA, A. K.; HERNÁNDEZ, M. I. M. Environmental perception of gatherers of the crab “caranguejo-uçá” (*Ucides cordatus*, Decapoda, Brachyura) affecting their collection attitudes. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.1, n. 10, p. 1-8, 2005.
- AMADO, L.L.; GARCIA, M.L.; RAMOS, P.B.; FREITAS, R.F.; ZAFALON, B.; FERREIRA, J.L.R.; YUNES, J.S.; MONSSERAT, J.M. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. **Sci. Of the Total Envir.**, v.407, n.6, p. 2115-2123, 2009.
- AMORIM, L. E. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, p. 158-170, 2003.
- AMOUREUX, J. M.; TAVARES, M. Natural recovery of Amazonian mangrove forest as revealed by brachyuran crab fauna: preliminary description. **Vie Milieu**, v. 55, n. 2, p. 71-79, 2005.
- AN, M. I., CHOI, C.Y. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: effects on hemolymph and biochemical parameters. **Comp. Biochem. Physiol. B**, v. 155, n.1, p. 34–42, 2010.
- ANGER, K.; HARMS, J.; MONTÚ, M.; BAKKER, C.D. Effects of salinity on the larval development of a semi terrestrial tropical crab, *Sesarma angustipes* (Decapoda: Grapsidae). **Marine Ecology Progress Series**, v. 62, p. 89-94, 1990.
- ANGER, K.; SPIVAK, E.; BAS, C.; ISMAEL, D.; LUPPI, T. Hatching rhythms and dispersion of decapod crustacean larvae in a brackish coastal lagoon in Argentina. **Helgoländer Meeresuntersuchungen**, v. 48, n.4, p. 445-466, 1994.
- ANGER, K. Salinity tolerance of the larvae and first juveniles of a semiterrestrial grapsid crab, *Armasesmiersii* (Rathbun). **Journal Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 202, p. 205-223, 1996.
- ANGER, K.; SPIVAK, E.; LUPPI, T. Effects of reduced salinities on development and bioenergetics of early larval shore crab, *Carcinus maenas*. **Journal Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 220, p. 287-304, 1998.
- ANGER, K.; RIESEBECK, K.; PÜSCHEL, C. Effects of salinity on larval and early juvenile growth of an extremely euryhaline crab species, *Armasesmiersii* (Decapoda: Grapsidae). **Hydrobiologia**, v. 426, n.1, p. 159-166, 2000.
- ANGER, K. **The biology of decapod crustacean larvae**. Crustacean Issues. Lisse, The Netherlands: A.A. Balkema, v. 14. 419p, 2001.
- ANGER, K. Salinity as a key parameter in the larval biology of decapod crustaceans. **Invertebrate Reproduction e Development**, v. 43, n. 1, p. 29-45, 2003.

BAINY, A. C. D.; SAITO, E.; CARVALHO, P. S. M.; JUNQUEIRA, V. B. C. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of *Nile* tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. **Aquat. Toxicol.** v. 34, p. 151–162, 1996.

BENZIE, I. F. F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **Int. J. FoodSci. Nut.** v.47, p.233-261, 1996.

BIANCHI, M. L. P; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BLUMENSCHNEIN, R. **A sustentabilidade na cadeia produtiva da indústria da construção**. Tese de doutorado. Centro de Desenvolvimento Sustentável. UnB, 2004.

BOESCH, D. F. Application of numerical classification in ecological investigations of water pollution. **Corvallis, U.S. Environmental Protection Agency**, 144p., 1977.

BOTTÉ, S.E.; HUGO FREIJE, R.; MARCOVECCHIO, J.E. Dissolved heavy metal (Cd, Pb, Cr, Ni) concentrations in surface water and porewater from Bahia Blanca estuary tidal flats. **Bull Environ Contam Toxicol.** v.79, p.415–421, 2007.

CAILLEAUD, K.; MAILLET, G.; BUDZINSKI, H.; SOUSSI, S.; FORGET-LERAY, L. Effects of salinity and temperature on the expression of enzymatic biomarkers in *Eurytemora affinis* (Calanoida, Copepoda). **Comp. Biochem. Physiol.** v 147, pp. 841–849, 2007.

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. **The Science of the Total Environment**, v. 247, n. 2-3, p. 295-311, 2000.

CALLAHAN, M.A.; SLIMAK, M.W.; GABLE, N.W. **Water-related fate of 129 priority pollutants**. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Planning and Standards, 1979. EPA-440/4-79-029a,

CASTRO, P.; HUBER, M. E. **Marine biology**. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill, 2000.

CHRISTY, J. H. Adaptive significance of semi lunar cycles of larval release in fiddler crabs (genus *Uca*): test of a hypothesis. **Biological Bulletin**, v. 163, n. 2, p. 251-263, Oct. 1982.

CLARK, J. **Coastal ecosystems** - Ecological considerations for management of the coastal zone. Washington: The Conservation Foundation, 1974. 178p.

COSTA, R. S. **Fisioecologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) - Crustáceo, Decápode - do Nordeste brasileiro**. 1972. 121 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 1972.

COSTLOW, J.D.; BOOKHOUT, C.G.; MONROE, R. The effect of salinity and temperature on larval development of *Sesarma cinereum* (Bosc) reared in the laboratory. **Biological Bulletin**, v. 118, n. 2, p. 183-202, 1960.

CENTRO DE PREVISÃO DE TEMPO E ESTUDOS CLIMÁTICOS - CPTEC/INPE **Climanálise. Boletim de monitoramento e análise climática**. v. 29. Nº02. Fevereiro/2014. Disponível em: <<http://climanalise.cptec.inpe.br/>>. Acesso em: Jun 2015.

CRONIN, T. W.; FORWARD, R. B. Vertical migration cycles of crabs larvae and their role in larval dispersal. **Bulletin of Marine Science**, v. 39, n. 1, p. 192-201, 1986.

DANKERS, N.; KÜHL, H.; WOLFF, W. J. **Invertebrates of the wadden sea**. Rotterdam: A. A. Balkema, 1981.

DAY, J. W. JR; HALL, C. A. S.; KEMP, W. M.; YÁÑEZ-ARANCIBIA, A. **Estuarine ecology**. New York: John Wiley e Sons. 558p, 1989.

DING, S.; WANG, F.; SUN, H.; GUO, B.; DONG, S. Effects of Salinity Fluctuation Frequency on the Osmolarity, Na⁺-K⁺-ATPase Activity and HSP70 Expression in Juvenile Chinese Shrimp, *Fennero penaeuschinensis*. **Journal of Ocean University of China**, v. 8, p. 71-76, March 2009.

DOMENICO, P.A.; SCHWARTZ, F.W. **Physical and chemical hydrogeology**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1997.

EBRAHIMPOUR, M; MUSHRIFAH, I. Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in Tasik Chini, Malaysia. **Environ Geol**. v. 54, p. 689–698, 2008.

ELLIOTT, M; MCLUSKY, D. S. The need for definitions in understanding estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, London, v. 55, p. 815-827, 2002.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FAUSTO-FILHO, J. Terceira contribuição ao inventário dos crustáceos decápodos marinhos do Nordeste brasileiro. **Arquivos da Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza**, v. 8, p. 43-45, 1968.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. **Toxicology**, v.205, n.3, p.223-240, 2004.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**,v. 43, p. 61-68, 1997.

FERNANDES, A. M. et al. Precipitação nas mesorregiões do estado do Pará: climatologia, variabilidade e tendências nas últimas décadas (1978-2008). **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 6, p. 2237-8642, jan. 2012. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/revistaabclima/article/view/25606/17162>>. Acesso em: 25 Jun. 2015.

FIGUEROA, S.N.; NOBRE, C.A. Precipitation distribution over Central and Western tropical South America. **Climanalise**, v. 5, p. 36-45, 1989.

FORWARD, R. B.; LOHMANN, K.; CRONIN, T. W. Rhythms in larval release by an estuarine crab (*Rhithropanopeus harrisi*). **Biological Bulletin**, v. 163, n. 2, p. 287-300, Oct., 1982.

FORWARD, R.B. Behavioral responses of crustacean larvae to rates of salinity change. **Biological Bulletin**, v. 176, n. 3, p. 229-238, Jun. 1989.

FREIRE, C. A.; CAVASSIN, F.; RODRIGUES, E.; TORRE, S A. H.; MCNAMARA, J. C. Adaptive patterns of osmotic and ionic regulation, and the invasion of fresh water by the palaemonid shrimps. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.** v. 136, p. 771-778, 2003.

FREIRE, C. A.; ONKEN, H.; MCANAMARA, J. C. A structure function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. Review. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.**, v. 151, n. 3, p. 272-304, 2008.

FUENTES-RIOS, D.; ORREGO, R.; RUDOLPH, A.; MENDOZA, G.; GAVILÁN, J.F.; e BARRA, R. EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthy schilensis* (Guichenot 1848): biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South Pacific Ocean. **Chemosphere**, v. 61, n. 2, p. 192-199, 2005.

FUJII, T. Spatial patterns of benthic macrofauna in relation to environmental variables in an intertidal habitat in the Humber estuary, UK: developing a tool for estuarine shoreline management. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 75, p. 101-119, 2007.

FUNES, V.; ALHAMA, J.; NAVAS, J. I.; LOPEZ-BAREA, J.; PEINADO, J. Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. **Environ. Poll.** v.139, n.2, p.214-223, 2006.

GAY, C., GEBICKI, J. M. Perchloric acid enhances sensitivity and reproducibility of the ferric-laranja de xilenol peroxide assay. **Anal Biochem**, v. 304, p. 42-46, 2002.

GERACITANO, L. A.; BOCCHETTI, R.; MONSERRAT, J. M.; REGOLI, F.; BIANCHINI, A. Oxidative stress responses in two populations of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) after acute and chronic exposure to copper. **Mar. Environ**, v. 58, p. 1-17, 2004.

GILLES, R.; PÉQUEUX, A. Physiological and ultrastructural studies of NaCl transport in crustacean gills. **Boll. Zool.** v. 53, p. 173-182, 1986.

GILLES, R.; DELPIRE, E. Variations in salinity, osmolarity and water availability: Vertebrates and invertebrates. In: Dantzeler, W.H. (ed.). **Handbook of Comparative Physiology.** Oxford University Press, New York, p. 1523-1586, 1997.

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. **Ecol. Econ.**, v. 49, p. 361-373, 2004.

GOLLEY, F.; ODUM, H.T.; WILSON, R.F. **The structure and metabolism of a Puerto Rican Red Mangrove Forest in May.** Ecology, v. 43, n. 1, p. 9-19, 1962.

GORE, R. H. **Molting and growth in decapod larvae.** p.1-65 In: Wenner A. M. (Ed.). Larval Growth. A.A. Balkema/Boston, 1985.

GREENAWAY, P. Calcium Balance at the Postmoult Stage of the Freshwater Crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet). **Journal of Experimental Biology** v.61, p.35-45, 1974.

GUEST, G.; BUNCE, ARWEN E JOHNSON, L. "How many interviews are enough? An experiment with data saturation and variability". **Field Methods**, v. 18(1), p. 59-82, 2006.

- HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases (rat and human). **Methods Enzymol**, v.77, p.218-31. 1981.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3th. edition, Oxford University Press, 704p. 1999.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Nova York: Oxford University Press, v.1, 851p, 2007.
- HAMMER, D.A. **Creating freshwater wetlands**. Florida: Lewis, 448p. 1992.
- HEIP, C. H. R.; GOOSEN, N. K.; HERMAN, P. M. J.; KROMKAMP, J.; MIDDELBURG, J. J.; SOETAERT, K. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. **Oceanography and Marine Biology: an Annual Review**, v. 33, p.1-149, 1995.
- HERMES-LIMA, M.; CASTILHO, R. F.; MEINICKE, A. R.; VERCESI, A. E. Characteristics of Fe(II)-ATP complex-induced damage to the rat liver mitochondria. **Mol Cell Biochem** v. 145, p. 53–60, 1995.
- HERMES-LIMA, M.; STOREY, K. B. Relationship between anoxia exposure and antioxidant status in the frog *Rana pipiens*. **Am. J. Physiol.** v. 271(4 Pt 2):R918-25.
- HERMES-LIMA, M., STOREY, J. M.; STOREY, K. B. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. **Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol**. v. 120, p. 437-448, 1998.
- HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin. Hematol.**, v.26, p.277-285, 1989.
- IBAMA. Lagosta, caranguejo-uçá e camarão do Nordeste. Brasília, DF: IBAMA. p. 107-140. **Coleção Meio Ambiente, Série Estudos-Pesca**. 1994.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; **Primavera: dados gerais do município**. Acesso em: nov/2014.
- IPCS - INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. **Environmental Health Criteria**, 155. Organização Mundial de Saúde, pp. 52, 1993.
- JANKOWSKY, M.; PIRES, J. S. R. ; NORDI, N. Contribuição ao manejo participativo do Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L., 1763), em Cananéia, SP. **Boletim do Instituto de Pesca** v. 32(2), p. 221-228, 2006.
- JONES, N. V. Life in the Humber, invertebrate animals. In: Jones NV (ed) **A dynamic estuary: man, nature and the Humber**. Hull University Press, p 58–70, 1988.
- KENNISH, M. J. Environmental threats and environmental future of estuaries. **Environmental Conservation**. v. 29, p. 78-107, 2002.
- KHAN, R.; ISRAILI, S.H.; AHMAD, H. ; MOHAN, A. Heavy Metal Pollution Assessment in Surface Water Bodies and its Suitability for Irrigation around the Neyevli Lignite Mines

and Associated Industrial Complex, Tamil Nadu, India. **Mine Water and the Environment** v. 24, p.155–161, 2005.

KLAASSEN, C.D. **Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 6th. [S.l.]: McGraw-Hill Professional, 2001.

KOCH, V. Epibenthic production and energy flow in the Caeté mangrove estuary, North Brazil. **Center for Tropical Marine Ecology**, University Bremen. 1999. 97 f.,

LAM, P. K. S.; GRAY, J. S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 2, p. 182-186, 2003.

LÁREZ, M. B.; PALAZÓN-FERNÁNDEZ, J. L.; BOLAÑOS, C. J. The effect of salinity and temperature on the larval development of *Mithrax caribbaeus* (Rathbun, 1920) (Brachyura, Majidae) reared in the laboratory. **Journal of Plankton Research**, v. 22, n. 10, p. 1855-1869, 2000.

LIBES, S. M. **Introduction to marine biogeochemistry**. 2ed. [S.l.]: Elsevier Inc. 2009. 124 p.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Rev. Bras. Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p.00-00, set./dez, 2001.

LIMA, M. N.; MOCHEL, F. R.; CASTRO, A. C. Bioecologia do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Brachyura) na área de proteção ambiental das Reentrâncias Maranhenses, Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 23, p. 01-10, 2010.

LIRA, J.B. **Avaliação preliminar das concentrações de metais pesados nos sedimentos da Lagoa do Araçá, Recife -Pernambuco, Brasil**. 2008. 00f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco, 2008.

LUCU, C. Ion transport in the gill epithelium of aquatic Crustacea. **Journal of Experimental Zoology**. v. 265, p. 378–386, 1993.

LUPPI, T. A.; SPIVAK, E. D.; BAS, C. C. The effects of temperature and salinity on larval development of *Armases rubripes* (Rathbun, 1897) (Brachyura, Grapsoidea, Sesarmidae), and the southern limit of its geographical distribution. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 58, n. 3, p. 575-585, 2003.

LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**. v.101, p. 13-30, 2010.

MACFARLANE, G. R.; BOOTH, D. J.; BROWN, K. R. The semaphore crab, *Heloecius cordiformis*: bio-indication potential for heavy metals in estuarine systems. **Aquatic Toxicology**. Amsterdam, v. 50, p. 153-166, 2000.

MACIEL, J.E.S.; SOUZA, F.; VALLE, S.; KUCHARSKI, L.C.; SILVA, R.S.M. Lactate metabolism in the muscle of crab *Chasmagnathus granulatus* during hypoxia and post-hypoxia recovery. **Comp. Biochem. Physiol. Part A: Molecular & Integrative Physiology**. v. 151, p. 61-65, 2008.

MALLASEN, M; VALENTI, W.C. Efeito da composição iônica da água no desenvolvimento de larvas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Acta Scientiarum**. v.20, n.2, p.195-200, 1997.

MANN, K.H., LAZIER, J.R.N. Dynamics of marine ecosystems: **Biological-physical interactions in the oceans**. 2nd edition, xii, 394p. Oxford: Blackwell Science. 1991.

MARTINEZ, C. B.; ALVARES, E. P.; HARRIS, R. R.; SANTOS, M. C. A morphological study on posterior gills of the mangrove crab *Ucides cordatus*. **Tissue and Cell**. v.31, n.3, p. 380–9, 1999.

MARTINS, I. Manganês. In: AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 67-97.

MAURY, M. B. **Impactos e conflitos da produção de cimento no Distrito Federal**. 2008. 00f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Centro de Desenvolvimento Sustentável, Brasília,DF, 2008.

MAURY, M. B.; BLUMENSCHNEIN, R., N. Produção de cimento: impactos à saúde e ao meio ambiente. **Sustentabilidade em Debate** - Brasília, DF, v. 3, n. 1, p. 75-96, 2012.

MCARDLE, W. D.; KATCH, V. L. **Essentials of exercise physiology**. Lippincott Williams & Wilkins, 1994.

MCLUSKY, D.S.; ELLIOTT, M. **The estuarine ecosystem: ecology, threats and management**. 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press, 2004.

MEISTER, A. Transport and direct utilization of gamma-glutamylcyst(e)ine for glutathione synthesis. **Proc Natl Acad Sci**. v. 80, p.707-11, 1983.

MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro**. São Paulo, Ed. Plêiade/FAPESP, 604p, 1996.

MEES, J.; FOCKEDEY, N.; HAMERLYNCK, O. Comparative study of the hyperbenthos of three European estuaries. **Hydrobiologia**, v. 311, p. 153–174, 1995.

MONSERRAT, J.M.; GERACITANO, L.A.; BIANCHINI, A. Current and future perspectives using biomarkers to assess pollution in aquatic ecosystems. **Comments on Toxicology**, v. 9, p. 255-269, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Oil in the sea III: inputs, fates, and effects**. 1. ed., EUA, p. 265, 2003.

NIMER, E. Climatologia do Brasil. **SUPREN/IBGE**, v. 4, p.00-00, 1979.

NOGUEIRA, L.; SANCHES, A.L.M.; SILVA, D.G.H.; FERRIZI, V.C.; MOREIRA, A.B.; ALMEIDA, E.A. Biochemical biomarkers in *Nile* tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends. **Chemosphere**, v.85, p. 97-105, 2011.

- NUDI, A.H.; HADDAD, A.; WAGENER, A.L.R.; FRANCONI, E.; SCOFIELD, A.L.; SETTE, C. B.; VEIGA, A. Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. **Environment International**. v. 33, p. 315–327, 2007.
- NUGEGODA, D.; RAINBOW, P. S. The uptake of dissolved zinc and cadmium by the decapod crustacean *Palaemon elegans*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, p. 460-463, 1995.
- NYBAKKEN, J. W. **Marine biology: an ecological approach**. 2. ed. [S.l.]: Harper Collins Publishers, 1988.
- O'CONNOR, N.J.; EPIFANIO, C.E. The effect of salinity on the dispersal and recruitment of fiddler crab larvae. **Journal of Crustacean Biology**, v. 5, p. 137-145, 1985.
- OUYANG, D.; WRIGHT, J. Calcium accumulation in eggs and manca of *Armadillidium vulgare* (Isopoda:Oniscidea). **Journal of Crustacean Biology** n.25, p. 420-426, 2005.
- PAITAL, B., CHAINY, G. B. N. Antioxidant defenses and oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity. **Comp. Biochem. Physiol. C** 151, p. 142-151, 2010.
- PAIVA, M. P. **Recursos pesqueiros estuarinos e marinhos do Brasil**. Fortaleza: EUFC. 1997. 278p.
- PANNUNZIO, T. M.; STOREY, K. B. Antioxidant defenses and lipid peroxidation during anoxia stress and aerobic recovery in the marine gastropod *Littorina littorea*. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v. 221, p. 277-292, 1998.
- PASSOS, C. A.; DI BENEDITTO, A.P. Aspectos da captura comercial do caranguejo-uça, *Ucides cordatus* (L., 1763), no manguezal de Gargaú, RJ. **Biotemas**, v. 18, n. 1, p. 223-231, 2005.
- PEQUEUX, A. Osmotic regulation in crustaceans. **J. Crust Biol** v. 15, p. 1-60, 1995.
- PEREIRA, M.O.; CALZA, C.; ANJOS, M.J.; LOPES, R.T.; ARAÚJO, F.G. Metal concentrations in surface sediments of Paraíba do Sul River (Brazil). **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.269, n.3, p. 707–709. 2006.
- POLEO, A. B.; OSTBYE, K.; OXNEVAD, S. A.; ANDERSEN, R. A.; HEIBO, E.; VOLLESTAD, L. A. Toxicity of acid aluminium-rich water to seven freshwater fish species: a comparative laboratory study. **Environmental Pollution**, v.96, p. 129-139, 1997.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 27, p. 1173-1181, nov/dez, 1999.
- PRITCHARD, D. W. Estuarines circulation patterns. **Proc. Am. Soc. Civ. Eng.**, v. 81, n. 717, p. 1-11, 1955.
- REGOLI, F.; WINSTON, G. W. Application of a new method for measuring the total oxyradical scavenging capacity in marine invertebrates. **Mar. Environ. Res.** v. 46, p. 439–442, 1998.

RELATÓRIO DE IMPACTO AMBIENTAL (RIMA). **Projeto Primavera/Pará**. Primavera-Pa: Votorantim, 2010.

RINDERHAGEN, M.; RITTERHOFF, J.; ZAUKE, G. P. Crustaceans as bioindicators. In: GERHARDT, A. (eds.). **Biomonitoring of polluted water** - reviews on actual topics. Uetikon Zuerich: Trans Tech Publications - Scitech Publications. Environmental Research Forum, v.9, p. 161-194, 2000.

ROMAO, C. Interpretation manual of European Union Habitats. Version EUR15. European Commission, DGXI. **Environment, Nuclear Security and Civil Protection**; Brussels, 106p., 1996.

ROSS, S.W.; DALTON, D.A.; KRAMER, S.; CHRISTENSEN, B.L. Physiological (antioxidant) responses of estuarine fishes to variability in dissolved oxygen. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 130, p. 289–303, 2001.

RYTER, S. W.; TYRREL, R. M. Singlete molecular oxygen ($^1\text{O}_2$): a possible effector of eukaryotic gene expression. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 24, n. 9, p. 1520-1534, June 1998.

SANTI, A. M. M.; SEVÁ FILHO, A. O. Combustíveis e riscos ambientais na fabricação de cimento: casos na região do Calcário ao Norte de Belo Horizonte e possíveis generalizações. In: ENCONTRO NACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA EM AMBIENTE E SOCIEDADE – ANPPAS, 2., 2004, Campinas,SP. **Anais...** Campinas,SP: ANPPAS, 2004. Disponível em: <http://www.anppas.org.br/encontro_anual/encontro2/GT/GT06/santi_seva.pdf>. Acesso em: ago/2015.

SANTOS, M.C.; SALOMÃO, L.C. Haemolymph osmotic and ionic compositions in the gecarcinid crab *Ucides cordatus*. **Comp Biochem Physiol Part A** v. 81, p. 581-583, 1985.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal**: adaptação e meio ambiente. 5 ed. São Paulo: Editora Santos, 1996.

SCHROEDER, W.W.; DINNEL, S.P.; WISEMAN JR., W.J. Salinity structure of a shallow, tributary estuary. **Coastal and estuarine studies**, vol.40, pp. 135-171, 1992.

SETIARTO, A.; STRUSSMANN, C.A.; TAKASHIMA, F.; WATANABE, S.; YOKOTA, D.M. Short-term responses of adult kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* (Bate) to environmental salinity: osmotic regulation, oxygen consumption and ammonia excretion. **Aquac. Res.** v. 35, p. 669-677, 2004.

SIDHU, S.; KASTI, N; EDWARDS, P.; DELLINGER, B. Hazardous air pollutants formation from reactions of raw meal organics in cement kilns. **Chemosphere**, v. 42, n. 5-7, p. 499-506, 2001.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angew. Chem. Int. Ed. Inlg.**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.

SHRIVASTAVA, P.; SAXENA, A.; SWARUP, A. Heavy metal pollution in a sewage-fed lake of Bhopal, (M. P.) India. **Lakes & Reservoirs: Research and Management** v. 8, p. 1–4, 2003.

SÖDERHÄLL, K.; CERENIUS, L. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. **Current Opinion Immunology**, v. 10, n. 1, p. 23-28, 1998.

SPRAGUE, J.B. **Toxicity and tissue concentrations of lead, zinc, and cadmium for marine molluscs and crustaceans**. Research Triangle Park, NC: International Lead Zinc Research Organization, Inc., 215 p., 1986.

SUGUIO, K. **Dicionário de geologia marinha**. São Paulo: T. A. Queiroz, 171p, 1992.

SULKIN, S.D.; VAN-HEUKELEM, W. Larval recruitment in the crab *Callinectes sapidus*: An amendment to the concept of larval retention in estuaries. In: KENNEDY, V.S. (ed.), **Estuarine comparisons**. New York: Academic press, p. 459 – 475, 1982.

SULKIN, S. D. Behavioral basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. **Marine Ecology Progress Series**, v. 15, p. 181-205, 1984.

SWEETMAN, A.; KEEN, C.; HEALY, J.; BALL, E.; DAVY, C. Occupational exposure to dioxins at UK worksites. **Ann Occup Hyg**; v. 48, n. 5, p. 425-437, 2004.

THAWLEY, S.; MORRIS, S.; VOSLOO, A. Zn and Cd accumulation in *Potamonautes warreni* from sites in the North-West Province of South Africa. **International Congress Series, Amsterdam**, v. 1275, p. 180-188, 2004.

TORRES, G.; GIMENEZ, L.; ANGER, K. Effects of reduced salinity on the biochemical composition (lipid, protein) of zoea 1 decapod crustacean larvae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 277, p. 43-60, 2002.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Report to congress on cement kiln dust, Volume II: methods and findings**. 1993. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/other/ckd/index.htm>>. Acesso em 15 nov 2014.

VALKO, M.; MORRIS, H.; MAZUR,.; RAPTA, P.; BILTON, R. F. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: Do the semiquinones of Vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer? **Biochim Biophys Acta**. v. 1527, p.161-166, 2001.

XUE, B.; YAO, S. ; XIA, W. Environmental changes in Lake Taihu during the past century as recorded in sediment cores. **Hydrobiologia**. n.581, p.117–123, 2007.

WHEATLY, M.G.; ZANOTTO, F.P.; HUBBARAD, M.G. Calcium homeostasis in crustaceans: subcellular Ca dynamics. **Components of Biochemichal Physiology**. n.132, p.163–178, 2002.

WINSTON, G. W.; DIGIULIO, R. T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic Organisms. **Aquat. Toxicol**, v.19, n.2, p.137-161. 1991.

WINSTON, G.W., REGOLI, F., DUGAS JR., A.J., FONG, J.H., BLANCHARD, K.A. A rapid gaschromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. **Free Rad. Biol. Med.** v.24, n. 3, p. 480–493, 1998.

YLMAZ, A. B.; SANGÜN, M. K.; YAGHOGLU, D.; TURAN, C. Metals (major, essential to non-essential) composition of the different tissues of three demersal fish species from Iskenderum Bay, Turkey. **Food Chemistry**, v.123, p. 410-415, 2010.

YSEBAERT T., HERMAN P.M J., MEIRE P., CRAEYMEERSCH J., VERBEEK H. E HEIP C.H.R. Large-scale spatial patterns in estuaries: estuarine macrobenthic communities in the Schelde estuary, NW Europe. **Estuar. Coast. Shelf S.**, v. 57, p. 335-355, 2003.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**, v. 74, n. 1, p. 139-162, 1994.